

Pastorex™ Meningitis

25

REF 61607

REF 61608

REF 61610

REF 61611

REF 61613

REF 61614

REF 61616

REF 61618

Test di agglutinazione per il rilevamento qualitativo di antigeni solubili di *Neisseria meningitidis* dei gruppi A, C, Y/W135 e B/E. *coli* K1; *Haemophilus influenzae* di tipo b, *Streptococcus pneumoniae* e *Streptococcus* del gruppo B in emocolture e colture di liquido cerebrospinale; e per l'identificazione di *Neisseria meningitidis* dei gruppi A, C e B/E. *coli* K1; *Haemophilus influenzae* di tipo b, *Streptococcus pneumoniae* e *Streptococcus* del gruppo B da colonie isolate su terreni di coltura agar.



881193 – 2017/02

INDICE

1. USO PREVISTO	2
2. RIEPILOGO E ILLUSTRAZIONE DEL TEST	2
3. PRINCIPI DELLA PROCEDURA.....	2
4. REAGENTI.....	3
5. AVVERTIMENTI E PRECAUZIONI.....	5
6. CAMPIONI.....	6
7. PROCEDURA.....	6
8. LIMITAZIONE DEL TEST	8
9. CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI.....	8
10. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI.....	13

1. USO PREVISTO

Il dosaggio Pastorex™ Meningitis è un test di agglutinazione destinato alla diagnosi rapida della meningite batterica attraverso:

- Il rilevamento qualitativo di antigeni solubili di *Neisseria meningitidis* dei gruppi A, B/E. coli K1, C, Y/W135, *Haemophilus influenzae* di tipo b, *Streptococcus pneumoniae* e *Streptococcus* del gruppo B in emocolture e colture di liquido cerebrospinale (CSF);
- L'identificazione di *Neisseria meningitidis* dei gruppi A, B/E. coli K1 e C; *Haemophilus influenzae* di tipo b, *Streptococcus pneumoniae* e *Streptococcus* del gruppo B da colonie isolate sospette su terreni di coltura agar.

2. RIEPILOGO E ILLUSTRAZIONE DEL TEST

Nonostante i progressi ottenuti nella diagnosi e nel trattamento delle infezioni, la meningite batterica è tuttora un'importante causa di mortalità e morbidità. La diagnosi rapida e precisa dell'agente eziologico è fondamentale per l'assistenza medica e l'attuazione della terapia adeguata [1, 2, 3].

Streptococcus pneumoniae, *Neisseria meningitidis* e *Haemophilus influenzae* b sono stati segnalati come i principali organismi causativi responsabili della meningite batterica [4]. *Streptococcus* del gruppo B [5] ed *Escherichia coli* K1 [6, 7] sono i principali patogeni batterici responsabili della meningite nei neonati e nei nati prematuri. L'antigene polisaccaridico specifico di *N. meningitidis* del gruppo B è identico all'antigene polisaccaridico rilevato con *E. coli* K1, il che consente dunque la diagnosi di meningite da *E. coli* nei neonati, appartenente al ceppo K1 nell'80% dei casi [1]. *Streptococcus pneumoniae* [8] e *Neisseria meningitidis* sono i patogeni principali in bambini e adulti. Da quando si applicano programmi di vaccinazione sistematica, le infezioni dovute a *Haemophilus influenzae* b stanno scomparendo in Europa [2].

Una diagnosi precoce consente la tempestiva gestione terapeutica e l'applicazione di misure preventive [9, 10]. L'esame essenziale è tuttora l'analisi del CSF [10]. La colorazione di Gram evidenzia l'identificazione dei batteri nel 50 - 80% dei casi e la coltura è positiva nell'80% circa dei campioni di CSF. In caso di trattamento precoce, però, la sensibilità di questi due test è inferiore al 50% [2, 3].

La tecnica convenzionale di identificazione batterica mediante coltura, sebbene essenziale per i test di sensibilità e la conferma della diagnosi, richiede 18-24 ore, un lasso di tempo inadeguato alle cure di emergenza. Possono inoltre emergere risultati falsi negativi se il campione è stato trasportato e conservato in condizioni insoddisfacenti o se si è iniziata una terapia antibiotica prima del prelievo del campione [9, 10, 11].

Ne consegue che tecniche immunologiche come l'agglutinazione di particelle di lattice per il rilevamento di antigeni solubili rilasciati dagli organismi causativi nei fluidi biologici consentono una diagnosi più rapida, soprattutto nel CSF mentre l'infezione è in corso [12, 13]. Il dosaggio Pastorex™ Meningitis è un test semplice che richiede apparecchiature di laboratorio di base, è facile da eseguire e consente di rilevare i sierogruppi di batteri responsabili della meningite in pochi minuti [14, 15, 16]. La sua praticità è stata dimostrata nei casi di epidemia per stabilire il vaccino appropriato da prescrivere [10, 13, 14, 15, 16, 17].

3. PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il dosaggio Pastorex™ Meningitis si basa sull'agglutinazione di particelle di lattice valutata con l'interpretazione visiva. Gli antigeni polisaccaridici specifici dei batteri responsabili della meningite vengono rilevati mediante particelle di lattice colorate rivestite di anticorpi specifici per ceppo. La reazione in presenza di questi antigeni specifici causa l'agglomerazione colorata visibile delle particelle di lattice. In assenza degli antigeni, le particelle di lattice rimangono in sospensione omogenea.

