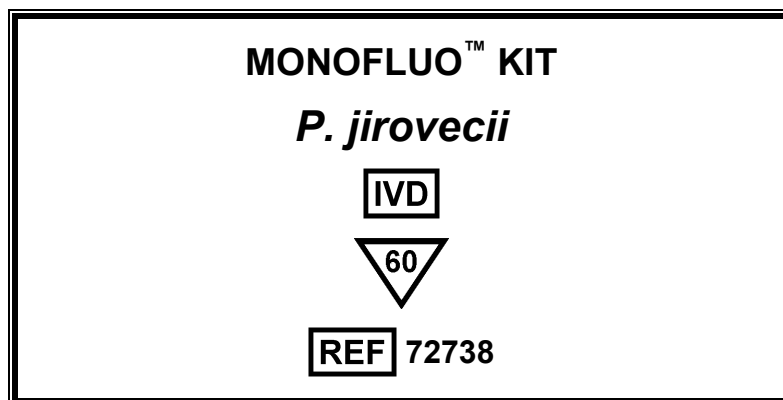




An Indirect Immunofluorescence Test for the Detection of P. jirovecii in Human Clinical Specimens / Test d'immunofluorescence indirecte pour la détection de P. jirovecii dans les échantillons cliniques humains / Prueba indirecta de inmunofluorescencia para la detección de P. jirovecii en muestras clínicas humanas / Indirekter Immunofluoreszenztest (IFFT) zur Bestimmung von P. jirovecii in Humanproben / Test di immunofluorescenza indiretta per la rivelazione di P. jirovecii in campioni clinici umani / Teste de imunofluorescência Indirecta para Detecção de P. jirovecii em Amostras Clínicas de Origem Humana / En indirekte immunofluorescens test for opdagelse af P. jirovecii i kliniske humanprøver / En indirekt immunofluorescenstest för detektion av P. jirovecii i humana kliniska prov / Μια εξέταση έμμεσου ανοσοφθορισμού για την ανίχνευση της P. jirovecii σε ανθρώπινα κλινικά δείγματα

FOR PROFESSIONAL USE ONLY
USAGE RESERVE AUX PROFESSIONNELS
PARA USO PROFESIONAL ÚNICAMENTE
AUSSCHLIESSLICH FÜR BERUFLICHE ZWECKE
SOLO PER USO PROFESSIONALE
EXCLUSIVAMENTE PARA USO PROFISSIONAL
KUN TIL FAGLIGT BRUG
ENDAST FÖR PROFESSIONELL ANVÄNDNING
ΓΙΑ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ ΜΟΝΟ



Axis-Shield Diagnostics Limited
The Technology Park, Dundee DD2 1XA
United Kingdom
Tel. : +44 (0) 1382 422000
Fax. : +44 (0) 1382 422088

DISTR.

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



Il test MONOFLUO™ KIT *P. jirovecii* consta di un kit di immunofluorescenza indiretta qualitativa per la rivelazione di oocisti di *P. jirovecii* nel liquido del lavaggio broncoalveolare e nell'escreato indotto umani. È indicato quale mezzo diagnostico adiuvante nei casi di sospetta infezione da *P. jirovecii*. I risultati vanno interpretati alla luce di tutti i dati clinici e diagnostici.

INTRODUZIONE

Pneumocystis jirovecii (*P. carinii*) è un organismo eucariote unicellulare presente nei polmoni di molte specie di mammiferi, incluso l'uomo. Fino a poco tempo fa, i microrganismi del genere *Pneumocystis* presenti nell'uomo venivano classificati come *P. carinii* forma specialis hominis: il nome della sottospecie distingueva gli *Pneumocystis* presenti nell'uomo da quelli presenti in altri mammiferi. Recentemente, i microrganismi del genere *Pneumocystis* presenti nell'uomo sono stati considerati come appartenenti ad una specie distinta, specie che è stata chiamata *Pneumocystis jirovecii*¹.

Tale organismo si diffonde per via aerea, causando normalmente un'infezione asintomatica. È un patogeno importante nei soggetti immunocompromessi, in particolare nei pazienti affetti da AIDS^{2,3}, nei quali è causa accertata di infezione polmonare. I fattori che sembrano aumentare la possibilità di insorgenza di pneumocistosi sono: malnutrizione, neoplasie ematologiche, malattie vascolari del collagene, immunodeficienza cellulare primaria e terapia immunosoppressiva, ad esempio nei pazienti trapiantati e leucemici sottoposti a terapia citotossica.

