

Part Number:	0216446JAA	BALTSO0191 Version 13.0 Template 4 Inserts	
Category and Description:	Package Insert, BD Directigen™ Neisseria Meningitidis Test	Rev from: 03	Rev to: 04
		Job Number:	730-18

Catalog Number: 250160

Blank (Sheet) Size: Length: 8.5" Width: 11"

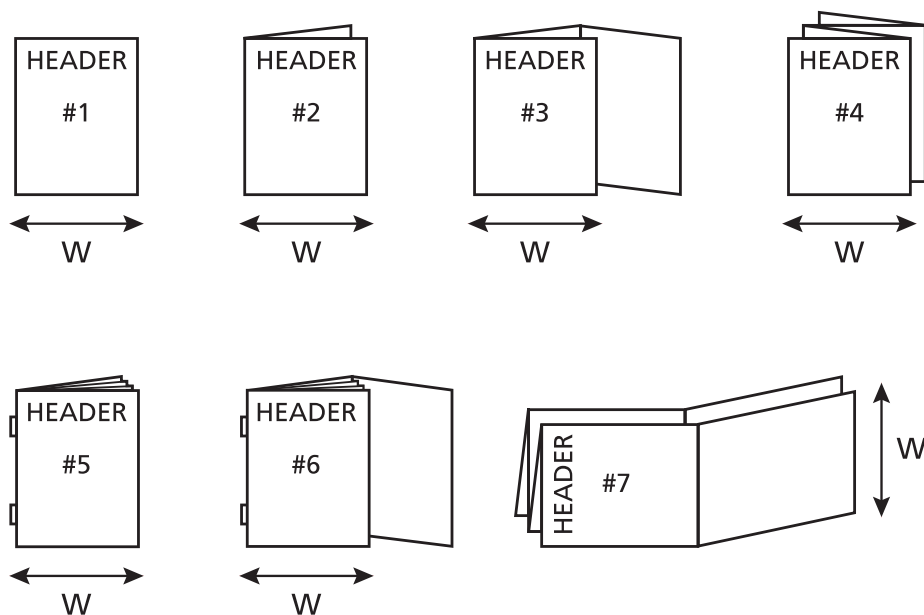
Number of Pages: 24 Number of Sheets: 6

Page Size: Length: 8.5" Width: 5.5" Final Folded Size: N/A

Ink Colors: Number of Colors: 3 PMS #: 2755 Blue; 032 Red; Standard Black

Printed Two Sides: Yes: ☒ No: ☐

Style (see illustrations below): # 5



Vendor Printed: ☒

Online / In House Printed: ☐

Web Printed: ☐

See Specification control no. BALT0216446 for material information.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA

Company confidential. This document is the property of Becton, Dickinson and Company and is not to be used outside the company without written permission. Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level.

Revised By: **REVISED BY**
By Tori Pagani at 10:17 am, Dec 06, 2018

Proofing Approved By: **PROOFING APPROVED BY**
By Daria Kuznetsova at 7:26 am, Dec 07, 2018

Third Eye By: **THIRD EYE BY**
By Terrence Means at 4:58 pm, Dec 10, 2018

BD Directigen™ *Neisseria meningitidis* Test

For the detection of *Neisseria meningitidis* groups A, C, Y and W135

English: pages 1 – 4
Français: pages 5 – 8
Deutsch: Seiten 9 – 12
Italiano: pagine 12 – 16

Español: páginas 16 – 20
Tables: pages 20 – 21
Procedural Chart page 22

R_x Only



0216446JAA(04)

2018-12

Contact your local BD representative for instructions. / Съвръжете се с местния представител на BD за инструкции. / Pokyny vám poskytne místní zástupce společnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Ota yhteyttä lähimpään BD:n edustajaan ohjeiden saamiseksi. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőtől. / Нұсқаулар үшін жерінікті BD өкілімен хабарласыңыз. / Lai saņemtu norādījumus, sazinieties ar vietējo BD pārstāvi. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Neem contact op met uw plaatselijke BD-vertegenwoordiger voor instructies. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o reprezentante local da BD para instruções. / Pentru instrucțiuni, contactați reprezentantul local BD. / Для получения указаний обратитесь к местному представителю компании BD. / Instrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Kontakta närmaste BD-representant för anvisningar. / Talimatlar için yerel BD temsilcinizle temasa geçin. / За инструкции зверніться до місцевого представника компанії BD.

INTENDED USE

The BD Directigen™ *N. meningitidis* Groups A, C, Y and W135 Test is a presumptive latex slide agglutination test for the qualitative detection of antigens to *Neisseria meningitidis* Groups A, C, Y and W135 directly in cerebrospinal fluid (CSF), serum or urine. In addition, the test kit provides confirmation and serogrouping capabilities from suspected colonies of *N. meningitidis* Groups A/Y or C/W135. Visible agglutination occurs when a sample containing any of these bacterial antigens is reacted with its respective antibody-coated latex beads.

SUMMARY AND EXPLANATION

The diagnosis of bacteremia and meningitis, especially in young children, can be difficult. As many as 55% of children are seen by a physician and started on antibiotics before meningitis is detected.¹ Detection of microbial antigens in the CSF is a rapid and helpful method for diagnostic microbiology. It may be the single most important test in cases of partially treated meningitis since Gram stain and culture may be negative. Detection of a specific antigen is a clinically significant finding and a valuable aid when choosing antimicrobial therapy.²

Haemophilus influenzae type b, *Neisseria meningitidis*, and *Streptococcus pneumoniae* have been reported to be the three causative agents responsible for approximately 84% of cases of bacterial meningitis.³

Immunological methods for detecting characteristic exoantigens of pathogenic microorganisms in patient fluids (CSF, serum, urine) are typically faster than traditional methods such as culture. These techniques include counterimmunoelectrophoresis (CIE) and latex agglutination.⁴⁻⁷ The latex agglutination procedure has been found to be more rapid and sensitive than CIE in the detection of purified antigen.^{8,9}

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

Specific antibodies are bound to the surface of latex beads. Latex particle aggregation becomes large enough to allow rapid visualization of positive agglutination in the presence of specific antigens. These specific soluble polysaccharide antigens accumulate in CSF, serum or urine as a result of infection by *N. meningitidis* Groups A, B, C, Y and W135, *H. influenzae* type b, *S. pneumoniae*, and Group B *Streptococcus*. These other antigens can be detected with the BD Directigen Meningitis Combo Test Kit, or other BD Directigen Test Kits (see "Availability").

REAGENTS

BD Directigen *N. meningitidis* Groups A, C, Y and W135:

Reagent 1	(1.0 mL),	Anti- <i>N. meningitidis</i> Groups C and W135, Rabbit Antibody-Coated Latex Suspension, with 0.2% sodium azide (preservative),
Reagent 2	(1.0 mL),	Anti- <i>N. meningitidis</i> Groups A and Y, Rabbit Polyclonal Antibody-Coated Latex Suspension, with 0.2% sodium azide (preservative),
Reagent A	(0.5 mL),	Control Latex, Rabbit Immunoglobulin-Coated Latex Suspension, with 0.2% sodium azide (preservative),
Control +	(3.0 mL),	Polyvalent Positive Antigen Control, <i>N. meningitidis</i> Groups A/Y and C/W135, <i>H. influenzae</i> type b, <i>S. pneumoniae</i> , and Group B <i>Streptococcus</i> Antigens, with 0.2% sodium azide (preservative),
Control –	(3.0 mL),	Negative Antigen Control, glycine buffered saline, with 0.2% sodium azide (preservative).

WARNING



H302 Harmful if swallowed.

P264 Wash thoroughly after handling. **P270** Do not eat, drink or smoke when using this product. **P301+P312** IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. **P330** Rinse mouth. **P501** Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

Precautions: For *in vitro* Diagnostic Use.

Warning: Pathogenic microorganisms, including hepatitis viruses and Human Immunodeficiency Virus, may be present in clinical specimens. "Standard Precautions"¹⁰⁻¹³ and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood and other body fluids. Prior to discarding, sterilize specimen containers and other contaminated materials by autoclaving.

Reagents: Do not use beyond the expiration date. Upon removal from the refrigerator, allow the reagents to warm to room temperature (15–30 °C) before use.

To assure proper drop delivery, reagent dispensing bottles must be held vertically, dispensing one free-falling drop at a time.

Warning: Reagents contain sodium azide, which is very toxic by inhalation, in contact with skin and if swallowed. Contact with acids liberates very toxic gas. After contact with skin, wash immediately with plenty of water. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.

Controls: Do not use the kit if **Control +** and **Control –** do not yield appropriate results.

Test Cards: Cards must be flat for proper reactions. If necessary, flatten cards by bowing back in a direction opposite to that of the curl. Care should be taken not to finger-mark the test areas, since this may result in an oily deposit and improper test results. Use each card once and discard. Store cards in the original package in a dry area at room temperature. When spreading within confines of test areas, avoid scratching the card surface with the plastic stirrers. If the specimen does not spread to the outer perimeter of test area, use another test area of the card.

Test Slide (Glass): If the glass slide is used, disinfect the slide after each use, and wash before reuse. A phenolic disinfectant is suggested. Be sure all detergent and/or disinfectants are thoroughly rinsed from the slide before reuse.

Rotation: The recommended speed for mechanical rotation is 100 ± 2 rpm, but rotation between 95 and 110 rpm does not significantly affect the results obtained. The rotator should circumscribe a circle approximately 2 cm in diameter in the horizontal plane. A moistened humidifying cover should be used to prevent drying of test specimens during rotation.

Storage of Reagents: Upon receipt, remove the carton containing reagents and refrigerate at 2–8 °C. DO NOT FREEZE. Reagents should be recapped and returned to refrigeration when not in use, taking care not to mix color-coded caps.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Refer to appropriate texts for details of specimen collection and handling procedures. Specimens should be tested as soon as possible; however, if the sample cannot be tested immediately, it should be stored at 2–8 °C (for up to 48 h), or at -20 °C.

Serum must be separated from whole blood prior to testing and storage.

SPECIMEN PRETREATMENT

The use of covered glass test tubes (borosilicate) in a 100 °C (boiling) water bath is the most effective means of specimen treatment. Although glass test tubes in a heat block may be used, greater variation in the thorough heating of a sample may be noted as a result of variations in tube size and sample volume.

PROCEDURES

The testing area, all reagents, test specimens and test components should be at room temperature (15–30 °C) when used.

Materials Provided: All materials as listed under "Reagents," work station and accessories.

Materials Required But Not Provided: BD Directigen *Meningitis* Combo Test Cards, BD Directigen Specimen Buffer, Rotator, 100 ± 2 rpm, Humidifying cover, Micropipettor, 50 µL delivery, Pipette tips. } (see "Availability")

Also required are the necessary equipment and labware used for preparation, storage and handling of CSF, serum and urine specimens.

Specimen Preparation (CSF):

1. Heat specimens for 3 min at 100 °C (e.g., water bath or heat block) and allow to cool to room temperature before use.
2. For CSF specimens showing turbidity, centrifuge after heating for 10 min at 1400 x g prior to testing. The supernatant fluid is to be used as the test specimen.
3. Test specimens as described in "Test Procedure."

Specimen Preparation (Serum):

1. Dilute serum specimens of at least 0.6 mL 1:1 with BD Directigen Specimen Buffer and mix.
2. Heat specimens for 5 min at 100 °C (e.g., water bath or heat block) and allow to cool to room temperature before use.
3. Using a wooden applicator stick, break up the protein "clot" formed, and vortex vigorously (approximately 5 s).
4. Centrifuge at a minimum of 1400 x g for 15 min.
5. Test supernatant fluid as described in "Test Procedure."

Specimen Preparation (Unconcentrated Urine):

1. Dilute urine specimens of at least 0.4 mL 1:1 with BD Directigen Specimen Buffer and mix.
2. Heat specimens for 5 min at 100 °C (e.g., water bath or heat block) and allow to cool to room temperature before use.
3. Centrifuge at a minimum of 1400 x g for 10 min.
4. Test supernatant fluid as described in "Test Procedure."

Specimen Preparation (Concentrated Urine):

1. Urine samples that are turbid or have particulate material should be centrifuged at 1400 x g for 10 min before concentrating.
2. Urine samples may be concentrated 25-fold with a Minicon B-15 concentrator (Amicon Corporation, Danvers, Massachusetts).
3. Dilute at least 200 µL of urine concentrate 1:1 with BD Directigen Specimen Buffer and mix.
4. Heat specimens for 5 min at 100 °C (e.g., water bath or heat block) and allow to cool to room temperature before use.
5. Centrifuge at a minimum of 1400 x g for 10 min.
6. Test supernatant fluid as described in "Test Procedure."

Preparation for Confirmation of Colonies from Culture:

1. Locate suspected colonies on the agar surface from 18–24 h cultures that meet morphological and Gram stain characteristics of organisms that are appropriate for testing with BD Directigen meningitis latex reagents. **Note:** A Gram stain should be performed prior to testing to ensure that organisms are appropriate for testing with the BD Directigen meningitis latex reagents.
2. Pipette 0.5 mL (approximately 10 drops) of Control – reagent into a small glass test tube (10 x 75 mm or equivalent).
3. Select several (2–3) isolated colonies of similar morphology from the original or subculture plate using a sterile loop and suspend into the above tube to achieve a suspension equal to a McFarland #1 turbidity standard. **Note:** Over inoculating will yield an excessively heavy suspension which may cause erroneous results.
4. Heat the suspension for 3 min at 100 °C (e.g., boiling water bath or heat block) and allow to cool to room temperature before testing.
5. Centrifuge at a minimum of 1400 x g for 10 min.
6. Test supernatant as described under “Test Procedure.” **Note:** If atypical agglutination patterns are observed, refer to “Limitations of the Procedure.”

User Quality Control: Include **Control +** and **Control –** testing with each batch of specimens tested as described in step 1, “Test Procedure.”

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent CLSI guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

Test Procedure (CSF, serum, urine, concentrated urine, and colony confirmation):

Remove the reagents from refrigerated storage and slide the reagent tray into the slot in the kit Work Station.

For testing a specimen with Reagents 1–2, use the following procedure:

Refer to Procedural Chart Illustrations, page 22.

The Meningitis Combo test card or glass slide may be used to test samples. If using the Meningitis Combo card for more than one sample, label circles appropriately. Before use of the glass slide, thoroughly clean with a lint-free tissue.

1. Dispense one drop of **Control +** onto circles “+” in the NmC/W and the NmA/Y columns. Place one drop of **Control –** onto circles “–” in the NmC/W and the NmA/Y columns.
2. Micropipette 50 µL of test sample onto circle(s) of sample row S in the NmC/W and NmA/Y columns and circle A.
3. Holding the dispensing bottle by the cap, vigorously swing (without inverting) to thoroughly mix each reagent. Before uncapping the bottle, gently tap the base on the counter top to assure that no latex remains in the tip.
4. Dispense one drop of **Reagent A** onto circle A.
5. Dispense one drop of **Reagent 1** onto the circles in S, “+” and “–” in the NmC/W column. Dispense one drop of **Reagent 2** onto circles in S, “+” and “–” in the NmA/Y column.
6. Mix the samples and the latex reagents in each circle with a plastic stirrer, alternately using first one end of the stirrer and then the opposite end for the next circle. Discard the stirrer.
7. Place the test card or glass slide on a mechanical rotator and rotate at a speed of 100 ± 2 rpm for 10 min. Use a moistened humidifying cover to prevent evaporation.
8. Immediately at the end of 10 min, read the test results macroscopically under a high intensity incandescent light.

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

Record **Control +** and **Control –** test results first.