4. REAGENTI

4.1. Descrizione

A) Kit Pastorex™ Meningitis, codice 61607 (25 test):

Identificazione		Descrizione	Presentazione
R1	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1 Latex	Lattice rosso in sospensione sensibilizzato con anticorpo monoclonale murino specifico per <i>N. meningitidis</i> gruppo B/E. coli K1 Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml 1 flacone contagocce con tappo bianco , pronto all'uso
R2	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1 Negative Control Latex	Lattice rosso in sospensione sensibilizzato con anticorpo monoclonale murino specifico per il toxoide del tetano Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml 1 flacone contagocce con tappo trasparente , pronto all'uso
R3	<i>H. influenzae b</i> Latex	Lattice bianco in sospensione sensibilizzato con anticorpi di coniglio specifici per <i>H. influenzae b</i> Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml 1 flacone contagocce con tappo arancione , pronto all'uso
R4	<i>S. pneumoniae</i> Latex	Lattice verde in sospensione sensibilizzato con anticorpi di coniglio specifici per <i>S. pneumoniae</i> Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml 1 flacone contagocce con tappo verde , pronto all'uso
R5	<i>Streptococcus B</i> Latex	Lattice giallo in sospensione sensibilizzato con anticorpi di coniglio specifici per <i>Streptococcus</i> del gruppo B Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml 1 flacone contagocce con tappo giallo , pronto all'uso
R6	<i>N. meningitidis A</i> Latex	Lattice blu in sospensione sensibilizzato con anticorpi di coniglio specifici per <i>N. meningitidis</i> del gruppo A Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml 1 flacone contagocce con tappo blu , pronto all'uso
R7	<i>N. meningitidis C</i> Latex	Lattice rosso in sospensione sensibilizzato con anticorpi di coniglio specifici per <i>N. meningitidis</i> del gruppo C Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml 1 flacone contagocce con tappo rosso , pronto all'uso
R8	<i>N. meningitidis Y/W135</i> Latex	Lattice rosa in sospensione sensibilizzato con anticorpi di coniglio specifici per <i>N. meningitidis</i> Y/W135 Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml 1 flacone contagocce con tappo viola , pronto all'uso
R9	Negative polyvalent control Latex	Lattice viola in sospensione sensibilizzato con immunoglobuline IgG da coniglio non immunizzato Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml 1 flacone contagocce con tappo trasparente , pronto all'uso
R10	Positive polyvalent control Antigenic extract	Estratto antigenico contenente gli antigeni polisaccaridici di <i>N. meningitidis</i> A, C, B, Y/W135, <i>H. influenzae b</i> , <i>Streptococcus</i> del gruppo B e <i>S. pneumoniae</i> . Conservante: 0,01% Bronidox	1 flacone di estratto antigenico liofilizzato da ricostituire in 1,0 ml di acqua sterile (volume sufficiente per 18 reazioni)
-	Cards	Cartoncini di agglutinazione monouso (9 cerchi, ciascuno con indicazione del relativo reagente al lattice)	30 unità
-	Sticks	Stick per miscelazione monouso	3 x 100 unità

B) Pastorex™ Meningitis test singoli al lattice (25 test ciascuno):

Codice prodotto	Identificazione		Descrizione	Presentazione
61611	R1	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1 Latex	Lattice rosso in sospensione sensibilizzato con anticorpo monoclonale murino specifico per <i>N. meningitidis</i> gruppo B/E. coli K1 Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml x 1 flacone contagocce con tappo bianco / pronto all'uso
61616	R3	<i>H. influenzae</i> b Latex	Lattice bianco in sospensione sensibilizzato con anticorpi di coniglio specifici per <i>H. influenzae</i> b Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml x 1 flacone contagocce con tappo arancione / pronto all'uso
61614	R4	<i>S. pneumoniae</i> Latex	Lattice verde in sospensione sensibilizzato con anticorpi di coniglio specifici per <i>S. pneumoniae</i> Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml x 1 flacone contagocce con tappo verde / pronto all'uso
61613	R5	<i>Streptococcus</i> B Latex	Lattice giallo in sospensione sensibilizzato con anticorpi di coniglio specifici per <i>Streptococcus</i> del gruppo B Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml x 1 flacone contagocce con tappo giallo / pronto all'uso
61608	R6	<i>N. meningitidis</i> A Latex	Lattice blu in sospensione sensibilizzato con anticorpi di coniglio specifici per <i>N. meningitidis</i> del gruppo A Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml x 1 flacone contagocce con tappo blu / pronto all'uso
61610	R7	<i>N. meningitidis</i> C Latex	Lattice rosso in sospensione sensibilizzato con anticorpi di coniglio specifici per <i>N. meningitidis</i> del gruppo C Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	0,40 ml x 1 flacone contagocce con tappo rosso / pronto all'uso

C) Kit di controllo Pastorex™ Meningitis, codice 61618, per test singolo al lattice (per 2 x 25 test):

Identificazione		Descrizione	Presentazione
R2	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1 Negative Control Latex	Lattice rosso in sospensione sensibilizzato con anticorpo monoclonale murino specifico per il toxoide del tetano Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	2 x 0,40 ml 2 flaconi contagocce con tappo trasparente, pronti all'uso
R9	Negative polyvalent control Latex	Lattice viola in sospensione sensibilizzato con immunoglobuline IgG da coniglio non immunizzato Conservante: 0,3% ProClin™ 300 e 0,005% gentamicina solfato	2 x 0,40 ml 2 flaconi contagocce con tappo trasparente, pronti all'uso
R10	Positive polyvalent control Antigenic extract	Estratto antigenico contenente gli antigeni polisaccaridici di <i>N. meningitidis</i> A, C, B, Y/W135, <i>H. influenzae</i> b, <i>Streptococcus</i> B e <i>S. pneumoniae</i> . Conservante: 0,01% Bronidox	2 flaconi di estratto antigenico liofilizzato da ricostituire in 1,0 ml di acqua sterile (volume sufficiente per 18 reazioni)
-	Cards	Cartoncini di agglutinazione monouso (9 cerchi, ciascuno con indicazione del relativo reagente al lattice)	2 x 20 cartoncini
-	Sticks	Stick per miscelazione monouso	2 x 100 stick

4.2. Requisiti di conservazione e trattamento

- I reagenti possono essere utilizzati fino alla data di scadenza indicata sulla confezione se conservati a +2-8 °C e in assenza di contaminazione microbica (anche dopo l'apertura).
- NON CONGELARE I REAGENTI AL LATTICE.
- Assicurarsi che i tappi dei contagocce siano saldamente avvitati per evitare la contaminazione o l'essiccazione dei reagenti.
- Conservare i flaconi dei reagenti al lattice in posizione verticale (all'interno dei supporti in schiuma originali forniti nel kit).

Identificazione	Conservazione (dopo la prima apertura)
R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9	Dopo la prima apertura: fino alla data di scadenza indicata sulla confezione a +2-8 °C.
R10	Dopo la ricostituzione: 1 mese a +2-8 °C; oppure fino alla data di scadenza se congelato a -20 °C (non ricongelare dopo lo scongelamento)

5. AVVERTIMENTI E PRECAUZIONI

Per uso diagnostico *in vitro*. Per uso professionale.