La pneumocistosi può avere esordio apparentemente rapido oppure insidioso. Nei casi in cui è clinicamente evidente, i sintomi sono un'aumentata frequenza respiratoria e picchi di febbre. Le lastre del torace mostrano un infiltrato diffuso; i test di funzionalità polmonare evidenziano blocco alveolo-capillare, che porta a compromissione dello scambio gassoso a livello alveolare, con conseguente ipossiemia e ipercapnia.

Al momento attuale, una diagnosi di pneumocistosi può essere ottenuta mediante la rivelazione di *P. jirovecii* nel materiale prelevato mediante biopsia polmonare transbronchiale o a cielo aperto, nel lavaggio broncoalveolare^{4,5} o nell'escreato indotto. Può essere visualizzato mediante svariate colorazioni aspecifiche, tra cui argento-metenamina secondo Gomori, blu di toluidina O, Gram-Weigart, Giemsa e Wright-Giemsa. Dato che tutte queste colorazioni reagiscono con i lieviti e altre strutture, *P. jirovecii* viene differenziato sulla base della sua morfologia. Le tecniche di colorazione richiedono molto tempo e, spesso, un elevato livello di esperienza nell'interpretazione dei risultati. La disponibilità di anticorpi monoclonali specifici per le oocisti di *P. jirovecii* ha consentito lo sviluppo di metodiche di immunofluorescenza, capaci di identificare rapidamente e inequivocabilmente le oocisti di *P. jirovecii* nel materiale broncoalveolare^{6,7} e nell'escreato indotto^{8,9}. Il test MONOFLUO™ KIT *P. jirovecii* utilizza un anticorpo monoclonale murino, che reagisce verso il *P. jirovecii* umano e dei roditori, in un test semplice e rapido per la rivelazione e l'identificazione di *P. jirovecii* nel liquido del lavaggio broncoalveolare (BAL) ed escreato indotto (IS).

PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

I campioni di liquido del lavaggio broncoalveolare o di escreato indotto pretrattato vengono centrifugati e lavati. I pellet vengono quindi risospesi, depositati su vetrini ed infine fissati. I campioni vengono digeriti dagli enzimi. Dopo la fase di incubazione, risciacquo, asciugatura con materiale assorbente e asciugatura all'aria, si aggiungono, a turno, l'anticorpo murino anti-*P. jirovecii* e l'anticorpo antimurino marcato per fluorescenza. Al microscopio a fluorescenza, le oocisti sono di colore verde-mela da medio brillante a brillante e possono essere uniformemente o irregolarmente marcate. La presenza di oocisti di *P. jirovecii* nel liquido del lavaggio broncoalveolare o nell'escreato indotto indica infezione da *P. jirovecii*.

COMPONENTI DEL KIT

A	Anticorpo monoclonale anti- <i>P. jirovecii</i>	1 × 1ml	Anticorpo monoclonale murino anti- <i>P. jirovecii</i> , siero albumina bovina, 0,1% (p/v) sodio azide. Pronto per l'uso.	
B	Anticorpo antimurino coniugato con FITC	1 × 1ml	Anticorpo antimurino coniugato con fluoresceina isotiocianato (FITC), controcolorante blu Evans. Pronto per l'uso.	
C	Enzima (liofilizzato)	1 flaconcino	Enzima per il pretrattamento dei campioni clinici. Ricostituire con 200 µl di HCl 0,001M (fornito) e diluire prima dell'uso.	
D	Acido cloridrico diluito (HCl 0,001M)	1 × 0,5ml	Per la ricostituzione dell'enzima. Pronto per l'uso.	
E	Diluente di enzimi	1 × 3ml	Tampone Tris con attivatore enzimatico. Pronto per l'uso.	
	Vetrini per campioni	25 vetrini	Vetrini (gialli) rivestiti in PTFE con quattro pozzetti quadrati.	
F	Mezzo di montaggio	2 × 3ml	Glicerolo tamponato con fosfato, ritardante fotodecolorante Citifluor. Pronto per l'uso.	
	Foglio illustrativo			