The **Control +** should yield strong agglutination within 10 min. The **Control –** should show no agglutination.

Agglutination in any of the circles containing **Reagent A** or **Control –** renders the reaction uninterpretable.

Record patient test results:

Positive Test – Should show agglutination. Any degree of agglutination present in one of the latex reagents indicates the presence of the corresponding antigen. *Agglutination in two or more latex reagents or the corresponding BD Directigen™ Reagent-A renders the reaction uninterpretable.*

Negative Test – Should show no agglutination.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

These latex agglutination tests are not intended as a substitute for bacterial culture. Confirmatory diagnosis of bacterial meningitis infection is only possible with appropriate culture procedures and should be routinely performed.

Samples with extremely low levels of antigen, for instance early in the course of infection, may yield negative results. Furthermore, samples with exceedingly high antigen concentrations may exhibit prozone effects producing inappropriately negative results. Although not extensively studied, prozone phenomena have only been observed in specimens seeded with extremely high antigen levels, and not in clinical specimens.

This assay is for the qualitative detection of antigens to *N. meningitidis* groups A, C, Y or W135 in CSF, serum or urine. In addition, the test kit can also be used with suspected colonies of *N. meningitidis* Groups A/Y or C/W135. Performance with other specimen types has not been assessed. The BD Directigen *Neisseria meningitidis* test cannot be used with blood culture media.

N. meningitidis Groups C and W135 reagent is known to cross react in the presence of *Escherichia coli* K92. *Other cross reactions, uninterpretable and false positives may occur which are reduced or eliminated by proper specimen preparation (see “Specimen Pretreatment” and “Procedures-Specimen Preparation”).*

Untreated serum and urines may yield uninterpretable results with the latex reagents and should be treated as in “Procedures-Specimen Preparation.” CSF specimens or treated urine specimens showing turbidity should be centrifuged for 10 min at 1400 x g after heating, and prior to testing. The supernatant fluid is to be used as the test specimen.

Urine specimens (Processed according to "Procedures-Specimen Preparation") yielding uninterpretable or suspected false positive results may be filtered using a MILLIPORE™ Millex-HA 0.45 µm filter (#SLHA-0250S) and retested with the reactive test latex(es) and the corresponding control latex(es).

Colony confirmation samples that yield uninterpretable or atypical agglutination reactions may require a 1:10 dilution of the supernatant fluid with Control – reagent. Care should be taken to avoid bacterial suspensions greater than a McFarland #1 turbidity standard.

EXPECTED VALUES

Haemophilus influenzae type b, *Neisseria meningitidis*, and *Streptococcus pneumoniae* have been reported to be the three causative agents responsible for approximately 84% of cases of bacterial meningitis.³

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity: BD Directigen *N. meningitidis* Groups A and Y, C and W135 latex reagents were compared with counter-immunoelectrophoresis for the ability to detect a partially purified *N. meningitidis* Group polysaccharide antigen in CSF, serum and urine. Commercial antisera specific for each *N. meningitidis* group were used in the CIE test. The BD Directigen *N. meningitidis* latex reagents were equal to or more sensitive than CIE in detecting *N. meningitidis* Group antigens.

A series of retrospective clinical evaluations of the *N. meningitidis* A and Y, C and W135 latex reagents were performed with specimens originally derived from patients with culture, CIE, or commercial latex reagent positive confirmed cases of *N. meningitidis* Groups A, C, and W135 infection. The data presented in **Table 1 (see page 20)** are an accumulation of these evaluations. In some cases CIE testing was not included in some of the evaluation.

Specificity: The specificity of the BD Directigen *N. meningitidis* Groups A and Y, C and W135 latex reagents was determined by testing retrospective and prospective CSF, serum and urine during a series of multiple site clinical evaluations (**Table 2, see page 21**). The latex reagents were tested against culture negative and nonindexed culture positive specimens. The data indicates specificity ranges of 97–100% depending on the latex reagent and specimen tested.

Colony Confirmation: Latex reagents were tested using suspensions of isolated colonies that met morphological characteristics of the organisms. Performance characteristics are listed in **Table 3 (see page 21)**.

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
250160	BD Directigen™ <i>Neisseria meningitidis</i> Test, 30 tests.
255460	BD Directigen™ Group B Strep Test, 30 tests.
252260	BD Directigen™ <i>H. influenzae</i> type b Test, 30 tests.
255560	BD Directigen™ <i>Neisseria meningitidis</i> Group B and <i>E. coli</i> K1 Test, 30 tests.
251960	BD Directigen™ <i>S. pneumoniae</i> Test, 30 tests.
252360	BD Directigen™ Meningitis Combo Test, 30 tests.
252480	BD Directigen™ Meningitis Combo Test Card (single use), Box 30.
256391	BD Directigen™ Specimen Buffer Solution, 8 mL.
278051	BD Macro-Vue™ Card Test Rotator, with humidifying cover.

REFERENCES

1. Rothrock, S.G., S.M. Green, J. Wren, D. Letai, L. Daniel-Underwood, E. Pillar: Pediatric bacterial meningitis: is prior antibiotic therapy associated with unaltered clinical presentation?, *Annals Emerg. Med.* 21:146–152, 1992.
2. Fasola, E. and P. Ferrieri: Laboratory diagnostic methods for central nervous system infections, *Neuro. Clinics N. Amer.* 3:279–290, 1992.
3. Morbidity and Mortality Weekly Report (CDC), Surveillance summary: bacterial meningitis and meningococcemia, United States, 28:277–279, 1978.
4. Edwards, E.A.: Immunologic investigations of meningococcal disease, group-specific *Neisseria meningitidis* antigens present in the serum of patients with fulminant meningococcemia., *J. Immunol.* 106:314–317, 1971.
5. Whittle, H.C., Egler, J.J., Tugwell, P. and Greenwood, B.M.: Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination., *Lancet* 2:619–621, 1974.
6. Ingram, D.L., Anderson, P. and Smith, D.H.: Counterimmunoelectrophoresis in the diagnosis of disease caused by *Haemophilus influenzae* type b., *J. Ped.*, 81:1156–1159, 1972.
7. Newman, R.B., Stevens, R. W. and Gaafar, H.H.: Latex agglutination tests for the diagnosis of *Haemophilus influenzae* Meningitis., *J. Lab. Clin. Med.*, 76:107–113, 1970.
8. Data on file at BD Diagnostic Systems.
9. Tilton, R. C., Dias, F. and Ryan, R.W.: Comparative evaluation of three commercial products and counterimmunoelectrophoresis for the detection of antigens in cerebrospinal fluid, *J. Clin. Microbiol.*, 20:231–234, 1984.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
11. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* 17:53-80.
12. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
13. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). *Official Journal L262*, 17/10/2000, p. 0021-0045.

Technical Information: In the United States contact BD Technical Service and Support at 1.800.638.8663 or www.bd.com.

BD Directigen *Neisseria meningitidis* Test

Pour la détection de *Neisseria meningitidis* des groupes A, C, Y et W135

Français

APPLICATION

Le test *N. meningitidis* des groupes A, C, Y et W135 BD Directigen est un test de présomption utilisant une technique d'agglutination de particules de latex sur lame pour la détection qualitative directe d'antigènes de *Neisseria meningitidis* des groupes A, C, Y et W135 dans le liquide céphalo-rachidien (LCR), le sérum ou l'urine. De plus, la trousse diagnostique permet de confirmer la présence et le séro-groupe des colonies présumées de *N. meningitidis* des groupes A/Y ou C/W135. Une agglutination visible est observée lorsqu'un échantillon contenant l'un de ces antigènes bactériens est mis en présence de billes de latex recouvertes de l'anticorps correspondant.

RESUME ET EXPLICATION

Le diagnostic de la bactériémie et de la méningite, en particulier chez le jeune enfant, peut être difficile. Jusqu'à 55 % des enfants examinés par un médecin sont placés sous antibiothérapie avant qu'une méningite soit diagnostiquée.¹ La détection d'antigènes microbiens dans le LCR est une méthode rapide et utile pour le diagnostic microbiologique. Il peut s'agir du test unique le plus important en cas de méningite partiellement traitée, car la coloration de Gram et la mise en culture peuvent être négatives. La détection d'antigènes spécifiques est une donnée clinique importante fournissant une information précieuse pour faciliter le choix d'un traitement antimicrobien.²

Haemophilus influenzae de type b, *Neisseria meningitidis* et *Streptococcus pneumoniae* sont responsables d'environ 84 % des cas de méningites bactériennes.³

Les méthodes immunologiques de détection d'antigènes exogènes, caractéristiques de microorganismes pathogènes dans les liquides organiques d'un patient (LCR, sérum, urine), sont habituellement plus rapides que les méthodes traditionnelles comme la mise en culture. Ces techniques comprennent l'électrosynérèse (CIE) et l'agglutination de particules de latex.⁴⁻⁷ La méthode d'agglutination de latex s'est avérée plus rapide et plus sensible que la CIE pour la détection d'un antigène purifié.^{8,9}

PRINCIPES DE LA METHODE

Des anticorps spécifiques sont liés à la surface de billes de latex. L'aggrégation des particules de latex devient suffisamment importante pour permettre la visualisation d'une agglutination positive en présence d'antigènes spécifiques. Ces antigènes polysaccharidiques solubles spécifiques s'accumulent dans le LCR, le sérum ou l'urine à la suite d'une infection par *N. meningitidis* des groupes A, B, C, Y ou W135, *H. influenzae* de type b, *S. pneumoniae* et *Streptococcus* de groupe B. Ces autres antigènes peuvent être détectés avec la trousse diagnostique Meningitis Combo BD Directigen ou d'autres trousses BD Directigen (voir « Conditionnement »).

REACTIFS

N. meningitidis des groupes A, C, Y et W135 BD Directigen :

- | | | |
|-------------------|-----------|--|
| Réactif 1 | (1,0 mL), | Anti- <i>N. meningitidis</i> des groupes C et W135, suspension de latex recouvert d'anticorps polyclonaux de lapin, avec 0,2 % d'azide de sodium (agent conservateur), |
| Réactif 2 | (1,0 mL), | Anti- <i>N. meningitidis</i> des groupes A et Y, suspension de latex recouvert d'anticorps polyclonaux de lapin, avec 0,2 % d'azide de sodium (agent conservateur), |
| Réactif A | (0,5 mL), | Latex de contrôle, suspension de latex recouvert d'immunoglobulines de lapin – chaque réactif contenant 0,2 % d'azide de sodium (agent conservateur), |
| Contrôle + | (3,0 mL), | Contrôle antigène positif polyvalent, antigènes de <i>N. meningitidis</i> des groupes A/Y et C/W135, <i>H. influenzae</i> de type b, <i>S. pneumoniae</i> , <i>Streptococcus</i> de groupe B, avec 0,2 % d'azide de sodium (agent conservateur), |
| Contrôle – | (3,0 mL), | Contrôle antigène négatif, sérum physiologique tamponné à la glycine – chaque contrôle contenant 0,2 % d'azide de sodium (agent conservateur). |

ATTENTION



H302 Nocif en cas d'ingestion.

P264 Se laver soigneusement après manipulation. **P270** Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit. **P301+P312** EN CAS D'INGESTION: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. **P330** Rincer la bouche. **P501** Éliminer le contenu/réceptacle conformément aux règlements locaux/régionaux/nationaux/internationaux.

Précautions : Réservé au diagnostic *in vitro*.

Avertissement : Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »¹⁰⁻¹³ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques. Stériliser à l'autoclave les réceptacles contenant les échantillons et d'autres matériaux contaminés avant de les éliminer.

Réactifs : Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption. Après avoir sorti les réactifs du réfrigérateur, les laisser se réchauffer à température ambiante (15–30 °C) avant de les utiliser.

Pour garantir une distribution en gouttes de taille correcte, les flacons distributeurs de réactifs doivent être maintenus verticalement, de manière à ne distribuer qu'une goutte à la fois.

Avertissement : Les réactifs contiennent de l'azide de sodium, qui est extrêmement toxique par inhalation, contact avec la peau ou ingestion. Au contact d'un acide, un gaz très toxique est dégagé. Éviter tout contact avec la peau; laver immédiatement à grande eau. L'azide de sodium peut réagir au contact du plomb ou du cuivre des canalisations et former des azides métalliques très explosifs. Rincer avec un grand volume d'eau lors de l'élimination pour éviter l'accumulation d'azides.

Contrôles : Ne pas utiliser la trousse si le **Contrôle +** et le **Contrôle -** ne donnent pas les résultats escomptés.

Cartes de test : Les cartes doivent être bien plates pour donner des réactions correctes. Si nécessaire, les aplatir en les faisant bomber dans le sens inverse de l'incurvation. Bien veiller à ne pas laisser d'empreintes de doigts sur les zones de test, car tout dépôt gras risque de fausser les résultats. N'utiliser chaque carte qu'une seule fois, puis la jeter. Conserver les cartes neuves dans leur emballage d'origine, à l'abri de l'humidité et à température ambiante. Lors de l'étalage aux confins des zones de test, éviter de gratter la surface de la carte avec les agitateurs en plastique. Si l'échantillon ne s'étale pas jusqu'au périmètre extérieur de la zone de test, utiliser une autre zone de test de la carte.

Lame de test (en verre) : Si une lame en verre est utilisée, désinfecter la lame après chaque utilisation et la laver avant réutilisation. L'emploi d'un désinfectant à base de phénol est recommandé. Veiller à éliminer complètement par rinçage les détergents et/ou les désinfectants présents sur la lame avant de la réutiliser.

Rotation : La vitesse d'agitation rotative mécanique recommandée est de 100 ± 2 rpm, mais une vitesse allant de 95 à 110 rpm n'affecte pas les résultats obtenus de façon significative. L'agitateur rotatif doit décrire un cercle de 2 cm de diamètre environ dans le plan horizontal. Utiliser un couvercle d'humidification humecté pour éviter la dessiccation des échantillons testés pendant l'agitation.

Conservation des réactifs : Dès réception, sortir le carton contenant les réactifs et les réfrigérer à une température comprise entre 2 et 8 °C. NE PAS CONGELER. Après utilisation, reboucher les réactifs et les remettre au réfrigérateur en veillant à ne pas permuter les bouchons à code de couleur.

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Se reporter aux textes concernés pour plus d'informations sur les procédures de prélèvement et de manipulation des échantillons. Tester les échantillons dès que possible ; toutefois, s'il est impossible de tester un échantillon immédiatement, le conserver à une température comprise entre 2 et 8 °C (48 h au maximum) ou le congeler à -20 °C.

Séparer le sérum du sang total avant de le tester ou de le stocker.

PRETRAITEMENT DES ECHANTILLONS

L'utilisation de tubes à essai en verre (borosilicaté) bouchés dans un bain-marie à 100 °C (bain-marie à ébullition) est le moyen le plus efficace de traiter les échantillons. Même s'il est possible d'utiliser un bloc chauffant pour des tubes à essai en verre, les variations de taille de tube et de volume d'échantillon pourraient entraîner des variations plus importantes de chauffage intégral d'un échantillon.

MODES OPERATOIRES

Lors du test, le plan de travail, les réactifs, les échantillons et les composants du test doivent se trouver à température ambiante (15–30 °C).

Matériel fourni : Le matériel fourni est répertorié au paragraphe « Réactifs » ; poste de travail, cartes de test jetables et accessoires.

Matériel requis mais non fourni : Cartes de test Meningitis Combo BD Directigen, tampon échantillon BD Directigen, agitateur rotatif, 100 ± 2 rpm, couvercle humidificateur, micropipette : } (voir "Matériel disponible")
distribution de 50 µL, embouts de pipette.