5.1. Precauzioni per la salute e la sicurezza

- Questo kit di test deve essere manipolato esclusivamente da personale qualificato opportunamente competente nelle procedure di laboratorio e consapevole dei potenziali rischi connessi. Indossare indumenti protettivi, guanti e protezioni per occhi/viso adeguati e manipolare i materiali in maniera appropriata nel rispetto della buona pratica di laboratorio.
- Procedere allo smaltimento di tutti i campioni e i materiali utilizzati per l'esecuzione del test come potenzialmente infetti. I rifiuti di laboratorio, chimici o a rischio biologico, devono essere manipolati e smaltiti nel rispetto di tutte le normative locali, regionali e nazionali.
- Per le raccomandazioni su precauzioni e rischi correlati ad alcuni componenti chimici del presente kit, consultare i simboli riportati sulle etichette e le informazioni fornite alla fine delle istruzioni per l'uso. La scheda di sicurezza è disponibile all'indirizzo www.biorad.com.

5.2. Precauzioni relative alla procedura

5.2.1. Preparazione

- Se si utilizza un agitatore orbitale standard di laboratorio diverso dall'esempio citato nel capitolo 7.2, la velocità ottimale deve essere attentamente regolata quando si utilizza il reagente R10 per garantirne l'agglutinazione omogenea sull'intera superficie dei cerchi. **L'agitazione manuale non è raccomandata.**
- Evitare l'essiccazione dei reagenti depositati sul/i cartoncino/i per agglutinazione durante il periodo di agitazione; assicurarsi che l'agitatore orbitale non si trovi sotto il flusso dell'aria condizionata.
- Se si esegue il riscaldamento dei campioni di CSF in bagno d'acqua a 100 °C o in un incubatore a secco, assicurarsi che l'interno della provetta raggiunga 100 °C.
- Prima dell'uso attendere 10 minuti perché i reagenti raggiungano la temperatura ambiente (18-25 °C).
- Si raccomanda di ordinare i reagenti al lattice secondo il pattern di distribuzione del cartoncino.
- Non toccare la superficie di reazione dei cartoncini per agglutinazione.
- Il reagente R10 deve essere ricostituito con acqua distillata sterile, evitando qualsiasi contaminazione.
- Utilizzare gli stick per miscelazione in plastica forniti nel kit per miscelare i reagenti con i campioni o le colonie batteriche.
- Non utilizzare reagenti scaduti.

5.2.2. Elaborazione

- Eseguire il test a temperatura ambiente (tra 18 e 25 °C). Accertarsi che i campioni di CSF riscaldati a 100 °C tornino a temperatura ambiente prima del test.
- Se si esegue il riscaldamento dei campioni di CSF in bagno d'acqua a 100 °C, utilizzare provette ermetiche per evitare l'ingresso d'acqua nelle provette. È preferibile utilizzare un incubatore a secco. Agitare delicatamente i reagenti prima di ciascun utilizzo. Verificare quindi che la sospensione di lattice rimanga omogenea prima dell'uso.
- Per garantire la corretta erogazione delle gocce, tenere sempre i contagocce dei reagenti in posizione verticale.
- Pulire il puntale del flacone di reagente per ottenere una goccia correttamente calibrata.
- Per ogni reazione utilizzare un nuovo stick per miscelazione.
- Eliminare il materiale monouso utilizzato in un contenitore autoclavabile per rifiuti o in una vasca di disinfezione.

6. CAMPIONI

- Campioni di liquido cerebrospinale: i campioni di CSF devono essere trattati non appena possibile dopo il prelievo. Se ciò non fosse possibile, è consentito conservarli per massimo quattro ore tra +2 e +8 °C. È necessario dare la priorità agli esami batteriologici (coltura) per evitare la contaminazione del campione. Il volume minimo del campione per i test con il dosaggio Pastorex™ Meningitis è di 500 µl.
Non è stata osservata nessuna interferenza in campioni di CSF contenenti concentrazioni anomale di emoglobina (fino a 2 mg/ml per simulare l'emolisi).
- Emocoltura positiva: i campioni devono essere trattati immediatamente. Alcuni terreni per emocoltura possono produrre reazioni aspecifiche o interpretazioni errate. Per prevenire tali situazioni, si raccomanda di testare un controllo negativo utilizzando un'emocoltura inoculata con sangue sterile o con un organismo diverso da quelli rilevati dal dosaggio Pastorex™ Meningitis.
- Raggruppamento batterico da colonie isolate: il test deve essere eseguito su colonie **fresche** e **ben isolate** su terreni di coltura agar.

7. PROCEDURA

7.1. Materiale necessario

- Tutti i materiali elencati sotto "Reagenti" e relativi controlli
- Cartoncini monouso per test di agglutinazione
- Stick per miscelazione monouso

7.2. Materiale necessario ma non fornito

- Micropipetta standard per la distribuzione di 30 e 50 µl
- Anse calibrate da 1 µl e 5 µl per il raggruppamento batterico
- Acqua distillata sterile
- Soluzione fisiologica sterile
- Brodo Todd Hewitt (**codice 55704**)
- Kit antisiero *Neisseria meningitidis* Y, W135, 29E (**codice 58704**)
- Provette ermetiche
- Incubatore a secco o bagno d'acqua bollente a 100 °C per la procedura di dosaggio del CSF
- Agitatore orbitale (ovvero velocità di 120 RPM con modello IKA KS260 base)
- Centrifuga per microprovette
- Timer
- Bagno disinfettante

7.3. Procedura di dosaggio del CSF

Preparazione del campione di CSF:

- se il CSF è molto torbido o contiene eritrociti, centrifugarlo per 5 minuti a 350 g e raccogliere il surnatante.
- Riscaldare tutti i campioni di CSF per 3 minuti a 100 °C. Accertarsi che il campione raggiunga la temperatura ambiente (18-25 °C) e quindi eseguire la centrifugazione per 5 minuti a 3.000 g.