CONSERVAZIONE DEI REAGENTI

Note sulla manipolazione e sulla procedura

- Conservare i componenti del kit a temperature comprese tra 2°C e 8°C fino alla data di scadenza riportata sulle etichette. Non utilizzare i reagenti scaduti.
- Non mescolare tra loro kit diversi.
- Non congelare i kit.
- Ricostituire l'enzima liofilizzato prima dell'uso; si rinvia alla sezione Preparazione del dosaggio. Tutti gli altri reagenti sono pronti per l'uso.
- Dopo la ricostituzione con 200 µl di HCl 0,001M, l'enzima liofilizzato è stabile fino a 3 mesi dalla data di ricostituzione, se conservato a temperature di 2-8°C.
- Conservare il mezzo di montaggio senza esporlo alla luce. Conservare a 2-8°C o a 18-25°C.
- I vetrini per campioni possono essere conservati a temperature di 18-25°C.
- È possibile la formazione di un precipitato nel diluente enzimatico; in tale evenienza, non cercare di dissolverlo nuovamente, in quanto l'efficacia del test non è influenzata negativamente dal precipitato.
- Evitare di contaminare i reagenti. Per ciascun reagente o a ogni manipolazione dei campioni, utilizzare un nuovo puntale per le pipette.

Raccolta, conservazione e pretrattamento dei campioni

Il dosaggio è indicato per l'uso con campioni di lavaggio broncoalveolare e di escreto indotto umani. Si dovrebbero raccogliere fino a 30 ml di lavaggio broncoalveolare e 2-4 ml di escreto indotto in contenitori sterili, seguendo procedure appropriate; testare i campioni al più presto dopo averli raccolti. Per inattivare virus dell'immunodeficienza umana eventualmente presenti, si consiglia caldamente di diluire la sospensione del materiale clinico con un volume equivalente di etanolo assoluto e di incubare per dieci minuti a temperatura ambiente (18-25°C) prima del trattamento. Smaltire i materiali di rifiuto in conformità alle norme locali.

Prima di eseguire il test, pretrattare campioni di escreto (omogeneizzazione o incubazione) aggiungendo "Sputasol", "Sputolysin" o mucolitici simili per dieci minuti a temperatura ambiente (18-25°C).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Per solo uso diagnostico in vitro.

Precauzioni di sicurezza

- Attenersi strettamente alle istruzioni contenute in questo opuscolo, in particolare per quanto concerne le condizioni di manipolazione e di conservazione dei reagenti del kit e dei campioni clinici.
- Tutti i campioni dei pazienti vanno considerati come potenzialmente infetti e, pertanto, vanno manipolati osservando le stesse precauzioni adottate per altri materiali potenzialmente biopercorosi. Nel manuale CDC/NIH Health Manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 5ª edizione, 2007, viene descritto come manipolare questi materiali, conformemente alla buona pratica di laboratorio.¹⁵
- Non pipettare con la bocca.
- Non fumare, non mangiare, non bere né usare cosmetici in aree dove vengono manipolati i kit e campioni.
- Proteggere adeguatamente qualsiasi eruzione cutanea, taglio, abrasione o altre lesioni cutanee.

6. L'anticorpo anti-*P. jirovecii* e il coniugato FITC contengono azide sodica, che reagisce con tubature in piombo e rame, formando azidi metalliche altamente esplosive. Smaltire negli scarichi con acqua abbondante per evitare l'accumulo di azide.
7. Le schede dei dati di sicurezza per tutti i componenti pericolosi contenuti in questo kit sono disponibili a richiesta presso Bio-Rad.



A ANTICORPO

Nocivo

R22: Nocivo per ingestione.

R32: A contatto con acidi libera gas molto tossico.

S23: Non respirare i fumi.

S36: Usare indumenti protettivi adatti.

S60: Questo materiale e il suo contenitore devono essere smaltiti come rifiuti pericolosi.



A ANTICORPO

Nocivo

R42: Può provocare sensibilizzazione per inalazione.

S22: Non respirare le polveri.

S26: In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico.

S36/37: Usare indumenti protettivi e guanti adatti.

S45: In caso di incidente o di malessere consultare immediatamente il medico (se possibile, mostrargli l'etichetta).

S60: Questo materiale e il suo contenitore devono essere smaltiti come rifiuti pericolosi.