Sont également requis, le matériel et les fournitures de laboratoire utilisés pour la préparation, la conservation et la manipulation des échantillons de LCR, de sérum et d'urine.

Préparation des échantillons (LCR) :

1. Chauffer les échantillons pendant 3 min à 100 °C (p. ex., bain-marie ou bloc chauffant) et laisser refroidir à température ambiante avant l'emploi.
2. Pour les échantillons de LCR turbides, centrifuger après chauffage pendant 10 min à 1400 g avant de procéder au test. Le surnageant constitue l'échantillon à tester.
3. Tester les échantillons comme indiqué au paragraphe « Mode opératoire du test ».

Préparation des échantillons (sérum) :

1. Diluer, à parts égales, les échantillons sériques (0,6 mL au minimum) avec le tampon échantillon BD Directigen et mélanger.
2. Chauffer les échantillons pendant 5 min à 100 °C (p. ex., bain-marie ou bloc chauffant) et laisser refroidir à température ambiante avant l'emploi.
3. À l'aide d'un bâtonnet applicateur en bois, rompre le «-caillot-» de protéines qui s'est formé et agiter vigoureusement au vortex (pendant environ 5 s).
4. Centrifuger à 1400 g au minimum pendant 15 min.
5. Tester le surnageant liquide comme indiqué au paragraphe « Mode opératoire du test ».

Préparation des échantillons (urine non concentrée) :

1. Diluer, à parts égales, les échantillons d'urine (0,4 mL au minimum) avec le tampon échantillon BD Directigen et mélanger.
2. Chauffer les échantillons pendant 5 min à 100 °C (p.-ex., bain-marie ou bloc chauffant) et laisser refroidir à température ambiante avant l'emploi.
3. Centrifuger à 1400 g au minimum pendant 10 min.
4. Tester le surnageant liquide comme indiqué au paragraphe « Mode opératoire du test ».

Préparation des échantillons (urine concentrée) :

1. Centrifuger les échantillons d'urine qui sont turbides ou présentent des particules en suspension à 1400 g pendant 10 min avant de les concentrer.
2. Les échantillons d'urine peuvent être concentrés 25 fois à l'aide d'un concentrateur Minicon B-15 (Amicon Corporation, Danvers, Massachusetts, Etats-Unis).
3. Diluer, à parts égales, 200 µL d'urine concentrée avec le tampon échantillon BD Directigen et mélanger.
4. Chauffer les échantillons pendant 5 min à 100 °C (p. ex., bain-marie ou bloc chauffant) et laisser refroidir à température ambiante avant l'emploi.
5. Centrifuger à 1400 g au minimum pendant 10 min.
6. Tester le surnageant liquide comme indiqué au paragraphe « Mode opératoire du test ».

Préparation à la confirmation des colonies en culture :

1. Localiser les colonies suspectées en surface de la gélose de cultures âgées de 18 à 24 h répondant aux caractéristiques de morphologie et de coloration de Gram des microorganismes adaptés au test par les réactifs au latex meningitis BD Directigen.
Remarque : Effectuer une coloration de Gram avant de réaliser le test pour s'assurer que les microorganismes peuvent être testés avec les réactifs au latex meningitis BD Directigen.
2. Pipeter 0,5 mL (environ 10 gouttes) de réactif contrôle – dans un petit tube à essai en verre (10 x 75 mm ou équivalent).
3. A l'aide d'un ensementeur à anse stérile, sélectionner plusieurs (2 à 3) colonies isolées de morphologie similaire, à partir de la boîte de Pétri d'origine ou d'un repiquage, et réaliser une suspension dans le petit tube à essai pour obtenir une turbidité équivalente à un standard de turbidité McFarland n° 1. **Remarque :** Une inoculation excessive se traduira par une suspension trop dense pouvant donner des résultats erronés.
4. Chauffer les échantillons pendant 3 min à 100 °C (p. ex., bain-marie à ébullition ou bloc chauffant) et les laisser refroidir jusqu'à température ambiante avant de procéder au test.
5. Centrifuger à 1400 g au minimum pendant 10 min.
6. Tester le surnageant comme indiqué au paragraphe « Mode opératoire du test ». **Remarque :** Si des motifs d'agglutination atypiques sont observés, se reporter à « Limites de la procédure ».

Contrôle de qualité par l'utilisateur : Incorporer un **Contrôle +** et un **Contrôle –** à chaque lot d'échantillons testés comme indiqué à l'étape 1, « Mode opératoire du test ».

Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

Mode opératoire du test (LCR, sérum, urine, urine concentrée et confirmation de colonies) :

Sortir les réactifs du réfrigérateur et engager le plateau à réactifs dans le logement du poste de travail de la trousse.

Pour tester un échantillon avec les réactifs 1 à 2, utiliser la méthode suivante :

Se référer aux illustrations du tableau de procédure sur la page 22.
--

La carte de test ou la lame en verre Meningitis Combo test peut servir à tester les échantillons. Si la carte Meningitis Combo sert pour plus d'un échantillon, veuillez étiqueter les zones de test de manière appropriée. Nettoyer complètement la lame en verre avec un tissu non pelucheux avant de l'utiliser.

1. Déposer une goutte de **Contrôle +** dans les zones de test « + » des colonnes NmC/W et NmA/Y. Déposer une goutte de **Contrôle –** dans les zones de test « – » des colonnes NmC/W et NmA/Y.
2. Déposer à la micropipette 50 µL d'échantillon à tester dans la(es) zone(s) de test de la rangée S d'échantillons dans les colonnes NmC/W et NmA/Y et la zone A.
3. Saisir le flacon compte-gouttes par le bouchon et agiter vigoureusement (sans inverser le flacon) pour bien mélanger chaque réactif. Avant de déboucher le flacon, tapoter délicatement le fond du flacon contre le plan de travail pour faire tomber le réactif au latex éventuellement retenu dans l'embout.
4. Distribuer une goutte de **Réactif A** sur la zone de test A.
5. Déposer une goutte de **Réactif 1** dans les zones de test S, « + » et « – » de la colonne NmC/W. Déposer une goutte de **Réactif 2** dans les zones de test S, « + » et « – » de la colonne NmA/Y.
6. Mélanger les échantillons et les réactifs au latex dans chaque zone de test à l'aide d'un agitateur en plastique, en utilisant d'abord la première extrémité, puis l'autre extrémité pour la zone de test suivante. Jeter l'agitateur.
7. Placer la carte de test ou la lame en verre dans un agitateur rotatif. Recouvrir d'un couvercle humidificateur mouillé afin d'éviter toute évaporation et faire tourner pendant 10 min à une vitesse de 100 ± 2 rpm.
8. A l'issue des 10 min, lire immédiatement les résultats du test par observation macroscopique sous une lampe à incandescence à forte intensité.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Lire d'abord les résultats de test des **contrôles +** et –.

Le **Contrôle +** doit produire une forte agglutination dans les 10 min qui suivent. Aucune agglutination ne doit être visible pour le **Contrôle –**.

Toute agglutination dans l'une des zones de test contenant le **Réactif A** ou le **Contrôle –** rend la réaction ininterprétable.

Lire les résultats de test des échantillons cliniques :

Test positif – Doit montrer une agglutination. Tout degré d'agglutination visible avec l'un des réactifs au latex indique la présence de l'antigène correspondant. *Toute trace d'agglutination dans au moins deux des réactifs au latex ou du réactif A BD Directigen correspondant rend la réaction ininterprétable.*

Test négatif – Ne doit présenter aucune trace d'agglutination.

LIMITES DE LA PROCEDURE

Ces tests d'agglutination au latex ne sont pas destinés à se substituer à la mise en culture des bactéries. Le diagnostic de confirmation d'une méningite bactérienne repose uniquement sur les méthodes de culture appropriées et devrait être effectué en routine.

Les échantillons qui présentent des concentrations d'antigène extrêmement faibles, par exemple au début de l'infection, sont susceptibles de donner des résultats négatifs. En outre, des échantillons ayant des concentrations en antigène extrêmement élevées pourraient présenter un phénomène prozone et aboutir à des résultats faussement négatifs. Bien qu'ayant fait l'objet d'études partielles, le phénomène prozone n'a été rapporté qu'avec des échantillons ensemencés avec des concentrations d'antigènes extrêmement élevées et non avec des échantillons cliniques.

Ce dosage est destiné à la détection qualitative des antigènes de *N. meningitidis* des groupes A, C, Y ou W135 dans le LCR, le sérum ou l'urine. De plus, la trousse diagnostique peut être utilisée pour des colonies présumées de *N. meningitidis* des groupes A/Y ou C/W135. Les performances du test avec d'autres types d'échantillon n'ont pas été évaluées. Les tests *Neisseria meningitidis* BD Directigen ne peuvent pas être utilisés avec des milieux d'hémoculture.

De même, le réactif *N. meningitidis* des groupes C et W135 présente une réaction croisée en présence de *Escherichia coli* K92. D'autres réactions croisées, ininterprétables et faussement positives peuvent se produire, mais elles peuvent être réduites, voire éliminées, par une préparation correcte des échantillons (voir « Pré-traitement des échantillons » et « Modes opératoires – Préparation des échantillons »).

Des échantillons de sérum et d'urine non traités peuvent donner des résultats ininterprétables avec les réactifs au latex, et devront être traités comme indiqué au paragraphe « Modes opératoires – Préparation des échantillons ». Les échantillons de LCR ou les échantillons d'urine traités présentant une certaine turbidité doivent être centrifugés pendant 10 minutes à 1400 g après avoir été chauffés et avant d'être analysés. Le surageant constitue l'échantillon à tester.

Les échantillons d'urine (traités conformément à la section « Modes opératoires – Préparation des échantillons ») donnant des résultats ininterprétables ou suspects d'être de faux positifs peuvent être filtrés sur filtre MILLIPORE Millex-HA 0,45 µm (#SLHA-0250S) et testés à nouveau avec les réactifs de test au latex et les latex de contrôle correspondants.

Il est possible que l'on doive diluer au 1:10 avec le réactif contrôle « – » le surageant des échantillons de confirmation des colonies qui produisent des réactions d'agglutination ininterprétables ou atypiques. Eviter de créer des suspensions bactériennes plus denses que le standard de turbidité McFarland n° 1.

VALEURS ATTENDUES

Haemophilus influenzae de type b, *Neisseria meningitidis* et *Streptococcus pneumoniae* sont responsables d'environ 84 % des cas de méningites bactériennes.³

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Sensibilité : Les réactifs au latex *N. meningitidis* des groupes A et Y, C et W135 BD Directigen ont été comparés à l'électrosynérèse en ce qui concerne leur aptitude à détecter un antigène polysaccharidique partiellement purifié du groupe *N. meningitidis* dans le LCR, le sérum et l'urine. Des immunosérums du marché, spécifiques de chaque groupe *N. meningitidis*, ont été utilisés dans le test CIE. La sensibilité des réactifs au latex *N. meningitidis* BD Directigen pour la détection des antigènes du groupe *N. meningitidis* était égale ou supérieure à celle de la CIE.

Une évaluation clinique rétrospective des réactifs au latex *N. meningitidis* A et Y, C et W135 a été effectuée sur des échantillons cliniques dérivés initialement de cas d'infection à *N. meningitidis* des groupes A, C et W135 confirmés par culture, CIE ou un réactif au latex du marché. Les données présentées au **Tableau 1 (voir page 20)** sont issues de l'agrégation de ces résultats. Dans certains cas, la méthode de test par CIE n'a pas été incluse dans une partie de l'évaluation.

Spécificité : La spécificité des réactifs au latex *N. meningitidis* des groupes A et Y, C et W135 BD Directigen a été déterminée par analyse rétrospective et prospective d'échantillons de LCR, de sérum et d'urine au cours d'une série d'évaluations cliniques menées dans plusieurs centres investigateurs (**voir tableau 2, page 21**). Les réactifs au latex ont été testés sur des échantillons négatifs par culture et sur des échantillons positifs par culture mais non-enregistrés. Les résultats indiquent des plages de spécificité de 97 à 100 % selon le réactif au latex et l'échantillon testés.

Confirmation de colonies : Les réactifs au latex ont été testés sur des suspensions de colonies isolées dont les caractéristiques morphologiques correspondaient à celles des microorganismes. Les caractéristiques de performances sont répertoriées dans le **tableau 3 (voir page 21)**.

CONDITIONNEMENT

N° cat.	Description
250160	BD Directigen <i>Neisseria meningitidis</i> Test, 30 tests.
255460	BD Directigen Group B Strep Test, 30 tests.
252260	BD Directigen <i>H. influenzae</i> type b Test, 30 tests.
255560	BD Directigen <i>Neisseria meningitidis</i> Group B et <i>E. coli</i> K1 Test, 30 tests.
251960	BD Directigen <i>S. pneumoniae</i> Test, 30 tests.
252360	BD Directigen Meningitis Combo Test, 30 tests.
252480	BD Directigen Meningitis Combo Test Card (usage unique), boîte de 30.
256391	BD Directigen Specimen Buffer Solution (solution tampon pour échantillons), 8 mL.
278051	BD Macro-Vue Card Test Rotator (agitateur rotatif de test sur carte), avec protège-carte humidificateur.

RÉFÉRENCES : voir la rubrique « References » du texte anglais.

Service et assistance technique : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site www.bd.com.

BD Directigen *Neisseria meningitidis*-Test

Zum Nachweis von *Neisseria meningitidis* Gruppe A, C, Y und W135

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Der BD Directigen-Test zum Nachweis von *N. meningitidis* Gruppe A, C, Y und W135 ist ein präsumtiver Latex-Agglutinationstests für den direkten qualitativen Nachweis von Antigenen gegen *N. meningitidis* Gruppe A, C, Y und W135 direkt in Rückenmarksflüssigkeit (Liquor), Serum oder Urin. Außerdem bietet das Testkit ein Mittel zur Bestätigung des Vorhandenseins und zur Identifizierung der serologischen Gruppe von vermutlichen Kolonien von *N. meningitidis* Gruppe A/Y oder C/W135. Wenn eine Probe, die eines dieser bakteriellen Antigene enthält, mit den entsprechenden antikörperbeschichteten Latex-Partikeln zur Reaktion gebracht wird, kommt es zu einer sichtbaren Agglutination.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Die Diagnose von Bakteriämien und Meningitis kann insbesondere bei kleinen Kindern schwierig sein. Bis zu 55 % der betroffenen Kinder werden dem Arzt vorgestellt und mit Antibiotika behandelt, bevor die Meningitis erkannt wird.¹ Der Nachweis der bakteriellen Antigene in der Rückenmarksflüssigkeit ist ein schnelles und nützliches Verfahren der mikrobiologischen Diagnostik. Dieses Verfahren könnte in Fällen teilweise therapierter Meningitis sogar der wichtigste Einzeltest überhaupt sein, da die Gramfärbung und Kultivierung in diesen Fällen negativ ausfallen kann. Der Nachweis eines spezifischen Antigens ist ein klinisch signifikanter Befund und eine große Hilfe bei der Wahl der richtigen Antibiotikatherapie.²

Haemophilus influenzae Typ B, *Neisseria meningitidis* und *Streptococcus pneumoniae* wurden als diejenigen drei Pathogene benannt, die für etwa 84 % aller Fälle bakterieller Meningitis verantwortlich sind.³

Immunologische Nachweismethoden für charakteristische Exoantigene pathogener Mikroorganismen in Patientenflüssigkeiten (Rückenmarksflüssigkeit, Serum, Urin) sind typischerweise schneller als herkömmliche Methoden, wie z.B. die Kultivierung. Zu diesen Nachweismethoden gehören die Kontra-Immunelektrophorese (CIE) und die Latex-Agglutination.⁴⁻⁷ Es hat sich herausgestellt, daß die Latex-Agglutination einen schnelleren und empfindlicheren Nachweis des purifizierten Antigens zuläßt als CIE.^{8,9}

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Spezifische Antikörper werden an die Oberfläche von Latex-Partikeln gebunden. Die Aggregation von Latex-Partikeln wird groß genug, um eine schnelle optische Erkennung einer positiven Agglutination bei Vorliegen spezifischer Antigene zu ermöglichen. Diese spezifischen löslichen Polysaccharid-Antigene reichern sich nach einer Infektion mit *N. meningitidis* Gruppe A, B, C, Y oder W135, *H. influenzae* Typ B, *S. pneumoniae* und *Streptococcus* der Gruppe B in Rückenmarksflüssigkeit, Serum oder Urin an. Diese anderen Antigene lassen sich mit dem BD Directigen-Meningitis-Combo-Testkit oder anderen BD Directigen-Einzeltestkits nachweisen (siehe „Bezugsdaten“).