Procedura di test del CSF:

- Dispensare 50 µl di surnatante del campione pretrattato in ciascun cerchio del cartoncino per agglutinazione.
- Agitare delicatamente i reagenti al lattice.
- Tenendo il contagocce in posizione verticale, depositare una goccia di ciascun reagente al lattice sul cartoncino monouso seguendo il pattern di distribuzione indicato: R9, R6, R7, R1 e R2 nei cerchi bianchi e R8, R3, R4 e R5 nei cerchi neri.
- Miscelare i reagenti al lattice e il campione utilizzando uno stick sull'intera superficie del cerchio; usare un nuovo stick per ciascun reagente al lattice. Ruotare delicatamente il cartoncino (vedere il capitolo 5.2.1.) **per 10 minuti**.
- Osservare l'eventuale agglutinazione visibile a occhio nudo entro massimo 10 minuti. Attendere la fine dei 10 minuti per determinare un risultato negativo.

7.4. Procedura con emocoltura

Preparazione dell'emocoltura:

- a scopo orientativo, verificare la morfologia batterica e la colorazione di Gram.
- Prelevare 1 - 2 ml di campione da emocoltura positiva.
- Centrifugare per 5 minuti a 2.000 g.

Procedura di test dell'emocoltura:

- Dispensare 50 µl di surnatante in ciascun cerchio del cartoncino monouso corrispondente ai reagenti al lattice da testare secondo la colorazione di Gram.
- Agitare delicatamente i reagenti al lattice selezionati per il test.
- Tenendo il contagocce in posizione verticale, depositare una goccia di ciascun reagente al lattice selezionato sul cartoncino monouso.
- Miscelare i reagenti al lattice e il campione utilizzando uno stick sull'intera superficie del cerchio; usare un nuovo stick per ciascun reagente al lattice. Ruotare delicatamente il cartoncino (vedere il capitolo 5.2.1.) **per 5 minuti**.
- Osservare l'eventuale agglutinazione visibile a occhio nudo entro massimo 5 minuti. Attendere la fine dei 5 minuti per determinare un risultato negativo.

7.5. Procedura di raggruppamento di ceppi batterici isolati

Prima di eseguire il test, verificare la morfologia e la colorazione di Gram a scopo orientativo:

Gram e morfologia	Test di orientamento	Identificazione batterica presunta
Batteri Gram-negativi	Test dell'ossidasi	(+): <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> b
		(-): <i>Escherichia coli</i> K1
Cocchi Gram-positivi	Test della catalasi	(+): non testare queste colonie
		(-): <i>Streptococcus pneumoniae</i> *, <i>Streptococcus</i> del gruppo B

* I ceppi non incapsulati di *S. pneumoniae* non possono essere identificati con lattice per immuno-agglutinazione [8].

a) *N. meningitidis* (solo A, B, e C), *H. influenzae* b, *E. coli* K1, *S. pneumoniae*

Il reagente al lattice *N. meningitidis* Y/W135 (R8) non può essere usato per il raggruppamento di ceppi batterici isolati su terreni di coltura agar. Per determinare questi gruppi si raccomanda di utilizzare antisieri convenzionali (Kit antisiero Bio-Rad *Neisseria meningitidis* Y, W135, 29E, codice 58704).

- Dispensare 30 µl di soluzione fisiologica sterile nel cerchio corretto sul cartoncino monouso.
- Preparazione del campione:
 - *N. meningitidis*, *H. influenzae* b e *E. coli* K1: l'equivalente di un'ansa da 1 µl, corrispondente a 2 - 3 colonie.
 - *S. pneumoniae*: l'equivalente di un'ansa da 5 µl, corrispondente a **minimo** 10 - 12 colonie.
- Emulsionare accuratamente le colonie prelevate con l'ansa per ottenere una sospensione omogenea.
- Agitare delicatamente il/i reagente/i prescelto/i per l'identificazione; tenendo il/i contagocce in posizione verticale, depositare una goccia del/i reagente/i appropriato/i R1, R3, R4, R6 o R7 alla periferia della sospensione batterica sul cartoncino monouso.
- Miscelare la goccia di lattice e la sospensione del campione con uno stick.
- Ruotare delicatamente il cartoncino (vedere il capitolo 5.2.1.).
- Osservare l'eventuale agglutinazione visibile a occhio nudo entro **massimo 2 minuti**. Attendere la fine dei 2 minuti per determinare un risultato negativo.
- Confermare l'identificazione delle specie con test biochimici convenzionali.

b) *Streptococcus* del gruppo B (colonie β-emolitiche)

- Utilizzando un'ansa da 5 µl, sospendere 7 - 8 colonie in 3 ml di brodo Todd Hewitt (codice 55704).
- Incubare in bagno d'acqua a 37 °C per 2 - 3 ore.
- Centrifugare per 5 minuti a 3.000 g.
- Dispensare 50 µl di surnatante nel cerchio corrispondente del cartoncino monouso.
- Agitare delicatamente il reagente R5; tenendo il contagocce in posizione verticale, depositare una goccia alla periferia della sospensione batterica.
- Miscelare la goccia di lattice e il campione con uno stick.
- Ruotare delicatamente il cartoncino (vedere il capitolo 5.2.1.). Osservare l'eventuale agglutinazione visibile a occhio nudo **entro 1 minuto**.
- Confermare l'identificazione delle specie con test biochimici convenzionali.

7.6. Controllo qualità

I reagenti al lattice devono essere completamente omogenei dopo l'agitazione.

- Dispensare 50 µl di **lattice di controllo positivo polivalente (R10)** in ciascun cerchio del cartoncino monouso.
- Agitare delicatamente i reagenti al lattice. Tenendo i contagocce in posizione verticale, depositare una goccia di ciascun reagente al lattice sul cartoncino monouso seguendo il pattern di distribuzione indicato: i reagenti R9, R6, R7, R1 e R2 nei cerchi bianchi e i reagenti R8, R3, R4 e R5 nei cerchi neri.
- Miscelare i reagenti al lattice e il reagente R10 con uno stick, usandone uno nuovo per ciascun reagente al lattice.
- Ruotare delicatamente il cartoncino (vedere il capitolo 5.2.1.) **per 10 minuti**. Durante questo periodo di 10 minuti, osservare l'eventuale comparsa di agglutinazione (confrontare le reazioni dei reagenti al lattice del test con quelle dei controlli negativi al lattice).
- L'intensità dell'agglutinazione e la rapidità con cui compare dipendono dall'avidità antigene/anticorpo. Le reazioni osservate sono quindi variabili a seconda del reagente al lattice. L'agglutinazione del lattice *N. meningitidis* B/E.coli K1 (R1) è più fine rispetto alle altre reazioni.