REAGENZIEN

BD Directigen *N. meningitidis* Gruppe A, C, Y und W135:

- | | |
|------------------------------|--|
| Reagenz 1 (1,0 mL), | Anti- <i>N. meningitidis</i> Gruppe C und W135, mit polyklonalen Antikörpern (Kaninchen) beschichtete Latex-Suspension, mit 0,2 % Natriumazid (Konservierungsmittel), |
| Reagenz 2 (1,0 mL), | Anti- <i>N. meningitidis</i> Gruppe A und Y, mit polyklonalen Antikörpern (Kaninchen) beschichtete Latex-Suspension, mit 0,2 % Natriumazid (Konservierungsmittel), |
| Reagenz A (0,5 mL), | Kontroll-Latex, mit Kaninchen-Immunglobulin beschichtete Latexsuspension, mit 0,2 % Natriumazid (Konservierungsmittel), |
| Kontrolle + (3,0 mL), | Polyvalente, positive Antigenkontrolle, Antigene gegen <i>N. meningitidis</i> Gruppe A/Y und C/W135, <i>H. influenzae</i> Typ B, <i>S. pneumoniae</i> und <i>Streptococcus</i> Gruppe B und <i>S. pneumoniae</i> , mit 0,2 % Natriumazid (Konservierungsmittel), |
| Kontrolle – (3,0 mL), | Negative Antigen-Kontrolle, glyzinepufferte Kochsalzlösung, mit 0,2 % Natriumazid (Konservierungsmittel). |

ACHTUNG



H302 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.

P264 Nach Gebrauch gründlich waschen. **P270** Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen. **P301+P312** BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. **P330** Mund ausspülen. **P501** Inhalt/Behälter gemäß den örtlichen/regionalen/nationalen/internationalen Bestimmungen entsorgen.

Sicherheitshinweise: In-vitro-Diagnostikum.

Warnung: Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z.B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“¹⁰⁻¹³ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Nach Gebrauch Probenbehälter und andere kontaminierte Materialien im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Reagenzien: Verfallsdatum beachten. Nach der Entnahme aus dem Kühlschrank Reagenzien vor Verwendung Raumtemperatur (15–30 °C) erreichen lassen.

Zum Einstellen einer exakten Tropfengröße müssen die Tropffläschchen beim Auftragen der Reagenzien senkrecht gehalten werden, so daß nur ein freifallender Tropfen auf einmal aufgetragen wird.

Warnung: Die Reagenzien enthalten Natriumazid. Sehr giftig beim Einatmen, bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken. Bei Kontakt mit Säuren entstehen hochgiftige Gase. Falls es zu Hautkontakt kommt, sofort mit reichlich Wasser abwaschen. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferleitungen reagieren und hochoexplosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen mit sehr viel Wasser nachspülen, um Azidansammlungen zu vermeiden.

Kontrollen: Kit nicht verwenden, wenn **Kontrolle +** (positiv) und **Kontrolle –** (negativ) nicht die korrekten Resultate erbringen.

Testkarten: Zur Erzielung eines korrekten Testergebnisses ist darauf zu achten, daß die Testkarte nicht gebogen ist. Karte, falls erforderlich, vorsichtig entgegen der Wölbung geradebiegen. Testfelder nicht berühren, da eventuelle Fettspuren zu falschen Ergebnissen führen können. Jede Testkarte nur einmal verwenden und danach verwerfen. Testkarten in der Originalverpackung bei Zimmertemperatur in einem trockenen Bereich lagern. Beim Ausstreichen innerhalb der Testfelder die Oberfläche der Karte nicht mit den Kunststoffspateln verkratzen. Wenn sich die Probe nicht bis in den Randbereich des Testfeldes ausstreichen läßt, ein anderes Testfeld auf der Karte verwenden.

Testplatte (Glas): Wenn eine Testplatte verwendet wird, sie nach jedem Gebrauch desinfizieren und vor erneutem Gebrauch reinigen. Es wird empfohlen, hierfür ein phenolhaltiges Desinfektionsmittel zu verwenden. Darauf achten, daß vor einer Wiederverwendung alle Reinigungs- und Desinfektionsmittel gründlich vom Objektträger abgespült wurden.

Rotation: Die empfohlene Geschwindigkeit für mechanische Rotation beträgt 100 ± 2 U/min; eine Geschwindigkeit zwischen 95 und 110 U/min beeinflusst die Ergebnisse jedoch nicht wesentlich. Der Rotationsarm sollte in der horizontalen Ebene einen Kreis von etwa 2 cm Durchmesser beschreiben. Um zu vermeiden, daß die Proben dabei austrocknen, sollte während des Rotationsvorgangs ein Verdunstungsschutzdeckel verwendet werden.

Aufbewahrung der Reagenzien: Packung mit den Reagenzien nach Erhalt aus dem Karton nehmen und bei $2-8^{\circ}\text{C}$ kühl aufbewahren. NICHT EINFRIEREN. Wenn die Reagenzien nicht unmittelbar gebraucht werden, diese wieder verschließen und in den Kühlschrank zurückstellen. Dabei darauf achten, daß die farbcodierten Verschlüßkappen nicht vertauscht werden.

PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Bezüglich Einzelheiten der Probenentnahme und Umgang mit den Proben sind einschlägige Lehrbücher zu konsultieren. Die Proben sollten möglichst bald getestet werden. Ist jedoch ein sofortiges Testen nicht möglich, kann die Probe bei $2-8^{\circ}\text{C}$ gekühlt (bis zu 48 Stunden lang) oder bei -20°C tiefgeköhlt aufbewahrt werden.

Vor dem Test und auch vor der Lagerung muß das Serum vom Blut getrennt werden.

PROBENVORBEHANDLUNG

Die effektivste Methode der Probenbehandlung ist die Verwendung bedeckter Glas-Teströhrchen (Borsilikat) in einem Wasserbad mit 100°C (kochendem) Wasser. Man kann die Reagenzgläser zwar auch in einen Reaktionsblock stellen, aber aufgrund von Unterschieden im Reagenzglasdurchmesser und in der Probenmenge ist die Durchwärmung der Probe dabei unter Umständen nicht so gleichmäßig.

VERFAHREN

Testbereich: Proben und Testkomponenten sollten bei Durchführung des Tests alle Raumtemperatur ($15-30^{\circ}\text{C}$) haben.

Mittelgelieferte Materialien: Alle Materialien, wie unter „Reagenzien“ aufgeführt, Arbeitsstation und übliche Laborgeräte und -utensilien.

Benötigte, jedoch nicht mittelgelieferte Materialien: BD Directigen-Meningitis-Combo-Testkarten, BD Directigen-Probenpufferlösung, Rotator für 100 ± 2 U/min, Verdunstungsschutzdeckel, Mikropipette für 50 µL Abgabe, Pipettenspitzen. } (s. "Lieferbare Produkte")

Ebenfalls benötigt werden die erforderlichen Geräte und Utensilien für Präparation, Lagerung und Verarbeitung von Rückenmarksflüssigkeit, Serum- und Urinproben.

Probenvorbereitung (Rückenmarksflüssigkeit):

1. Proben 3 Minuten lang bei 100°C erhitzen (z.B. im Wasserbad oder in einem Reaktionsblock) und dann vor dem Weiterbearbeiten auf Raumtemperatur abkühlen lassen.
2. Trübe Proben der Rückenmarksflüssigkeit zwischen Erhitzung und Test 10 Minuten lang bei 1400 g zentrifugieren. Getestet wird dann der Flüssigkeitsüberstand.
3. Proben wie im Abschnitt „Testdurchführung“ beschrieben testen.

Probenvorbereitung (Serum):

1. Serumproben von mindestens 0,6 mL im Verhältnis 1:1 mit BD Directigen-Probenpuffer verdünnen und mischen.
2. Proben 5 Minuten lang bei 100°C erhitzen (z.B. im Wasserbad oder in einem Reaktionsblock) und dann vor dem Weiterbearbeiten auf Raumtemperatur abkühlen lassen.
3. Ausgefallene Proteingerinnel mit einem Holzstäbchen ablösen und entfernen, dann etwa fünf Sekunden kräftig mischen (Vortex).
4. 15 Minuten lang bei mindestens 1400 g zentrifugieren.
5. Überstand wie im Abschnitt „Testdurchführung“ beschrieben testen.

Probenvorbereitung (nicht konzentrierter Urin):

1. Urinproben von mindestens 0,4 mL im Verhältnis 1:1 mit BD Directigen-Probenpuffer verdünnen und mischen.
2. Proben 5 Minuten lang bei 100°C erhitzen (z.B. im Wasserbad oder in einem Reaktionsblock) und dann vor dem Weiterbearbeiten auf Raumtemperatur abkühlen lassen.
3. 10 Minuten lang bei mindestens 1400 g zentrifugieren.
4. Überstand wie im Abschnitt „Testdurchführung“ beschrieben testen.

Probenvorbereitung (konzentrierter Urin):

1. Trübe oder Schwebstoffe enthaltende Urinproben vor dem Konzentrieren 10 Minuten lang bei 1400 g zentrifugieren.
2. Urinproben mit einem Minicon-B-15-Konzentrator (Amicon Corporation, Danvers, USA) auf das 25-fache konzentrieren.
3. Mindestens 200 µL Urinkonzentrat im Verhältnis 1:1 mit BD Directigen-Probenpuffer verdünnen und mischen.

4. Proben 5 Minuten lang bei 100 °C erhitzen (z.B. im Wasserbad oder in einem Reaktionsblock) und dann vor dem Weiterbearbeiten auf Raumtemperatur abkühlen lassen.
5. 10 Minuten lang bei mindestens 1400 g zentrifugieren.
6. Überstand wie im Abschnitt „Testdurchführung“ beschrieben testen.

Vorbereitung zur Bestätigung von durch Kultivierung erhaltenen Kolonien:

1. Auf der Agaroberfläche vermutete Kolonien, die hinsichtlich Morphologie und Gramfärbungsverhalten für das Testen mit BD Directigen-Meningitis-Latex-Reagenzien geeignet sind, ausfindig machen. Die Kolonien sollten aus Kulturen sein, die nicht älter als 18–24 Stunden sind. **Hinweis:** Vor dem Testen sollte unbedingt eine Gramfärbung durchgeführt werden, damit sichergestellt ist, daß ein Testen der Mikroorganismen mit den BD Directigen-Meningitis-Latex-Reagenzien auch wirklich sinnvoll ist.
2. 0,5 mL (etwa 10 Tropfen) Kontrolle – (negativ) in ein kleines Reagenzglas aus Borosilikat-Glas (10 × 75 mm) geben.
3. Mehrere (2–3) isolierte Kolonien ähnlicher Morphologie mit einer sterilen Schlinge aus der Originalkultur oder einer Subkultur entnehmen und in dem erwähnten Reagenzglas suspendieren, so daß die Suspension dem Trübungsstandard 1 nach McFarland entspricht. **Hinweis:** Eine zu starke Inokulierung ergibt eine zu schwere Suspension und damit fehlerhafte Resultate.
4. Suspension 3 Minuten lang bei 100 °C erhitzen (z.B. im Wasserbad oder in einem Reaktionsblock) und dann vor dem Weiterverwenden auf Raumtemperatur abkühlen lassen.
5. 10 Minuten lang bei mindestens 1400 g zentrifugieren.
6. Überstand wie unter „Testdurchführung“ beschrieben testen. **Hinweis:** Anweisungen für den Fall, daß atypisches Agglutinationsverhalten beobachtet wird, sind dem Abschnitt „Verfahrensbeschränkungen“ zu entnehmen.

Qualitätssicherung durch den Anwender: Kontrolle + (positiv) und Kontrolle – (negativ) sollten parallel zu jedem Test mitgetestet werden (siehe Schritt 1 unter „Testdurchführung“).

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten CLSI-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

Testdurchführung (Rückenmarksflüssigkeit, Serum, Urin, konzentrierter Urin, Bestätigung von Kolonien):

Reagenzien aus dem Kühlschrank entnehmen und Reagenztray in den Einschub der Arbeitsstation für das Kit einschieben.

Testen einer Probe mit Reagenzien 1–2:

Schlagen Sie bitte die Illustrationen auf der Seite 22 nach: Darstellung des Verfahrens.

Die Meningitis-Combo-Testkarte oder -Testplatte können zum Testen von Proben verwendet werden. Wenn Sie die Meningitis-Combo-Testkarte für mehr als eine Probe verwenden, kennzeichnen Sie die Felder entsprechend. Vor Verwendung eines Objektträgers diesen mit einem sauberen, fusselfreien Tuch gründlich abwischen.

1. Einen Tropfen **Kontrolle +** auf die Felder „+“ der Spalten NmC/W und NmA/Y geben. Einen Tropfen **Kontrolle –** auf die Felder „–“ der Spalten NmC/W und NmA/Y geben.
2. Mit der Mikropipette 50 µL der Probe auf die Felder der Reihe S in der Spalte NmC/W und NmA/Y und Feld A geben.
3. Reagenzfläschchen an der Kappe festhalten und kräftig schütteln (aber nicht auf den Kopf stellen), um das Reagenz gründlich zu mischen. Vor dem Entfernen der Kappe vorsichtig mit dem Boden auf die Tischplatte aufstoßen, damit kein Latex mehr an der Spitze anhaftet.
4. Einen Tropfen **Reagenz A** in Feld A geben.
5. Einen Tropfen **Reagenz 1** auf die Felder in „S“, „+“ und „–“ in der Spalte NmC/W geben. Einen Tropfen **Reagenz 2** auf die Felder in „S“, „+“ und „–“ in der Spalte NmA/Y geben.
6. Proben und Latex-Reagenzien auf allen Testfeldern mit einem Kunststoff-Rührstäbchen verrühren, und zwar immer ein Testfeld mit dem einen Ende und das nächste Testfeld mit dem anderen Ende des Rührstäbchens. Rührstäbchen entsorgen.
7. Testkarte oder Testplatte (Glas) auf einen mechanischen Rotator stellen und 10 min bei einer Geschwindigkeit von 100 ± 2 U/min rotieren lassen. Einen befeuchteten Deckel als Schutz vor Verdunstung auflegen.
8. Nach genau 10 min Testergebnis makroskopisch unter einer leuchtstarken Glühlampenlampe ablesen.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

Zuerst das Ergebnis der **Kontrolle +** und **Kontrolle –** ablesen.

Die **Kontrolle +** sollte innerhalb von 10 Minuten zu einer starken Agglutination führen. Die **Kontrolle –** sollte zu keiner Agglutination führen.

Im Falle einer Agglutination in einem der Felder mit **Reagenz A** oder **Kontrolle –** (negativ) ist das Ergebnis nicht zu interpretieren.

Patientenergebnisse ablesen:

Positive Reaktion: Sollte Agglutination aufweisen. Jegliche sichtbare Agglutination in einem der Antikörper-Latex-Reagenzien zeigt das entsprechende Antigen in der Probe an. *Bei einer Agglutination in zwei oder mehr Latex-Reagenzien oder in dem entsprechenden BD Directigen-Reagenz A ist das Ergebnis nicht zu interpretieren.*

Negative Reaktion: Keine Agglutination.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Latex-Agglutinationstests sind nicht als Ersatz für eine Bakterienkultur gedacht. Eine Bestätigung der Diagnose „bakterielle Meningitis“ ist nur durch entsprechende Kultivierung möglich, die routinemäßig durchgeführt werden sollte.

Bei Proben mit extrem niedrigem Antigengehalt, beispielsweise in einem Frühstadium der Infektion, können negative Ergebnisse auftreten. Auch bei Proben mit massivem Antigenüberschuß kann andererseits durch das Prozone-Phänomen ein fälschlicherweise negatives Ergebnis zu verzeichnen sein. Das Prozone-Phänomen ist noch nicht intensiv erforscht, wurde bisher aber nur in künstlich mit sehr hohen Antigenkonzentrationen versehenen Proben beobachtet und nicht bei klinischen Proben.

Dieser Test dient zum qualitativen Nachweis von Antigenen gegen *N. meningitidis* Gruppe A, C, Y oder W135 in Rückenmarksflüssigkeit, Serum oder Urin. Außerdem kann das Testkit für vermutete Kolonien von *N. meningitidis* Gruppe A/Y oder C/W135 verwendet werden. Das Verhalten bei anderen Probenarten wurde nicht untersucht. Der BD Directigen-*Neisseria meningitidis*-Test kann nicht in Verbindung mit bluthaltigen Kultivierungsmedien verwendet werden.

Ebenfalls sind Kreuzreaktionen des *N. meningitidis*-Reagenzes Gruppe C und W135 in Anwesenheit von *Escherichia coli* K92 bekannt. Weitere Kreuzreaktionen, nicht interpretierbare sowie falsch-positive Ergebnisse können durch eine richtige Probenvorbereitung (siehe die Abschnitte „Probenvorbereitung“ und „Probenvorbereitung“) minimiert oder vermieden werden.

Nicht vorbehandeltes Serum und Urin kann zu nicht interpretierbaren Ergebnissen führen und sollte gemäß Abschnitt „Probenvorbereitung“ behandelt werden. Proben von Rückenmarksflüssigkeit oder behandeltem Urin, die eine Trübung zeigen, zwischen Erhitzen und Testen 10 Minuten lang bei 1400 g zentrifugieren. Getestet wird dann der Flüssigkeitsüberstand.

Laut Abschnitt „Probenvorbereitung“ vorbehandelte Urinproben, die nicht interpretierbar oder vermutlich falsch-positive Ergebnisse aufweisen, können mit einem MILLIPORE-Millex-HA-Filter 0,45 µm (SLHA-0250S) gefiltert und mit den Latex-Reagenzien und dem entsprechenden Kontroll-Latex erneut getestet werden.

Bei Kolonie-Bestätigungsproben mit nicht interpretierbaren Resultaten oder atypischen Agglutinationsreaktionen kann eine Verdünnung des Überstandes mit dem Kontrollreagenz – (negativ) im Verhältnis 1:10 erforderlich sein. Bakteriensuspensionen mit einer Trübung von mehr als dem McFarland-Trübungsstandard 1 sind sorgfältig zu vermeiden.

ERWARTETE WERTE

Haemophilus influenzae Typ B, *Neisseria meningitidis* und *Streptococcus pneumoniae* wurden als diejenigen drei Pathogene benannt, die für etwa 84 % aller Fälle bakterieller Meningitis verantwortlich sind.³

LEISTUNGSMERKMALE

Empfindlichkeit: Die BD Directigen-Latex-Reagenzien für *N. meningitidis* Gruppe A und Y, C und W135 wurden hinsichtlich der Nachweisfähigkeit von teilweise purifiziertem *N. meningitidis*-Gruppen-Polysaccharid-Antigen in Rückenmarksflüssigkeit, Serum und Urin mit einer CIE-Methode verglichen. Für den CIE-Test wurden handelsübliche Antiseren verwendet, die jeweils für eine der *N. meningitidis*-Gruppen spezifisch sind. Die BD Directigen-Latex-Reagenzien für *N. meningitidis* waren beim Nachweis von Antigenen der *N. meningitidis*-Gruppen mindestens so empfindlich wie eine CIE-Methode.

Es wurde eine Reihe retrospektiver klinischer Bewertungen der BD Directigen-Latex-Reagenzien für *N. meningitidis* Gruppe A und Y, C und W135 mit ursprünglich von Patienten mit durch Kultivierung, eine CIE-Methode oder mit einem handelsüblichen Latex-Reagenz positiv nachgewiesener Infektion mit *N. meningitidis* Gruppe A, C oder W135 stammenden Proben durchgeführt. Die in **Tabelle 1** (siehe Seite 20) präsentierten Daten sind eine Zusammenfassung dieser Bewertungen. In einigen Fällen wurde die CIE-Methode nicht in die Bewertung einbezogen.

Spezifität: In mehreren multizentrischen klinischen Studien wurde die Spezifität der BD Directigen-Latex-Reagenzien für *N. meningitidis* Gruppe A und Y, C und W135 durch Testen von retrospektiver und prospektiver Rückenmarksflüssigkeit, Serum, Urin und konzentriertem Urin ermittelt (**Tabelle 2, siehe Seite 21**). Die Latex-Reagenzien wurden gegen kulturnegative wie gegen nicht registrierte kulturpositive Proben getestet. Die Daten weisen auf einen Spezifitätsbereich von 97–100 % je nach Latex-Reagenz und getesteter Probe hin.

Bestätigung von Kolonien: Die Latex-Reagenzien wurden mit Suspensionen isolierter Kolonien getestet, die den morphologischen Eigenschaften der interessierenden Mikroorganismen entsprechen. Die Leistungsmerkmale sind in **Tabelle 3** (siehe Seite 21) aufgeführt.

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr.	Beschreibung
250160	BD Directigen <i>Neisseria meningitidis</i> Test, 30 Tests.
255460	BD Directigen Group B Strep Test, 30 Tests.
252260	BD Directigen <i>H. influenzae</i> type b Test, 30 Tests.
255560	BD Directigen <i>Neisseria meningitidis</i> Group B und <i>E. coli</i> K1 Test, 30 Tests.
251960	BD Directigen <i>S. pneumoniae</i> Test, 30 Tests.
252360	BD Directigen Meningitis Combo Test, 30 Tests.
252480	BD Directigen Meningitis Combo Test Card (Einmalgebrauch), Packung mit 30 Testkarten.
256391	BD Directigen Specimen Buffer Solution (Probenpufferlösung), 8 mL.
278051	BD Macro-Vue Card Test Rotator (Kartentest-Rotator), mit Verdunstungsschutzdeckel.

LITERATUR: S. „REFERENCES“ IM ENGLISCHEN TEXT.

Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung in Verbindung oder besuchen Sie www.bd.com.



BD Directigen *Neisseria meningitidis* Test

Per la rilevazione di *Neisseria meningitidis* gruppi A, C, Y e W135

Italiano

USO PREVISTO

Il test BD Directigen *N. meningitidis* gruppi A, C, Y e W135 è un test presuntivo di agglutinazione al latex su vetrino per la rilevazione qualitativa diretta di antigeni di *Neisseria meningitidis* gruppi A, C, Y e W135 nel liquido cerebrospinale (LCS), nel siero o nell'urina. Il kit di test consente inoltre di confermare e definire il sierogruppo di sospette colonie di *N. meningitidis* gruppi A/Y o C/W135. Quando il campione contenente uno di questi antigeni batterici viene fatto reagire con microsfere di latex rivestite con i rispettivi anticorpi, si verifica una agglutinazione visibile.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

La diagnosi di batteriemia e di meningite può essere particolarmente difficile, soprattutto nei bambini. La percentuale di bambini visitati da un medico e sottoposti a terapia antibiotica prima che la meningite sia diagnosticata, raggiunge il 55%.¹ La rilevazione di antigeni batterici nel liquido cerebrospinale è un metodo rapido e utile a fini di microbiologia diagnostica e può essere considerato come il singolo test più importante nei casi di meningite parzialmente trattata, in quanto la colorazione di Gram e la coltura possono risultare negative. La rilevazione di un antigene specifico costituisce un riscontro clinico significativo e un valido ausilio per la scelta della terapia antibiotica.²

È stato documentato che *Haemophilus influenzae* tipo b, *Neisseria meningitidis* e *Streptococcus pneumoniae* rappresentano gli agenti eziologici responsabili di circa l'84% dei casi di meningite batterica.³

I metodi immunologici per la rilevazione degli esoantigeni caratteristici dei microrganismi patogeni nei fluidi biologici (liquido cerebrospinale, siero, urina) dei pazienti, sono generalmente più rapidi delle procedure tradizionali come le colture. Queste tecniche comprendono la controimmunolettroforesi (CIE) e l'agglutinazione al latex.⁴⁻⁷ La procedura di agglutinazione al latex si è dimostrata più rapida e sensibile della CIE nella rilevazione di antigeni purificati.⁸⁻⁹

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Anticorpi specifici si legano alla superficie di microsfere di latex. L'aggregazione delle particelle di latex cresce in maniera sufficiente da consentire una rapida visualizzazione di agglutinazione positiva in presenza di antigeni specifici. Questi particolari antigeni polisaccaridici solubili si accumulano nel liquido cerebrospinale, nel siero o nell'urina a seguito di infezioni da *N. meningitidis* gruppi A, B, C, Y e W135, *H. influenzae* tipo b, *S. pneumoniae* e streptococco di gruppo B. Questi antigeni possono essere rilevati con il kit BD Directigen Meningitis Combo Test o con altri kit di test BD Directigen (vedere "Disponibilità").

REAGENTI

BD Directigen *N. meningitidis* gruppi A, C, Y e W135

Reagente 1	(1,0 mL),	Anti- <i>N. meningitidis</i> gruppi C e W135, sospensione di latex rivestito di anticorpi di coniglio, con sodio azide allo 0,2% (conservante),
Reagente 2	(1,0 mL),	Anti- <i>N. meningitidis</i> gruppi A e Y, sospensione di latex rivestito di anticorpi policlonali di coniglio, con sodio azide allo 0,2% (conservante),
Reagente A	(0,5 mL),	Latex di controllo, sospensione di latex rivestito di immunoglobuline di coniglio, con sodio azide allo 0,2% (conservante),
Controllo +	(3,0 mL),	Controllo antigene positivo polivalente, antigeni di <i>N. meningitidis</i> gruppi A/Y e C/W135, <i>H. influenzae</i> tipo b, <i>S. pneumoniae</i> e streptococco di gruppo B, con sodio azide allo 0,2% (conservante),
Controllo -	(3,0 mL),	Controllo antigene negativo, soluzione fisiologica tamponata con glicina, con sodio azide allo 0,2% (conservante).

ATTENZIONE



H302 Nocivo se ingerito.

P264 Lavarsi accuratamente dopo l'uso. **P270** Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso. **P301+P312** IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. **P330** Sciacquare la bocca. **P501** Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alle normative locali/regionali/nazionali/internazionali.

Precauzioni – Per uso diagnostico *in vitro*.

Avvertenza – I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e i virus dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle linee guida dell'istituto e alle "Precauzioni standard".¹⁰⁻¹³ Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

Reagenti – Non usare oltre la data di scadenza. Una volta estratti i reagenti dal frigorifero, attendere che si portino a temperatura ambiente (15–30 °C) prima dell'uso.

Per garantire una dispensazione appropriata delle gocce, tenere i flaconi dei reagenti in posizione verticale e dispensare lasciando cadere una goccia alla volta.

Avvertenza – I reagenti contengono sodio azide, sostanza altamente tossica se inalata, ingerita e in caso di contatto con la pelle. A contatto con acidi, la sodio azide libera gas estremamente tossici. In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente e abbondantemente con acqua. La sodio azide può reagire con il piombo e il rame delle tubature, formando azidi metalliche altamente esplosive. Eliminare la sodio azide facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi per impedire l'accumulo di azidi.

Controlli – Non usare il kit se il **Controllo +** e il **Controllo -** non danno i risultati appropriati.

Cartoncini di reazione – Per ottenere reazioni corrette, i cartoncini devono essere piatti. Se necessario, appiattire i cartoncini ripiegandoli in senso opposto a quello di deformazione. Prestare attenzione a non lasciare impronte delle dita sulle aree di test del cartoncino, perché così facendo si possono formare depositi oleosi che a loro volta alterano i risultati del test. Usare ciascun cartoncino una sola volta e gettarlo. Conservare i cartoncini nella confezione originale in luogo asciutto a temperatura ambiente. Durante la distribuzione delle sospensioni all'interno dell'area di test, evitare di graffiare la superficie del cartoncino con il miscelatore di plastica. Se il campione non si distribuisce al di fuori del perimetro dell'area di test, usare un'altra area di test del cartoncino.

Vetrino – Se si usa il vetrino, disinfettarlo dopo ogni utilizzo e lavarlo prima di usarlo nuovamente. Si consiglia un disinfettante fenolico. Prima di riutilizzare il vetrino, sciacquarlo accuratamente per eliminare completamente tutti i detergenti e/o disinfettanti.

Rotazione – Si consiglia una velocità di rotazione meccanica di 100 ± 2 giri/min, sebbene velocità comprese tra 95 e 110 giri/min non influenzino significativamente i risultati. Il rotatore deve circoscrivere un cerchio di circa 2 cm di diametro sul piano orizzontale. Usare un coperchio con umidificatore per evitare l'essiccamento dei campioni durante la rotazione.

Conservazione dei reagenti – Al ricevimento, estrarre i reagenti dalla confezione di imballaggio e conservarli a 2–8 °C. NON CONGELARE. Richiudere i flaconi dei reagenti e conservarli in frigorifero, facendo attenzione a non scambiare i tappi codificati in base ai colori.

PRELIEVO E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

Per informazioni dettagliate sulle procedure di prelievo e trattamento dei campioni, consultare la documentazione appropriata. Testare i campioni non appena possibile; i campioni che non possono essere testati immediatamente devono essere conservati a 2–8 °C (fino a 48 ore), oppure a -20 °C.

Prima di testare e conservare il siero, separarlo dal sangue intero.

PRETRATTAMENTO DEI CAMPIONI

L'uso di provette di vetro coperte (borosilicato) in bagnomaria a 100 °C (ebollizione) è il sistema più efficace di trattamento dei campioni. Per il pretrattamento delle provette di vetro è inoltre possibile usare un termoblocco; in tale caso, si possono tuttavia riscontrare maggiori variazioni nel riscaldamento dei campioni dovute a differenze nelle dimensioni delle provette e nel volume dei campioni.

PROCEDURE

Prima dell'uso, l'area di test, i reagenti, i campioni da testare e tutti i componenti da utilizzare nel test devono essere a temperatura ambiente (15–30 °C).

Materiali forniti – Tutti i materiali elencati alla voce "Reagenti", workstation e accessori.

Materiali necessari ma non forniti – Cartoncini per il test BD Directigen Meningitis Combo, soluzione tampone BD Directigen, rotatore (100 ± 2 giri/min), coperchio umidificatore, micropipetta da 50 µL, puntali per pipette. } (vedere "Disponibilità")

Sono inoltre necessarie la strumentazione e l'attrezzatura di laboratorio utilizzate per la preparazione, la conservazione e la manipolazione dei campioni di liquido cerebrospinale, siero e urina.