- Una soluzione fisiologica sterile controlla l'assenza di agglutinazione aspecifica di ciascun reagente al lattice. Per eseguire questo test di controllo qualità, utilizzare soluzione fisiologica sterile secondo il protocollo descritto per il lattice di controllo positivo polivalente (vedere la procedura sopra citata).
- I reagenti al lattice non devono essere utilizzati se non producono agglutinazione con il reagente R10 o se producono agglutinazione aspecifica con la soluzione fisiologica sterile (ciò potrebbe essere dovuto a condizioni di conservazione del kit inadeguate o a una contaminazione del reagente al lattice).

7.7. Interpretazione dei risultati

Reazione positiva

Una reazione positiva è indicata da agglutinazione fine, visibile a occhio nudo, rispetto al lattice di controllo negativo R2 e R9. L'intensità dell'agglutinazione e il momento della sua comparsa dipendono dalla concentrazione di antigene nel campione testato.

Una discrepanza tra un test positivo all'antigene e una coltura negativa può essere spiegata dall'assenza di batteri vitali nel campione coltivato (la terapia antibiotica è iniziata prima del prelievo del campione o le condizioni di trasporto non erano idonee alla sopravvivenza di batteri fragili).

Nella maggior parte dei casi, una reazione positiva con il lattice *N. meningitidis* B/E.coli K1 (R1) in un neonato o un nato prematuro indica infezione da *E. coli* K1. In un soggetto di età superiore è più probabile che si tratti di *N. meningitidis* B. La diagnosi deve essere confermata dalla coltura del campione.

Reazione negativa

Una reazione negativa è indicata da una sospensione omogenea, priva di grumi.

Risultati non interpretabili

Una reazione è non interpretabile se il campione produce agglutinazione con il lattice di controllo negativo (reagente R2 o R9) e/o con più di un reagente al lattice del kit. In questo caso, si raccomanda di ripetere il test con un altro campione e di attendere i risultati della coltura (in casi molto rari un'infezione può essere sostenuta da due specie batteriche differenti).

8. LIMITAZIONE DEL TEST

- In molti casi, la tecnica immunologica al lattice consente una diagnosi presunta dell'organismo. Tuttavia, la concentrazione di antigene del campione può essere più bassa del limite inferiore di rilevamento del lattice e può produrre una reazione negativa. In questo caso può essere utile ripetere il test sul campione in un secondo momento.
- Questa tecnica non può sostituire la coltivazione dei batteri, l'unico metodo che consente di ottenere un risultato relativo alla sensibilità agli antimicrobici.
- In considerazione della grande varietà di terreni per emocoltura, non è possibile garantire le prestazioni del test per tutti i terreni (vedere il capitolo 6).
- Sono stati riferiti alcuni esempi di batteri non correlati dotati di antigeni simili. Occorre sempre tener conto della possibilità di reazioni crociate [18, 19, 20].
- **Il reagente al lattice *N. meningitidis* Y/W135 (R8) non può essere usato per il raggruppamento di ceppi batterici isolati su terreni di coltura agar.** Per determinare questi gruppi si raccomanda di utilizzare antisieri convenzionali (Kit antisiero Bio-Rad *Neisseria meningitidis* Y, W135, 29E, codice 58704).
- Come per tutte le diagnosi di laboratorio, la diagnosi finale non può basarsi sui risultati di un singolo test, bensì su una panoramica dei dati clinici e dei risultati biochimici, citologici e immunologici.
- Il rilevamento di antigeni solubili nelle emocolture e il raggruppamento di ceppi isolati su terreni di coltura agar devono essere completati con l'identificazione della specie del ceppo batterico.

9. CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

9.1 Misurazione di precisione

Per determinare la riproducibilità e la precisione del dosaggio Pastorex™ Meningitis è stato impiegato un pannello con 2 campioni. Il pannello di riproducibilità da 2 campioni comprendeva 1 campione negativo (non reattivo con tutti i reagenti al lattice) e 1 multipositivo composto da sette antigeni debolmente reattivi a R1, R3 R4, R5, R6, R7 e R8 e non reattivi a R2 e R9.

9.1.1 Ripetibilità

Il pannello di riproducibilità (N = 2) è stato testato in 10 repliche nello stesso giorno su un unico lotto di dosaggio Pastorex™ Meningitis e la lettura è stata eseguita da un solo operatore. I campioni negativo e positivo del pannello hanno dato gli stessi risultati previsti in tutte le 10 repliche.

Tabella I: Risultati di ripetibilità

Ripetibilità con il dosaggio Pastorex™ Meningitis		Membro del pannello negativo			Membro del pannello multipositivo		
Reagente al lattice	Rilevamento del ceppo	Ripetizioni totali	Non reattivo	Reattivo	Ripetizioni totali	Non reattivo	Reattivo
R1	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1	10	10	0	10	0	10
R2	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1 (Negative control Latex)	10	10	0	10	10*	0
R3	<i>H. influenzae</i> b	10	10	0	10	0	10
R4	<i>S. pneumoniae</i>	10	10	0	10	0	10
R5	<i>Streptococcus</i> B	10	10	0	10	0	10
R6	<i>N. meningitidis</i> A	10	10	0	10	0	10
R7	<i>N. meningitidis</i> C	10	10	0	10	0	10
R8	<i>N. meningitidis</i> Y/W135	10	10	0	10	0	10
R9	Negative polyvalent control Latex	10	10	0	10	10*	0

Nota: (*) = risultati previsti (R2 e R9 sono le sfere di lattice di controllo)

9.1.2 Precisione intermedia

Il pannello di riproducibilità (N = 2) è stato testato in 20 repliche da due operatori indipendenti che hanno eseguito 2 repliche al giorno per 5 giorni. Come mostra la tabella VIII, i campioni negativo e positivo del pannello hanno dato gli stessi risultati previsti in tutte le 20 repliche.