Preparazione dei campioni (liquido cerebrospinale)

1. Riscaldare i campioni per 3 min a 100 °C (in bagnomaria o termoblocco) e lasciarli raffreddare a temperatura ambiente prima dell'uso.
2. I campioni di liquido cerebrospinale che evidenziano torbidità, devono essere centrifugati per 10 min a 1400 x g dopo il riscaldamento e prima del test. Usare il sovratanante come campione da testare.
3. Testare i campioni come descritto in "Procedura del test".

Preparazione dei campioni (siero)

1. Diluire 1:1 i campioni di siero di almeno 0,6 mL con il tampone BD Directigen e mescolare.
2. Riscaldare i campioni per 5 min a 100 °C (in bagnomaria o termoblocco) e lasciarli raffreddare a temperatura ambiente prima dell'uso.
3. Con un bastoncino di legno, frammentare il coagulo di proteine formatosi e vortexare energicamente (per circa cinque sec).
4. Centrifugare ad almeno 1400 x g per 15 min.
5. Testare il sovratanante come descritto in "Procedura del test".

Preparazione dei campioni (urina non concentrata)

1. Diluire 1:1 i campioni di urina di almeno 0,4 mL con tampone BD Directigen e mescolare.
2. Riscaldare i campioni per 5 min a 100 °C (in bagnomaria o termoblocco) e lasciarli raffreddare a temperatura ambiente prima dell'uso.
3. Centrifugare ad almeno 1400 x g per 10 min.
4. Testare il sovratanante come descritto in "Procedura del test".

Preparazione dei campioni (urina concentrata)

1. Prima di concentrare campioni di urina torbidi o contenenti particolati, centrifugarli per 10 min a 1400 x g.
2. I campioni di urina possono essere concentrati 25 volte usando un concentratore Minicon B-15 (Amicon Corporation, Danvers, Massachusetts).
3. Diluire 1:1 almeno 200 µL di urina concentrata con tampone BD Directigen e mescolare.
4. Riscaldare i campioni per 5 min a 100 °C (in bagnomaria o termoblocco) e lasciarli raffreddare a temperatura ambiente prima dell'uso.
5. Centrifugare ad almeno 1400 x g per 10 min.
6. Testare il sovratanante come descritto in "Procedura del test".

Preparazione per la conferma di colonie da coltura

1. Sulla superficie dell'agar contenente colture di 18–24 h, individuare colonie sospette conformi alle caratteristiche morfologiche e di colorazione Gram proprie dei microrganismi idonei al test con i reagenti al latex BD Directigen Meningitis. **Nota** - Prima del test, eseguire una colorazione di Gram per garantire che i microrganismi siano adatti al test con i reagenti al latex BD Directigen Meningitis.
2. In una provetta di vetro piccola (10 x 75 mm o equivalente), pipettare 0,5 mL (circa 10 gocce) di reagente di controllo negativo.
3. Usando un'ansa sterile, selezionare dalla piastra originale o di subcoltura alcune (2–3) colonie isolate morfologicamente simili e sospenderle nella provetta suddetta per ottenere una sospensione uguale a uno standard di torbidità McFarland n.1. **Nota** - Un inoculo eccessivo determina una sospensione troppo pesante che a sua volta può dare luogo a risultati inattendibili.
4. Riscaldare la sospensione per 3 min a 100 °C (in bagnomaria o termoblocco) e lasciarla raffreddare a temperatura ambiente prima del test.
5. Centrifugare ad almeno 1400 x g per 10 min.
6. Testare il sovratanante come descritto nella sezione "Procedura del test". **Nota** - Se si riscontrano modalità di agglutinazione atipiche, vedere "Limitazioni della procedura".

Controllo di qualità a cura dell'utente – In ogni batch di campioni, includere il **Controllo +** e il **Controllo –** come descritto al punto 1 della sezione "Procedura del test".

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI in merito.

Procedura del test (liquido cerebrospinale, urina, urina concentrata e conferma di colonie)

Estrarre i reagenti dal frigorifero e inserire il vassoio dei reagenti nell'apposita sede nella workstation.

Per testare un campione con i reagenti 1–2, rispettare la procedura seguente.

Far riferimento alle illustrazioni di pagina 22: Schema di Procedura.

Usare il cartoncino o il vetrino del test Meningitis Combo per l'analisi dei campioni. Se il cartoncino Meningitis Combo è usato per l'analisi di più di un campione, contrassegnare i cerchi in modo appropriato. Prima di usare il vetrino, pulirlo accuratamente con un panno che non lasci residui.

1. Dispensare una goccia di **Controllo +** sui cerchi "+" nelle file NmC/W e nelle colonne NmA/Y. Dispensare una goccia di **Controllo –** sui cerchi "–" nelle file NmC/W e nelle colonne NmA/Y.
2. Con una micropipetta, dispensare 50 µL di campione da testare nel(nei) cerchio(cerchi) della fila S nelle colonne NmC/W e NmA/Y e cerchio A.
3. Tenendo il flacone dispensatore per il tappo, agitare energicamente (senza capovolgere) per mescolare accuratamente ogni reagente. Prima di togliere il tappo al flacone, picchiettare delicatamente la base su un ripiano per garantire che nella punta non rimanga alcuna goccia di latex.
4. Dispensare una goccia di **Reagente A** nel cerchio A.
5. Dispensare una goccia di **Reagente 1** sui cerchi in corrispondenza di S, "+" e "–" nella colonna NmC/W. Dispensare una goccia di **Reagente 2** sui cerchi in corrispondenza di S, "+" e "–" nella colonna NmA/Y.
6. Mescolare i campioni e i reagenti al latex in ogni cerchio con un agitatore di plastica, usando alternativamente un'estremità per il primo cerchio e poi quella opposta per il cerchio successivo. Gettare l'agitatore.
7. Porre il cartoncino o vetrino su un rotatore meccanico e farlo ruotare a 100 ± 2 giri/min per 10 min. Usare un coperchio umidificatore per impedire l'evaporazione.
8. Al termine dei 10 minuti, eseguire immediatamente una lettura macroscopica dei risultati sotto una lampada a incandescenza ad alta intensità.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Registrare innanzi tutto i risultati del **Controllo +** e **Controllo –**.

Il **Controllo +** deve evidenziare una forte agglutinazione entro 10 min, mentre il **Controllo –** non deve mostrare alcuna agglutinazione. Un'eventuale agglutinazione in uno dei cerchi contenenti il **Reagente A** o il **Controllo –** non consente l'interpretazione della reazione.

Registrare i risultati del test.

Test Positivo – L'agglutinazione è visibile. La formazione di qualsiasi grado di agglutinazione in uno dei reagenti al latex indica la presenza dell'antigene corrispondente. *La presenza di agglutinazione in due o più reagenti al latex o nel corrispondente Reagente A BD Directigen non consente l'interpretazione della reazione.*

Test Negativo – Non è visibile alcuna agglutinazione.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

I test di agglutinazione al latex non sono da considerare come sostitutivi delle colture batteriche. La diagnosi di conferma di meningite batterica è possibile soltanto con le metodiche culturali appropriate e deve essere condotta di routine.

I campioni con livelli di antigene estremamente bassi, come per esempio nella fase iniziale dell'infezione, possono determinare risultati negativi. Per contro, i campioni con concentrazioni estremamente elevate di antigene possono dare luogo a fenomeni di prozona e determinare risultati erroneamente negativi. Seppure non studiati in modo approfondito, i fenomeni di prozona sono stati osservati solo in campioni seminati con livelli estremamente elevati di antigene e non in campioni clinici.

Questa analisi è destinata alla rilevazione qualitativa di antigeni di *N. meningitidis* gruppi A, C, Y o W135 in campioni di LCS, siero o urina. Il kit di test può inoltre essere usato in caso di sospette colonie di *N. meningitidis* gruppi A/Y o C/W135. Non sono state accertate le performance con altre tipologie di campione. Il test BD Directigen *Neisseria meningitidis* non può essere usato con terreni per emocoltura.

È noto che *N. meningitidis* gruppi C e W135 cross-reagisce in presenza di *Escherichia coli* K92. *Una corretta preparazione dei campioni (vedere "Pretrattamento dei campioni" e "Procedura - Preparazione dei campioni") riduce o elimina la possibilità di altri tipi di reazioni crociate, risultati non interpretabili e falsi positivi.*

Il siero e le urine non trattate possono dare risultati non interpretabili con i reagenti al latex e devono pertanto essere trattati come descritto in "Procedura-Preparazione dei campioni". I campioni di LCS o di urina trattati che evidenziano torbidità devono essere centrifugati per 10 min a 1400 x g dopo il riscaldamento e prima del test. Usare il sovranatante come campione da testare.

I campioni di urina trattati conformemente a "Procedura-Preparazione dei campioni" che danno risultati non interpretabili o sospetti falsi positivi, possono essere filtrati usando un filtro MILLIPORE Millex-HA 0,45 µm (n. SLHA-0250S) e ritestati con i latex reattivi e i latex di controllo corrispondenti.

I campioni per la conferma delle colonie che producono reazioni di agglutinazione atipiche o non interpretabili, possono richiedere una diluizione 1:10 del sovranatante con il reagente di Controllo –. Prestare attenzione a evitare sospensioni batteriche superiori a uno standard di torbidità McFarland n.1.

VALORI ATTESI

È stato documentato che *Haemophilus influenzae* tipo b, *Neisseria meningitidis* e *Streptococcus pneumoniae* rappresentano gli agenti eziologici responsabili di circa l'84% dei casi di meningite batterica.³

PERFORMANCE

Sensibilità – I reagenti al latex BD Directigen *N. meningitidis* gruppi A e Y, C e W135 sono stati comparati con controimmunolettroforesi per quanto concerne la capacità di rilevare l'antigene polisaccaridico parzialmente purificato gruppo-specifico per *N. meningitidis* nel liquido cerebrospinale, nel siero, nell'urina e nell'urina concentrata. Nel test mediante controimmunolettroforesi sono stati usati antisieri in commercio, specifici per ciascun gruppo di *N. meningitidis*. I reagenti al latex BD Directigen *N. meningitidis* hanno evidenziato una sensibilità uguale o superiore a quella della controimmunolettroforesi nella rilevazione di antigeni gruppo-specifici per *N. meningitidis*.

Sono state condotte valutazioni cliniche retrospettive dei reagenti al latex *N. meningitidis* A e Y, C e W135 usando campioni originariamente prelevati da pazienti con casi confermati positivi - mediante coltura, controimmunolettroforesi o reagente al latex in commercio - di infezione da *N. meningitidis* gruppi A, C, e W135. La **Tabella 1 (pagina 20)** presenta i dati cumulativi di queste valutazioni. In certi casi, il test mediante CIE non è stato incluso in alcune valutazioni.

Specificità – La specificità dei reagenti al latex BD Directigen *N. meningitidis* gruppi A e Y, C e W135 è stata determinata testando campioni retrospettivi e prospettici di LCS, siero e urina nel corso di valutazioni cliniche multicentriche (vedi **Tabella 2 pag. 21**). I reagenti al latex sono stati testati contro campioni da coltura negativa e campioni da coltura positiva, non identificati. I dati indicano range di specificità del 97–100% a seconda del reagente al latex e del campione testati.

Conferma delle colonie – I reagenti al latex sono stati testati usando sospensioni di colonie isolate conformi alle caratteristiche morfologiche dei microrganismi. Le performance sono riportate nella **Tabella 3 (vedi pagina 21)**.

DISPONIBILITÀ

N° di cat.	Descrizione
250160	BD Directigen <i>Neisseria meningitidis</i> Test, 30 test.
255460	BD Directigen Group B Strep Test, 30 test.
252260	BD Directigen <i>H. influenzae</i> type b Test, 30 test.
255560	BD Directigen <i>Neisseria meningitidis</i> Group B e <i>E. coli</i> K1 Test, 30 test.
251960	BD Directigen <i>S. pneumoniae</i> Test, 30 test.
252360	BD Directigen Meningitis Combo Test, 30 test.
252480	BD Directigen Meningitis Combo Test Card (monouso), scatola da 30.
256391	BD Directigen Specimen Buffer Solution (soluzione tampone per campioni), 8 mL.
278051	BD Macro-View Card Test Rotator (rotatore per cartoncini), con coperchio umidificatore.

BIBLIOGRAFIA: vedere “references” nel testo inglese.

Assistenza e supporto tecnico: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito www.bd.com.

BD Directigen *Neisseria meningitidis* Test

Para la detección de *Neisseria meningitidis* grupos A, C, Y y W135

Español

USO PREVISTO

La prueba BD Directigen *N. meningitidis* grupos A, C, Y y W135 es una prueba de la presunta aglutinación de látex para la detección cualitativa de antígenos de *Neisseria meningitidis* grupos A, C, Y y W135 directamente en líquido cefalorraquídeo (LCR), el suero o la orina. Además, este kit de prueba proporciona confirmación y permite identificar el serogrupo de presuntas colonias de *N. meningitidis* grupos A/Y o C/W135. Cuando una muestra que contiene cualquiera de estos antígenos bacterianos se hace reaccionar con las partículas de látex recubiertas de sus respectivos anticuerpos, se produce una aglutinación visible.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El diagnóstico de bacteriemia y meningitis, especialmente en los niños pequeños, puede ser difícil. Hasta el 55% de los niños son atendidos por un médico y tratados con antibióticos antes de detectarse la meningitis¹. La detección de antígenos microbianos en el LCR es un método rápido y útil para la microbiología diagnóstica. Puede ser la prueba de mayor importancia en casos de meningitis parcialmente tratadas, puesto que, en estas circunstancias, la tinción de Gram y el cultivo pueden ser negativos. La detección de un antígeno específico es un hallazgo clínicamente significativo y una ayuda valiosa a la hora de seleccionar el tratamiento antimicrobiano².

Haemophilus influenzae tipo b, *Neisseria meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae* se han descrito como los tres agentes responsables de aproximadamente el 84% de los casos de meningitis bacteriana³.

Los métodos inmunológicos para la detección de exoantígenos característicos de microorganismos patógenos en los líquidos del paciente (LCR, suero, orina) son típicamente más rápidos que los métodos tradicionales tales como el cultivo. Estas técnicas son la contraimmunolectroforesis (CIE) y la aglutinación del látex⁴⁻⁷. El procedimiento de aglutinación del látex ha demostrado ser más rápido y sensible que la CIE en la detección de antígeno purificado^{8,9}.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Los anticuerpos específicos se encuentran unidos a la superficie de microesferas de látex. La agregación de las partículas de látex alcanza el tamaño suficiente como para permitir una visualización rápida de una aglutinación positiva en presencia de los antígenos específicos [de los anticuerpos]. Estos antígenos polisacáridos solubles específicos se acumulan en el LCR, suero u orina como resultado de la infección causada por *N. meningitidis* grupos A, B, C, Y y W135, *H. influenzae* tipo b, *S. pneumoniae* y *Streptococcus* del grupo B. Estos antígenos pueden detectarse con el kit BD Directigen Meningitis Combo o con otros kits para pruebas BD Directigen (véase “Disponibilidad”).

REACTIVOS

BD Directigen *N. meningitidis* grupos A, C, Y y W135:

Reactivo 1 (1,0 mL), Anti-*N. meningitidis* grupos C y W135, suspensión de látex recubierto de anticuerpos de conejo, con azida sódica al 0,2% (conservante),

Reactivo 2	(1,0 mL),	Anti- <i>N. meningitidis</i> grupos A e Y, suspensión de látex recubierto de anticuerpos policlonales de conejo, con azida sódica al 0,2% (conservante).
Reactivo A	(0,5 mL),	Látex de control, suspensión de látex revestido de inmunoglobulina de conejo, con azida sódica al 0,2% (conservante).
Control +	(3,0 mL),	Control positivo de antígeno polivalente, antígenos de <i>N. meningitidis</i> grupos A/Y y C/W135, <i>H. influenzae</i> tipo b, <i>S. pneumoniae</i> y <i>Streptococcus</i> del grupo B, con azida sódica al 0,2% (conservante).
Control –	(3,0 mL),	Control negativo de antígeno, solución salina tamponada con glicina, con azida sódica al 0,2% (conservante).

ATENCIÓN



H302 Nocivo en caso de ingestión.

P264 Lavarse concienzudamente tras la manipulación. **P270** No comer, beber ni fumar durante su utilización. **P301+P312** EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar. **P330** Enjuagarse la boca. **P501** Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.

Precauciones: Para uso diagnóstico *in vitro*.

Advertencia: En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales, deben seguirse las "Precauciones estándar"¹⁰⁻¹³ y las directivas del centro. Antes de desecharlos, esterilice en autoclave los recipientes para muestras y cualquier otro material contaminado.

Reactivos: No utilice los reactivos después de su fecha de caducidad. Una vez retirados del frigorífico, permita que los reactivos se calienten hasta la temperatura ambiente (15–30 °C) antes de usarlos.

Para asegurar la dosificación adecuada de las gotas, se debe sostener el frasco dispensador de reactivo en posición vertical y dejar caer las gotas, una por una.

Advertencia: Los reactivos contienen azida sódica, que es sumamente tóxica en caso de inhalación, contacto con la piel e ingestión. El contacto con ácidos libera un gas muy tóxico. En caso de contacto con la piel, lavar inmediatamente con abundante agua. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre, formando azidas metálicas muy explosivas. Al desechar el material, utilizar un gran volumen de agua para evitar el depósito de azidas.

Controles: No utilizar el kit si el **Control +** y el **Control –** no producen los resultados adecuados.

Tarjetas de análisis: Las tarjetas deben ser planas para que las reacciones sean correctas. En caso necesario, aplane las tarjetas doblandolas en la dirección opuesta a aquella en la que se han combado. Deben tomarse precauciones para no dejar huellas de dedos en las áreas de prueba, puesto que esto puede provocar un depósito de grasa con el consiguiente resultado incorrecto de la prueba. Utilice cada tarjeta una sola vez y deséchela. Conserve las tarjetas en su envase original en un área seca a temperatura ambiente. Cuando extienda la muestra dentro de los límites de las áreas de prueba, evite arañar la superficie de la tarjeta con los agitados de plástico. Si la muestra no se extiende hasta el perímetro externo del área de prueba, utilice otra área de prueba de la tarjeta.

Portaobjetos de prueba (vidrio): Si se usa un portaobjetos de vidrio, desinféctelo después de cada utilización y lávelo antes de utilizarlo de nuevo. Se recomienda utilizar un desinfectante fenólico. Cerciórese de que todo el detergente y todo el desinfectante hayan sido eliminados por completo del portaobjetos antes de volver a utilizarlo.

Rotación: La velocidad de rotación mecánica recomendada es de 100 ± 2 rpm, aunque una rotación de 95 a 110 rpm no altera significativamente los resultados obtenidos. El agitador rotativo debe circunscribir aproximadamente un diámetro de 2 cm en el plano horizontal. Debe utilizarse una tapa humidificadora mojada para prevenir la desecación de las muestras durante la rotación.

Almacenamiento de los reactivos: Al recibirlos, retire el envase de cartón que contiene los reactivos y refrigérelos a una temperatura de 2–8 °C. NO CONGELAR. Los reactivos se deben tapar y volver a refrigerar cuando no se estén utilizando, tomando precauciones para no mezclar los tapones, dotados de un código de color.

RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS

Consulte los textos correspondientes para conocer los detalles relativos a los procedimientos de recogida y manipulación de muestras. Las muestras deben analizarse tan pronto como sea posible; no obstante, si la muestra no puede analizarse de inmediato, debe conservarse a 2–8 °C (durante un máximo de 48 h), o a -20 °C.

Debe separarse el suero de la sangre completa antes de la prueba y la conservación.

TRATAMIENTO PRELIMINAR DE LAS MUESTRAS

La manera más eficaz para el tratamiento de las muestras es el uso de tubos de ensayo de vidrio (de borosilicato) con tampón en un baño María a 100 °C (hirviendo). Aunque pueden utilizarse tubos de ensayo de vidrio en un bloque térmico, es posible que se observe una mayor variación en el calentamiento completo de una muestra, debido a las variaciones en el tamaño del tubo y en el volumen de la muestra.

PROCEDIMIENTOS

El área de prueba, todos los reactivos, las muestras para prueba y los componentes de la prueba deben encontrarse a temperatura ambiente (15–30 °C) cuando se utilicen.

Materiales suministrados: Todos los materiales indicados bajo el epígrafe "Reactivos", la estación de trabajo y los accesorios.

Materiales necesarios pero no suministrados: Tarjetas de análisis BD Directigen Meningitis Combo, tampón para muestras BD Directigen, agitador rotativo, 100 ± 2 rpm, tapa humidificadora, micropipeta de 50 µL, puntas de pipeta. } (vea "Disponibilidad")

También es necesario el equipo y material de laboratorio preciso utilizado para la preparación, el almacenamiento y la manipulación de las muestras de LCR, suero y orina.

Preparación de las muestras (LCR):

1. Caliente las muestras durante 3 minutos a 100 °C (p. ej., baño María o bloque térmico) y permita que se enfríen hasta la temperatura ambiente antes de su uso.
2. Las muestras de LCR que presenten turbidez deben centrifugarse tras el calentamiento durante 10 minutos a 1400 x g antes de la prueba. Debe utilizarse como muestra para el análisis el líquido sobrenadante.
3. Analice las muestras tal como se describe en la sección "Procedimiento de análisis".

Preparación de las muestras (suero):

1. Diluya las muestras de suero de al menos 0,6 mL 1:1 con el tampón para muestras BD Directigen y mézclelo.
2. Caliente las muestras durante 5 minutos a 100 °C (p. ej., baño María o bloque térmico) y permita que se enfríen hasta la temperatura ambiente antes de su uso.
3. Utilizando un aplicador de madera, rompa el "coágulo" de proteína formado y agite vigorosamente (aproximadamente 5 segundos).
4. Centrifugue a un mínimo de 1400 x g durante 15 minutos.
5. Analice el líquido sobrenadante tal como se describe en la sección "Procedimiento de análisis".

Preparación de las muestras (orina no concentrada):

1. Diluya las muestras de orina de al menos 0,4 mL 1:1 con el tampón para muestras BD Directigen y mézclelo.
2. Caliente las muestras durante 5 minutos a 100 °C (p. ej., baño María o bloque térmico) y permita que se enfríen hasta la temperatura ambiente antes de su uso.
3. Centrifugue a un mínimo de 1400 x g durante 10 minutos.
4. Analice el líquido sobrenadante tal como se describe en la sección "Procedimiento de análisis".

Preparación de las muestras (orina concentrada):

1. Las muestras de orina que presenten turbidez o contengan partículas de material deben centrifugarse a 1400 x g durante 10 minutos antes de su concentración.
2. Las muestras de orina pueden concentrarse 25 veces con un sistema de concentración Minicon B-15 (Amicon Corporation, Danvers, Massachusetts).
3. Diluya al menos 200 µL de orina concentrada 1:1 con el tampón para muestras BD Directigen y mézclelo.
4. Caliente las muestras durante 5 minutos a 100 °C (p. ej., baño María o bloque térmico) y permita que se enfríen hasta la temperatura ambiente antes de su uso.
5. Centrifugue a un mínimo de 1400 x g durante 10 minutos.
6. Analice el líquido sobrenadante tal como se describe en la sección "Procedimiento de análisis".

Procedimiento para la confirmación de colonias del cultivo:

1. En la superficie del agar de cultivos de 18–24 h, localice las colonias presuntas que satisfacen las características morfológicas y de la tinción de Gram de los organismos que son apropiados para el análisis con los reactivos de látex BD Directigen Meningitis. **Nota:** Debe realizarse una tinción de Gram antes de la prueba con el fin de verificar que los microorganismos son adecuados para su análisis con los reactivos de látex BD Directigen Meningitis.
2. Pipetea 0,5 mL (aproximadamente 10 gotas) de reactivo de control negativo en un tubo de ensayo de vidrio pequeño (10 x 75 mm o equivalente).
3. Seleccione varias colonias aisladas (2–3) de morfología similar a partir de la placa original o de un subcultivo utilizando un asa estéril y suspéndalas en el tubo antes mencionado para lograr una suspensión igual a un estándar de turbidez McFarland N.º 1. **Nota:** Una inoculación excesiva proporcionará una suspensión demasiado densa que puede generar resultados erróneos.
4. Caliente la suspensión durante 3 minutos a 100 °C (p. ej., baño María o bloque térmico) y permita que se enfríe hasta la temperatura ambiente antes de la prueba.
5. Centrifugue a un mínimo de 1400 x g durante 10 minutos.
6. Analice el líquido sobrenadante tal como se describe en la sección "Procedimiento de análisis". **Nota:** Si se observan esquemas atípicos de aglutinación, consulte las "Limitaciones del procedimiento".

Control de calidad del usuario: Incluya pruebas de **Control +** y **Control –** con cada lote de muestras analizadas como se describe en el paso 1, "Procedimiento de análisis".

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

Procedimiento de análisis (LCR, suero, orina, orina concentrada y confirmación de colonias):

Retire los reactivos de su lugar de refrigeración e introduzca la bandeja de reactivos en la ranura ubicada en la estación de trabajo del equipo.

Para analizar una muestra con los reactivos 1–2, use el siguiente procedimiento:

Consulte los esquemas ilustrativos de procedimiento en la página 22.
--

Utilizar la tarjeta de análisis combinado para la meningitis o el portaobjetos de vidrio para analizar las muestras. Si utiliza la tarjeta de análisis combinado para más de una muestra, marque los círculos correctamente. Antes de utilizar el portaobjetos de vidrio, límpielo a conciencia con papel tisú sin pelusa.

1. Deje caer una gota de **Control +** en los círculos "+" en las columnas NmC/W y NmA/Y. Deje caer una gota de **Control –** en los círculos "–" en las columnas NmC/W y NmA/Y.

2. Micropipetee 50 µL de muestra para análisis en los círculos de la fila de muestra S en las columnas NmC/W y NmA/Y y rodee A con un círculo.
3. Sujetando el frasco dispensador por el tapón, balanceelo vigorosamente (sin invertirlo) para mezclar a conciencia cada reactivo. Antes de quitar el tapón del frasco, golpee suavemente la base sobre la encimera para verificar que no queda látex en la punta.
4. Deje caer una gota de **Reactivo A** en el círculo A.
5. Deje caer una gota de **Reactivo 1** en los círculos S, "+" y "-" de la columna NmC/W. Deje caer una gota de **Reactivo 2** en los círculos S, "+" y "-" de la columna NmA/Y.
6. Mezcle las muestras y los reactivos de látex en cada círculo con un agitador de plástico, utilizando alternativamente primero un extremo y luego el opuesto para el siguiente círculo. Deseche el agitador.
7. Coloque la tarjeta de análisis o el portaobjetos de vidrio en un agitador rotativo mecánico y hágalo girar a 100 ± 2 rpm durante 10 min. Use una tapa humidificadora para prevenir la evaporación.
8. Inmediatamente después de concluir los 10 min, lea los resultados de la prueba macroscópicamente bajo una luz incandescente de alta intensidad.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Registre primero los resultados de los análisis del **Control +** y del **Control -**.

El **Control +** debe presentar una fuerte aglutinación a los 10 min. El **Control -** no debe mostrar aglutinación.

Si se produce aglutinación en alguno de los círculos que contenga **Reactivo A** o **control -**, el análisis no se puede interpretar.

Registre los resultados de la prueba del paciente:

Análisis positivo: Debe aparecer aglutinación. Cualquier grado de aglutinación presente en uno de los reactivos de látex indica la presencia del antígeno correspondiente. *La aglutinación de dos o más reactivos de látex o del reactivo A BD Directigen correspondiente hace imposible la interpretación del análisis.*

Análisis negativo: No debe aparecer ninguna aglutinación.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Estas pruebas de aglutinación del látex no están destinadas a sustituir al cultivo bacteriano. El diagnóstico de confirmación de meningitis bacteriana sólo es posible mediante los procedimientos de cultivo adecuados, y debe llevarse a cabo sistemáticamente.

Las muestras con niveles extremadamente bajos de antígeno, como las tomadas en las primeras fases de la infección, pueden proporcionar resultados negativos. Además, las muestras con concentraciones extremadamente elevadas de antígenos pueden presentar efectos prozona y generar resultados inadecuadamente negativos. Aunque no se han estudiado extensamente, los fenómenos prozona sólo se han observado en muestras sembradas con niveles extremadamente elevados de antígenos, y no en muestras clínicas.

Esta prueba está destinada a la detección cualitativa de antígenos frente a *N. meningitidis* grupos A, C, Y o W135 en LCR, suero u orina. Además, este equipo de prueba también puede utilizarse con presuntas colonias de *N. meningitidis* grupos A/Y o C/W135. No se ha evaluado el rendimiento con otros tipos de muestras. La prueba BD Directigen *Neisseria meningitidis* no puede ser usada con medios de hemocultivo.

El reactivo de *N. meningitidis* grupos C y W135 en presencia de *Escherichia coli* K92. *Es posible que se produzcan otras reacciones cruzadas, resultados no interpretables y resultados positivos falsos, que pueden reducirse o eliminarse mediante la preparación apropiada de la muestra (véanse las secciones "Tratamiento preliminar de las muestras" y "Preparación de las muestras").*

El suero y la orina no tratados pueden producir resultados no interpretables con los reactivos de látex y deberían tratarse según las indicaciones en la sección "Preparación de las muestras". Las muestras de LCR o las muestras de orina tratadas que presenten turbidez deben centrifugarse durante 10 minutos a $1400 \times g$ tras el calentamiento, y antes de la prueba. Debe utilizarse como muestra para el análisis el líquido sobrenadante.

Las muestras de orina (procesadas según lo especificado en "Preparación de las muestras") que arrojen resultados no interpretables o positivos que se sospeche son falsos podrán ser filtradas usando el filtro MILLIPORE Millex-HA 0,45 µm (#SLHA-0250S), y podrán ser comprobadas nuevamente con el o los látex de prueba reactiva y el o los látex de control correspondientes.

Las muestras de confirmación de colonias que proporcionen reacciones de aglutinación no interpretables o atípicas pueden requerir una dilución 1:10 del sobrenadante con el reactivo de control negativo. Deben tomarse precauciones para evitar las suspensiones bacterianas superiores al estándar de turbidez de McFarland N.º 1.

VALORES ESPERADOS

Haemophilus influenzae tipo b, *Neisseria meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae* se han descrito como los tres agentes responsables de aproximadamente el 84% de los casos de meningitis bacteriana³.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Sensibilidad: Los reactivos de látex BD Directigen *N. meningitidis* grupos A e Y, C y W135 se compararon con la contrainmunoelctroforesis con respecto a la capacidad de detectar antígenos polisacáridos de los grupos *N. meningitidis* parcialmente purificados en LCR, suero y orina. En la prueba de CIE se utilizaron antisueros disponibles comercialmente específicos para cada grupo de *N. meningitidis*. Los reactivos de látex BD Directigen *N. meningitidis* fueron tanto o más sensibles que la CIE en la detección de los antígenos de los grupos *N. meningitidis*.