Tabella II: Risultati di precisione ciclo per ciclo, giorno per giorno e inter-operatore

Precisione per ciclo e per giorno con il dosaggio Pastorex™ Meningitis		Membro del pannello negativo			Membro del pannello multipositivo		
Reagente al lattice	Rilevamento del ceppo	Ripetizioni totali	Non reattivo	Reattivo	Ripetizioni totali	Non reattivo	Reattivo
R1	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1	20	20	0	20	0	20
R2	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1 (Negative control Latex)	20	20	0	20	20*	0
R3	<i>H. influenzae</i> b	20	20	0	20	0	20
R4	<i>S. pneumoniae</i>	20	20	0	20	0	20
R5	<i>Streptococcus</i> B	20	20	0	20	0	20
R6	<i>N. meningitidis</i> A	20	20	0	20	0	20
R7	<i>N. meningitidis</i> C	20	20	0	20	0	20
R8	<i>N. meningitidis</i> Y/W135	20	20	0	20	0	20
R9	Negative polyvalent control Latex	20	20	0	20	20*	0

Nota: (*) = risultati previsti (i reagenti R2 e R9 sono le sfere di lattice di controllo)

9.1.3 Precisione inter-lotto

Il pannello di precisione inter-lotto, comprendente soluzioni antigeniche meningee solubili reattive, ceppi meningei reattivi e non reattivi e due liquidi cerebrospinali di riferimento non reattivi, è stato testato su tre lotti del dosaggio Pastorex™ Meningitis. Come riportato nella tabella III sui risultati di agglutinazione, i campioni negativi e positivi del pannello hanno dato gli stessi risultati previsti con i tre lotti.

Tabella III: Risultati di precisione inter-lotto

Precisione inter-lotto con il dosaggio Pastorex™ Meningitis		Intensità dell'agglutinazione (da 0 a 3)*											
		Antigeni solubili			Pannello di ceppi			CSF-1 di riferimento			CSF-2 di riferimento		
Reagente al lattice	Rilevamento del ceppo	Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3
R1	<i>N. meningitidis</i> B	2,5-	2,5	2,5	3	3	3	0	0	0	0	0	0
	<i>E. coli</i> K1	n.d.			3	3	3						
R2	<i>N. meningitidis</i> B/ <i>E. coli</i> K1 (Negative control Latex)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R3	<i>H. influenzae</i> b	2,5	3	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
R4	<i>S. pneumoniae</i> **	1,5	2	2	3	3	2,5	0	0	0	0	0	0
		3	3	3									
R5	<i>Streptococcus</i> B	2,5	2,5	2	3	3	3	0	0	0	0	0	0
	<i>Streptococcus</i> A	n.d.			0	0	0	n.d.					
	<i>Streptococcus</i> C				0	0	0						
	<i>Streptococcus</i> D				0	0	0						
	<i>Streptococcus</i> F1				0	0	0						
	<i>Streptococcus</i> G				0	0	0						
R6	<i>N. meningitidis</i> A	2	3	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
R7	<i>N. meningitidis</i> C	3-	3	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
R8	<i>N. meningitidis</i> Y	2,5	2,5	3	n.d.			0	0	0	0	0	0
	<i>N. meningitidis</i> W135	1,5	2,5	2,5				0	0	0	0	0	0
R9	Negative polyvalent control Latex	n.d.			0	0	0	0	0	0	0	0	0

Note: n.d. = non determinato; (*) il valore dell'intensità di agglutinazione è stato indicato in maggiore dettaglio con il valore 0,5 e il suffisso + o - (ad es. 2,5+ è un numero compreso tra 2 e 3 caratterizzato da un'intensità leggermente superiore a 2,5-); (**) sono stati testati con il reagente al lattice R4 due soluzioni antigeniche solubili differenti di *Streptococcus pneumoniae* (03 e 9V).

9.2 Prestazioni diagnostiche

9.2.1 Specificità diagnostica

a. Specificità con campioni di CSF

Un numero massimo di 61 campioni di CSF sterili negativi noti è stato testato con il dosaggio Pastorex™ Meningitis. Tutti i campioni sono risultati negativi con qualsiasi reagente al lattice. La specificità del dosaggio Pastorex™ Meningitis è dunque del 100%. Alcuni di questi campioni sono stati contaminati artificialmente con batteri responsabili della meningite ma diversi da quelli rilevati dal dosaggio Pastorex™ Meningitis senza alcun effetto sulla specificità, che è rimasta pari al 100%.

Tabella IV: Specificità con CSF

Specificità su CSF	Rilevamento del ceppo	Campioni di CSF sterili			Campioni di CSF con contaminazione batterica		
		Campioni testati	Campioni non reattivi	Specificità (%)	Campioni testati	Campioni non reattivi	Specificità (%)
R1	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1	12	12	100	n.d.	n.d.	n.d.
R3	<i>H. influenzae</i> b	61	61	100	32	32	100
R4	<i>S. pneumoniae</i>	60	60	100	39	39	100
R5	<i>Streptococcus</i> B	49	49	100	58	58	100
R6	<i>N. meningitidis</i> A	52	52	100	50	50	100
R7	<i>N. meningitidis</i> C	52	52	100	56	56	100
R8	<i>N. meningitidis</i> Y/W135	40	40	100	40	40	100

b. Specificità con colonie da coltura batterica

La specificità testata con il reagente R1 su 53 ceppi appartenenti ai generi *Neisseria* (N=20 con *meningitidis* A, C, Y, W135 e altri), *Branhamella* (N=1), *Acinetobacter* (N=5), *Klebsiella* (N=6), *Streptococcus* (N=7 con *B. pneumoniae* e gli altri), *Haemophilus influenza* (N=6), *Serratia* (N=1 *marcescens*) ed *Enterobacter aerogenes* (N=1), *Pseudomonas aeruginosa* (N=2), *Escherichia coli* non K1 (N=4) è del 90,6% (48/53), con una certa reattività crociata. È stato ottenuto un risultato falso positivo con *Neisseria flavescens*, due falsi positivi con *Klebsiella pneumoniae* e due falsi positivi con ceppi di *Acinetobacter haemolyticus* e *Acinetobacter baumannii*.

La specificità testata con i reagenti da R3 a R7 su 330 ceppi appartenenti ai generi *Neisseria* (N ≤ 109), *Branhamella* (N ≤ 5), *Acinetobacter* (N ≤ 6), *Streptococcus* (N ≤ 11), *Klebsiella* (N ≤ 3), *Haemophilus* (N ≤ 10), *Escherichia coli* (N ≤ 1), *Moraxella* (N ≤ 3) e *Oligella* (N ≤ 1) è del 100%.

Tabella V: Specificità con colonie da coltura batterica

Specificità su colonie	Rilevamento del ceppo	Campioni testati	Campioni non reattivi	Specificità (%)
R1	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1	53	48 (*)	90,6
R3	<i>H. influenzae</i> b	31	31	100
R4	<i>S. pneumoniae</i>	33	33	100
R5	<i>Streptococcus</i> B	17	17	100
R6	<i>N. meningitidis</i> A	122	122	100
R7	<i>N. meningitidis</i> C	127	127	100

Nota: (*) reattività crociata con i ceppi: è stato ottenuto un risultato falso positivo con *Neisseria flavescens*, due falsi positivi con *Klebsiella pneumoniae* e due falsi positivi con ceppi di *Acinetobacter haemolyticus* e *Acinetobacter baumannii*.

c. Specificità con emocoltura

La specificità testata con il reagente R1 su 39 emocolture con ceppi identificati appartenenti ai generi *Acinetobacter* (N=2), *Candida* (N=1), *Klebsiella* (N=7), *Staphylococcus* (N=16), *Serratia* (N=1), *Micrococcus* (N=2), *Enterobacter* (N=3) e *Escherichia coli* (N=7) è del 97,4% (38/39), con una reattività crociata minima (è stato ottenuto un risultato falso positivo con ceppi di *Klebsiella pneumoniae*).

La specificità testata con i reagenti da R3 a R7 su 37 campioni da emocoltura è del 100%.

Tabella VI: Specificità con emocoltura

Specificità su colonie	Rilevamento del ceppo	Campioni testati	Campioni non reattivi	Specificità (%)
R1	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1	39	38 (*)	97,4
R3	<i>H. influenzae</i> b	37	37	100
R4	<i>S. pneumoniae</i>	37	37	100
R5	<i>Streptococcus</i> B	37	37	100
R6	<i>N. meningitidis</i> A	37	37	100
R7	<i>N. meningitidis</i> C	37	37	100

Nota: (*) Reattività crociata: è stato ottenuto un risultato falso positivo con *Klebsiella pneumoniae*.

9.2.2 Sensibilità diagnostica

a. Sensibilità con campioni di CSF

La sensibilità testata su 77 campioni di CSF positivi è risultata compresa tra il 91,7% e il 100% a seconda dei reagenti al lattice.

Tabella VII: Sensibilità con CSF

Sensibilità su CSF	Rilevamento del ceppo	Campioni testati	Campioni reattivi	Sensibilità (%)
R1	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1	3	3	100
R3	<i>H. influenzae</i> b	34	33	97,1
R4	<i>S. pneumoniae</i>	24	22	91,7
R5	<i>Streptococcus</i> B	1	1	100
R6	<i>N. meningitidis</i> A	12	12	100
R7	<i>N. meningitidis</i> C	3	3	100

b. Sensibilità con colonie da coltura batterica

La sensibilità testata su 95 ceppi è del 100%.

Tabella VIII: Sensibilità con colonie da coltura batterica

Sensibilità su colonie	Rilevamento del ceppo	Campioni testati	Campioni reattivi	Sensibilità (%)
R1	<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1	10 (*)	10	100
R3	<i>H. influenzae</i> b	17	17	100
R4	<i>S. pneumoniae</i>	15	15	100
R5	<i>Streptococcus</i> B	15	15	100
R6	<i>N. meningitidis</i> A	22	22	100
R7	<i>N. meningitidis</i> C	16	16	100

Nota: (*) sono stati testati con il lattice R1 10 ceppi (9 *N. meningitidis* e 1 *E. coli* K1).

c. Sensibilità con emocoltura

La sensibilità testata su 4 campioni da emocoltura con i reagenti R4 (lattice per *S. pneumoniae*) e R5 (lattice per *Streptococcus B*) è del 100%.

Tabella IX: Sensibilità con emocoltura

Sensibilità su emocoltura	Rilevamento del ceppo	Campioni testati	Campioni reattivi	Sensibilità (%)
R4	<i>S. pneumoniae</i>	2	2	100
R5	<i>Streptococcus B</i>	2	2	100

9.3 Sensibilità analitica

La sensibilità analitica del dosaggio Pastorex™ Meningitis è stata determinata per ciascun reagente al lattice utilizzando diluizioni seriali degli antigeni meningei corrispondenti a concentrazioni note fino all'assenza di rilevamento. La tabella X sintetizza la concentrazione rilevabile minima per ciascuno dei reagenti al lattice Pastorex™.

Tabella X: Sensibilità analitica del dosaggio Pastorex™ Meningitis

Reagente al lattice	Rilevamento del ceppo	Soglia di sensibilità (ng/ml)
R1	<i>N. meningitidis B/E. coli K1</i>	62,5
R3	<i>H. influenzae b</i>	0,1
R4	<i>S. pneumoniae</i>	95
R5	<i>Streptococcus B</i>	20
R6	<i>N. meningitidis A</i>	2,5
R7	<i>N. meningitidis C</i>	2,5
R8	<i>N. meningitidis Y</i>	5,0
	<i>N. meningitidis W135</i>	2,5

9.4 Specificità analitica/reattività crociata

Vedere il capitolo 9.2.1 Specificità diagnostica con emocoltura o colonie da coltura batterica.

9.5 Effetto gancio

È stata studiata l'esistenza di un possibile effetto gancio testando campioni di CSF artificiali negativi con soluzione antigenica a 100 µg/ml come campione a titoli alti a varie diluizioni. L'equivalenza dei risultati osservati tra i campioni diluiti e non diluiti mostra l'assenza dell'effetto gancio sui campioni testati.

10. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- DENIS F., SAULNIER M. et CHIRON J.P. Diagnostic étiologique rapide des méningites purulentes par agglutination passive indirecte de particules de latex et par contre-immunoélectrophorèse : expérience et perspectives. *Bull. O.M.S.*, 1981, 59, 143-151.
- ESCMID Guideline: diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis. 2016 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Microbiol Infect* 2016; 22: S37-S62.
- Center for Diseases Control and Prevention. Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis Caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*. Second edition (2011). Chapter 13: Quality Control/Quality Assurance.
- Systematic review of Rapid Diagnostic Tests for the diagnosis of meningitis in outbreak response in sub-Saharan Africa. Report for *WHO Meningitis guideline revision*. April 2014.
- TESSIER F. Dépistage et identification des streptocoques du groupe B. Intérêt en périmatologie. Extrait de LABORAMA n°14, oct. 1982, Institut Pasteur Production edit.
- KACZMAREK A. et al. Detection of K1 antigen of *Escherichia coli* rods isolated from pregnant women and neonates. *Folia Microbiol* (2014) 59:419-422.
- ROBBINS J.B., Mc CRACKEN G.H. Jr., GOTSCHLICH G.C., ORSKOV F., ORSKOV I., HANSON L.A. *Escherichia coli* K1 capsular polysaccharide associated with neonatal meningitis. *New Engl. J. Med.* 1974, 290, 1216-1220.