Se realizó una serie de evaluaciones clínicas retrospectivas de los reactivos de látex de *N. meningitidis* A e Y, C y W135, con muestras que se obtuvieron originalmente de pacientes con casos positivos (confirmados por cultivo, CIE o reactivo de látex de uso comercial) de infección por *N. meningitidis* grupos A, C y W135. Los datos relacionados en la **Tabla 1 (véase la pág. 20)** representan una acumulación de dichas evaluaciones. En algunos casos las pruebas de CIE no se incluyeron en partes de la evaluación.

Especificidad: Se determinó la especificidad de los reactivos de látex BD Directigen *N. meningitidis* grupos A e Y, C y W135 analizando muestras retrospectivas y prospectivas de LCR, suero y orina durante una serie de evaluaciones clínicas llevadas a cabo en varios centros (**Tabla 2, véase la pág. 21**). Los reactivos de látex se analizaron en comparación con muestras negativas por cultivo y muestras positivas por cultivo pero no registradas. Los datos indican intervalos de especificidad de 97–100%, según el reactivo de látex y la muestra analizada.

Confirmación de colonias: Los reactivos de látex se analizaron utilizando suspensiones de colonias aisladas que cumplan las características morfológicas de los microorganismos. Las características de rendimiento se relacionan en la **Tabla 3 (véase pág. 21)**.

DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción
250160	BD Directigen <i>Neisseria meningitidis</i> Test, 30 pruebas.
255460	BD Directigen Group B Strep Test, 30 pruebas.
252260	BD Directigen <i>H. influenzae</i> type b Test, 30 pruebas.
255560	BD Directigen <i>Neisseria meningitidis</i> Group B y <i>E. coli</i> K1 Test, 30 pruebas.
251960	BD Directigen <i>S. pneumoniae</i> Test, 30 pruebas.
252360	BD Directigen Meningitis Combo Test, 30 pruebas.
252480	BD Directigen Meningitis Combo Test Card (un solo uso), caja de 30.
256391	BD Directigen Specimen Buffer Solution (solución tampón para muestras), 8 mL.
278051	BD Macro-Vue Card Test Rotator (agitador rotativo para tarjetas), con tapa humidificadora.

REFERENCIAS: Ver "References" en el texto en inglés.
Servicio técnico: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com.

Table 1 / Tableau 1 / Tabelle 1 / Tabella 1 / Tabla 1
Comparison of BD Directigen and CIE in Stored Samples
Comparaison entre BD Directigen et CIE sur des échantillons conservés / Vergleich BD Directigen und Test mit Gegenstrom-Immunelektrophorese (CIE) in gelagerten Proben / Confronto tra BD Directigen e CIE in campioni conservati / Comparación de BD Directigen y CIE en muestras conservadas

Specimen / Echantillon / Probe / Campione / Muestra	Antigen Present* / Antigène présent* / Antigen vorhanden* / Antigene presente* / Antigeno presente*	Methods / Méthodes / Methoden / Metodi / Métodos	No. Positive / Nº de positifs / Anzahl der positiven / Risultati positivi / Nº de resultados positivos	No. Negative / Nº de négatifs / Anzahl der negativen / Risultati negativi / Nº de resultados negativos
CSF / LCR / Liquor / LCS /	<i>N. meningitidis</i> Group A	BD Directigen CIE	22 Not tested	3 Not tested
	<i>N. meningitidis</i> Groups C and W135	BD Directigen CIE	8 2	0 4
Serum / Siero / Suero	<i>N. meningitidis</i> Groups A, C and W135**	BD Directigen CIE	11 7	9 12
Urine / Urin / Orina	<i>N. meningitidis</i> Groups A and C**	BD Directigen CIE	5 1	2 4

* *N. meningitidis* Group Y specimens were not available for testing. / Aucun échantillon de *N. meningitidis* du groupe Y n'était disponible. / Proben mit *N. meningitidis* der Gruppe Y standen für den Test nicht zur Verfügung. / Non erano disponibili per il test campioni di *N. meningitidis* gruppo Y. / No estuvieron disponibles para el análisis muestras de *N. meningitidis* grupo Y.

** Represents combined data of substantially equivalent reagents. / Représente des données combinées de réactifs sensiblement équivalents. / Zusammenstellung von Ergebnissen von Reagenzien gleichen Inhalts. / Rappresenta dati di reagenti sostanzialmente equivalenti. / Conjunto de datos correspondientes a reactivos esencialmente equivalentes.

Table 2 / Tableau 2 / Tabelle 2 / Tabella 2 / Tabla 2

Specificity Testing of Culture Positive and Negative Clinical Specimens
Test de spécificité d'échantillons cliniques négatifs ou positifs par culture / Spezifitätstest von in Kulturen negativen und positiven klinischen Proben / Analisi di specificità dei campioni clinici positivi e negativi in coltura / Análisis de la especificidad de muestras positivas y negativas por cultivo

Specimen* / Echantillon* / Probe* / Campione* / Muestra*	Latex Reagent / Réactif au latex / Latex-Reagenz / Reagente al latex / Reactivo de látex	No. Tested / N° de testé / Anzahl der Testproben / N° di analisi / N° de muestras analizadas	No. Negative / N° négatifs / Anzahl der negativen Proben / N° dei risultati negativi / N° de muestras negativos	Specificity % / Spécificité % / Spezifität in % / Specificità (%) / Especificidad %
CSF / LCR / Liquor / LCS /	Nm A/Y Nm C/W135**	75 236	74 232	98.7 98.3
Serum / Siero / Suero	Nm A/Y Nm C/W135**	36 143	35 143	97.2 100
Urine / Urin / Urina / Orina	Nm A/Y Nm C/W135**	51 147	50 147	98 100
Urine conc. 25 x	Nm A/Y Nm C/W135**	37 53	37 52	100 98.1

* Specimens tested were collected from patients that were culture negative and non-indexed latex specificity culture positive. / Echantillons testés prélevés sur des patients qui étaient négatifs par culture et positifs par culture à des latex non enregistrés. / Getestete Proben stammten von Patienten, die kulturenegativ und in nichtregistrierter Latex-Spezifität kulturpositiv waren. / I campioni testati sono stati prelevati da pazienti negativi in coltura e positivi in coltura a latex non registrato. / Las muestras analizadas fueron recogidas de pacientes con cultivos negativos y cultivos positivos de especificidad látex no clasificado.

** Data is an accumulation of multiple clinical evaluations. / Données cumulées de plusieurs évaluations cliniques. / Daten stellen eine Zusammenfassung mehrerer klinischen Studien dar. / I dati rappresentano la somma dei risultati di molteplici valutazioni cliniche. / Los datos representan los resultados acumulados en varias evaluaciones clínicas.

Table 3 / Tableau 3 / Tabelle 3 / Tabella 3 / Tabla 3

Colony Confirmation Performance Characteristics BD Directigen Meningitis vs. Biochemical Identification / Les caractéristiques de performance de la confirmation des colonies Comparaison entre le Test BD Directigen Meningitis et la procédure d'identification biochimique / Kennwerte für die Bestätigung von Kolonien BD Directigen Meningitis i. Vgl. zur biochemischen Identifikation / Caratteristiche di performance della conferma di colonie BD Directigen Meningitis vs. identificazione biochimica / Características del rendimiento de la confirmación de colonias BD Directigen Meningitis vs. identificación bioquímica

Suspected Organism / Organisme suspecté / Vermuteter Organismus / Organismo sospetto / Organismo presunto	No. Tested / N° de testé / Anzahl der Testproben / N° di analisi / N° de muestras analizadas	Relative Sensitivity (95% Confidence Interval) / Sensibilité relative (Intervalle de confiance 95 %) / Relative Empfindlichkeit (Vertrauensintervall ist 95 %) / Sensibilità relativa (Intervallo di confidenza del 95%) / Sensibilidad relativa (intervalo de confianza del 95%)	Relative Specificity (95% Confidence Interval) / Spécificité relative (Intervalle de confiance 95 %) / Relative Spezifität (Vertrauensintervall ist 95 %) / Specificità relativa (Intervallo di confidenza del 95%) / Especificidad relativa (intervalo de confianza del 95%)	% Uninterpretable Initial Testing / % Tests initiaux non interprétables/ Nicht erste Testergebnisse nisse in % / % di analisi iniziali non interpretabili / % de análisis inicial no interpretable
Neisseria meningitidis Group A/Y	106	100% (83–100)	100% (96–100)*	10.4%
Neisseria meningitidis	94	96% (82–100)	98.5% (92–100)*	11.7%

* Results after repeat testing with 1:10 dilution. / Résultats après une répétition des tests avec une dilution au 1:10. / Ergebnisse nach Testwiederholung mit einer 1:10 Verdünnung. / Risultati ottenuti dopo ripetizione del test con diluizione 1:10. / Resultados obtenidos después de pruebas repetidas con la dilución 1:10.

Procedural Chart / Tableau de procédure / Darstellung des Verfahrens /
Schema di procedura / Esquemas de procedimiento

Performance of Test / Exécution du test / Durchführung des Tests /
Esecuzione del test / Realizacion de la prueba

1

2

3

4

5

6

7

Directigen™ MENINGITIS TEST			
	Anti-Hib Latex	Anti-Sp Latex	Anti-GBS Latex
+			
-			
S			



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant /
 Proizvođač / Gyártó / Fabricante / Атқарушы / 제조업체 / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirkir / Producent / Producător /
 Производител / Výrobca / Proizvođač / Tilverkare / Üretici / Виробник / 生产厂商



Use by / Исползвайте до / Spøtfebuje do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date
 de péremption / 사용 기한 / Upotrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Деяін пайдалануға / Naudokite iki /
 Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Исползовать до / Použite
 do / Upotrebiti do / Använd före / Son kullanna tarilni / Використати до/line / 使用截止日期
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned)
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)
 ЖОЖОЖ-АА-КК / ЖОЖОЖ-АА / (АА = айдың соңы)
 YYYY-MM-DD/YYYY-MM (MM = 월말)
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mēnesio pabaiga)
 GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigas)
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = sluttan av måneden)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii)
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutet av månaden)
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)
 PPPP-MM-DD / PPPP-MM (MM = кінець місяця)
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = 月末)



REF Catalog number / Каталоген номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo /
 Katalognummer / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Καταλογ αριθμός / Каталогно
 번호 / Katalogo / numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по
 каталогу / Katalogové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом / 目录号



EC REP Authorized Representative in the European Community / Оторизирани представител в Европейската общност /
 Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret repræsentant i De Europæiske Fællesskaber /
 Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα
 / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogu / Représentant autorisé
 pour la Communauté européenne / Autorizuirani predstavnik u Europskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai
 Közöségben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл /
 유럽 공동체의 위임 대표 / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijose / Pilnvarotais Europos Kopienā / Bevoegde
 vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo
 we Wspólnocie Europejskiej / Representante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentantul autorizat pentru
 Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca
 v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavništvo v Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska
 gemenskapen / Автура Топлупулу Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС / 歐洲共同體授權代表



IVD In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro
 diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική
 συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsiniparatuur / Dispositif médical
 de diagnostic in vitro / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo
 medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жүзгізетін медициналық диагностика аспабы / In Vitro Diagnostik
 의료 기기 / In vitro diagnostikos prietaisai / Medicinas ierices, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-
 vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico
 para diagnóstico in vitro / Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики in vitro /
 Medicinska pomôcka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-
 diagnostik / In Vitro Diagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский прибор для диагностики in vitro / 体外诊断医疗设备



Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung /
 Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperaturi piirang / Limites de température / Dozvoljena
 temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шектеу / 온도 제한 / Laikymo temperatūra
 / Temperatūras ierobežojumi / Temperaturilimiet / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limites de
 temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ograničenje teploty / Ograničenje temperature /
 Temperaturgräns / Sıcaklık sınırlaması / Обмеження температури / 温度限制



LOT Batch Code (Lot) / Код на партидата / Kód (číslo) šarže / Batch-kode (lot) / Batch-Code (Charge) / Κωδικός παρτίδας
 (partida) / Código de lote (lote) / Partii kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Топтам
 коды / 배치 코드(로트) / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Kod partii
 (serie) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (лот) / Kód série (šarža) / Kod serie / Partinummer (Lot) / Partii
 Kodu (Lot) / Код партії / 批号 (亚批)



Contains sufficient for <n> tests / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Dostatečné množství pro <n> testů /
 Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις / Contenido
 suficiente para <n> pruebas / Küllaldane <n> testide jaoks / Contenu suffisant pour <n> tests / Sadržaj za <n> testova /
 <n> teszthez elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / <n> тесттеpi үшiн жеткінікті / <n> 테스트가 충분히 포함됨
 / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor "n" testen / Innholder
 tilstrekkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conteúdo suficiente para <n> testes / Conținut
 suficient pentru <n> teste / Достаточно для <n> тестов(а) / Obsah vystačí na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova
 / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test için yeterli malzeme içerir / Вистачить для аналізів: <n> / 足够进行 <n>
 次检测



Consult Instructions for Use / Направете справка в инструкциите за употреба / Prostudujte pokyny k použití / Se
 brugsanvisningen / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultar las instrucciones
 de uso / Lugeda kasutusjuhendit / Consulter la notice d'emploi / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati
 utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / 사용 지침 참조 / Skaitykite
 naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i bruksanvisningen / Zobacz
 instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultați instrucțiunile de utilizare / См. руководство
 по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se bruksanvisningen / Kullanım
 Talimatları'na başvurun / Див. інструкції з використання / 请参阅使用说明

CONTROL+

Positive control / Положителен контрол / Pozitivní kontrola / Positiv kontrol / Positive Kontrolle / Θετικός μάρτυρας /
 Control positivo / Positiivne kontroll / Contrôle positif / Pozitivna kontrola / Pozitiv kontroll / Controllo positivo / Оң бақылай
 / 양성 컨트롤 / Teigiama kontrolė / Pozitívá kontrolé / Positieve controle / Kontrola dodatnia / Controllo positivo / Control
 pozitiv / Положительный контроль / Pozitif kontrol / Позитивний контроль / 阳性对照试剂

CONTROL-

Negative control / Отрицателен контрол / Negativní kontrola / Negativ kontrol / Negative Kontrolle / Αρνητικός μάρτυρας /
 Control negativo / Negatiivne kontroll / Contrôle négatif / Negativna kontrola / Negativ kontroll / Controllo negativo /
 Негативтік бақылай / 음성 컨트롤 / Neigiama kontrolė / Negatívá kontrolé / Negatieve controle / Kontrola ujemna / Controllo
 negativo / Control negativ / Отрицательный контроль / Negatif kontrol / Негативний контроль / 阴性对照试剂

Rx Only

This only applies to US: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner." /
 S'applique uniquement aux États-Unis: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed
 practitioner." / Vale solo per gli Stati Uniti: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a
 licensed practitioner." / Gilt nur für die USA: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a
 licensed practitioner." / Sólo se aplica a los EE.UU.: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of
 a licensed practitioner."



Becton, Dickinson and Company
 7 Loveton Circle
 Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
 Pottery Road, Dun Laoghaire
 Co. Dublin, Ireland

Australian Sponsor:

Becton Dickinson Pty Ltd.
 4 Research Park Drive
 Macquarie University Research Park
 North Ryde, NSW 2113
 Australia

MILLIPORE is a trademark of Millipore Corporation.

© 2018 BD. BD, the BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.