8. LUND E. and HENRICHSEN J. Laboratory diagnosis, serology and epidemiology of *Streptococcus pneumoniae*. In Methods in Microbiology, T. Bergan and J.R. Norris edit., 1978, 12, chap. XI, 241-262 (Academic press, London, New-York, San Francisco).
9. CARBONNELLE E. Apport des examens biologiques dans le diagnostic positif, la détermination de l'étiologie et le suivi d'une méningite suspectée bactérienne. *Médecine et maladies infectieuses* 39 (2009) 581–605.
10. ASTIER-THEFENNE et al. Rapid diagnostic test and epidemics of bacterial infectious diseases. *Revue francophone des laboratoires* - Juillet/Août 2015 - N°474.
11. CHAÏBOU et al. *Streptococcus pneumoniae* invasive infections in Burkina Faso, 2007 to 2011. *Médecine et maladies infectieuses* 44 (2014) 117–122.
12. LEINONEN M. and HERVA E. The latex agglutination test for the diagnosis of meningococcal and *Haemophilus influenzae* meningitis. *Scand. J. Infect.*, 1977, 9, 187-191.
13. NEWMAN R.B., STEVENS R.W. and GAAFAR H.A. Latex agglutination test for the diagnosis of *Haemophilus influenzae* meningitis. *J. Lab. Clin. Med.*, 1970, 76, 107-113.
14. DJIBO S. et al. Evaluation of the Pastorex® Meningitis kit for the rapid identification of *Neisseria meningitidis* serogroups A and W135 (Burkina Faso). *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2006 Jun; 100(6):573-8.
15. BOREL et al. - High sensitivity and specificity of the Pastorex® latex agglutination test for *Neisseria meningitidis* serogroup A during a clinical trial in Niger. 2006.
16. UADIALEA K. et al, Evaluation of Pastorex Meningitis kit performance for the rapid identification of *Neisseria meningitidis* serogroup C in Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2016; 110: 381–385.
17. DENIS F. et MOUNIER M. Le diagnostic rapide des méningites cérébro-spinales: techniques, résultats, limites et perspectives. *Méd. Mal. Infect.*, 1984, 14, 27-36.
18. BRADSHAW M.W., CHNEERSON R., PARKE J.C. Jr., ROBBINS J.B. Bacterial antigens cross-reactive with the capsular polysaccharide of *Haemophilus influenzae* type b. *Lancet*, 1971, i (May 29), 1095-1097.
19. KASPER D.L., WINKELHAKE J.L., ZOLLINGER W.D., BRANDT B.L., and ARTENSTEIN M.S. Immunochemical similarity between polysaccharide antigens of *Escherichia coli* 07:K1 (L): NM and group B *Neisseria meningitidis*. *J. Immunol.*, 1973, 110, 262-268.
20. LEE P.C. and WETHERALL B.L. Cross-reaction between *Streptococcus pneumoniae* and group C streptococcal latex reagent. *J. Clin. Microbiol.*, 1987, 25, 152-153.

- (BG)** • Този продукт съдържа човешки или животински компоненти. Бъдете внимателни при работа с него.
- (CZ)** • Tento výrobek obsahuje lidské nebo zvířecí komponenty. Zacházejte s ním opatrně.
- (DE)** • Dieses Produkt enthält Bestandteile menschlichen oder tierischen Ursprungs. Vorsichtig handhaben.
- (DK)** • Dette produkt indeholder humane og animalske komponenter. Skal behandles med forsigtighed.
- (EE)** • Käesolev toode sisaldab inim-või loomseid komponente. Käsitseta ettevaatlikult.
- (EN)** • This product contains human or animal components. Handle with care.
- (ES)** • Este producto contiene componentes humanos o animales. Manejar con cuidado.
- (FI)** • Tässä tuotteessa on ihmisestä tai eläimestä peräisin olevia osia. Käsittele varovasti.
- (FR)** • Ce produit contient des composants d'origine humaine ou animale. Manipuler avec précaution.
- (GR)** • Αυτό το προϊόν περιέχει ανθρώπινα ή ζωικά στοιχεία. Χειριστείτε το με προσοχή.
- (HR)** • Ovaj proizvod sadrži ljudske ili životinjske sastojke. Pažljivo rukovati.
- (HU)** • A készítmény emberi vagy állati eredetű összetevőket tartalmaz. Óvatosan kezelendő.
- (IT)** • Questo prodotto contiene componenti umane o animali. Maneggiare con cura.
- (LT)** • Šiame produkto yra žmogiškosios arba gyvūninės kilmės sudėtiniai dalys. Elgtis atsargiai.
- (LV)** • Šis produkts satur cilvēkiem vai dzīvniekiem paredzētas sastāvdaļas. Apieties uzmanīgi.
- (NL)** • Dit product bevat menselijke of dierlijke bestanddelen. Breekbaar.
- (NO)** • Dette produktet inneholder humane eller animalske komponenter. Håndteres med forsiktighet.
- (PL)** • Niniejszy produkt zawiera składniki pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego. Należy obchodzić się z nim ostrożnie.
- (PT)** • Este medicamento contém componentes de origem humana ou animal. Manuseie com cuidado.
- (RO)** • Acest produs conține materiale de origine umană sau animală. Manevrați-l cu grijă.
- (SE)** • Denna produkt innehåller beståndsdelar från människa eller djur. Hantera produkten varsamt.
- (SI)** • Izdelek vsebuje človeške ali živalske sestavine. Rokujte previdno.
- (SK)** • Tento výrobok obsahuje ľudské alebo zvieracie zložky. Narábajte s ním opatrne.



Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette - France
Tel.: +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax: +33 (0) 1 47 41 91 33
www.bio-rad.com



2017/02
881193