P R E P A R A Z I O N E

Materiali e attrezzature richiesti ma non forniti

1. Pipette di precisione per dispensare 5 µl, 15 µl, 20 µl e 200 µl.
2. Centrifuga per volumi fino a circa 30 ml a 3.000 x g.
3. Acqua distillata/ultrapura.
4. Flacone di lavaggio contenente acqua distillata/ultrapura.
5. Acetone Analar o di grado equivalente.
6. Incubatore a 37°C.
7. Camera di incubazione per vetrini umidificata a 37°C.
8. Coprivetrini per microscopio, 18 x 18 mm e 50 x 20 mm.
9. Microscopio UV, attrezzato per visualizzare la fluoresceina o fluorescenza blu Evans.
10. Citocentrifuga (ad es. Cytospin 2), opzionale.
11. Timer per 5 - 30 minuti.
12. Materiale/carta assorbente.
13. Mucolitico appropriato per i campioni di escreato indotto, ad es. Sputolysin (Behring Diagnostic) o Sputasol (Oxoid). Utilizzare come raccomandato dal produttore, oppure utilizzare una soluzione di ditiotreitolo 0,1% (p/v) in rapporto 1:1 con il volume del campione ed incubare a 37°C per il tutto il tempo richiesto.
N.B. Il ditiotreitolo può irritare occhi e cute. Se viene a contatto con gli occhi o la cute, irrigare con acqua per almeno 10 minuti. In caso di fastidio, rivolgersi al medico.

Preparazione del dosaggio

Riequilibrare i reagenti a temperatura ambiente.

Ricostituire l'enzima liofilizzato con 200 µl di HCl 0,001M; si otterrà un concentrato di 10 volte. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta e lasciare a temperatura ambiente (18°-25°C) per dieci minuti. Miscelare delicatamente per inversione, verificando che tutto il materiale particolato sia nella soluzione. L'enzima ricostituito è stabile per 3 mesi a temperature di 2-8°C.

P R O T O C O L L O P E R I L D O S A G G I O

Pretrattamento dei campioni

I campioni dei pazienti devono essere testati al più presto dopo averli raccolti. Durante l'esecuzione di un dosaggio, l'operatore deve essere consapevole del potenziale stato HIV dei campioni, per cui si raccomanda di prendere tutte le precauzioni necessarie nella manipolazione dei campioni.

I campioni di escreato indotto vanno pretrattati con un mucolitico, ad es. Sputasol. I campioni non mucoidi, quali i BAL, non richiedono, di regola, una procedura mucolitica.

Protocollo

1. Centrifugare i campioni per 15 minuti a 3.000 x g, quindi lavare il materiale particolato/pellettabile in acqua distillata/ultrapura. Ripetere una o due volte, per verificare che il pellet sia completamente risospeso tra i lavaggi.
2. Risospendere il pellet finale in una piccola quantità di acqua distillata/ultrapura, di modo che la densità del materiale non sia eccessiva, quindi agitare con il Vortex.
3. Depositare 10-20 µl sull'intera superficie di uno o più pozzetti di vetrini. Evaporare a secco a 37°C. Se è disponibile una citocentrifuga (ad es. Cytospin 2), centrifugare 0,4 – 0,5 ml di BAL o IS a 900 rpm, utilizzando un filtro bianco ed uno marrone chiaro.
4. Fissare i campioni, depositando 1-2 gocce di acetone Analar (o di qualità equivalente). Lasciar evaporare a temperatura ambiente.
5. **Sciacquare i preparati centrifugati, facendo scorrere dell'acqua distillata/ultrapura per rimuovere i sali dai campioni, poiché essi riducono l'efficacia della digestione enzimatica.**
6. Asciugare i vetrini all'aria.
7. **Diluire 1 a 10 (1+9) l'enzima ricostituito con il diluente per enzimi.** Diluire solo la quantità di enzima ricostituito sufficiente per i requisiti immediati.
8. Depositare **20 µl** di enzima diluito sui campioni asciutti e fissati, verificando che l'intera superficie del pozzetto sia coperta dal reagente.
9. Incubare i vetrini per 30 minuti **ESATTAMENTE** in una camera umidificata, impostata a 37°C. Un periodo di incubazione superiore ai 30 minuti comporta la digestione eccessiva delle oocisti, che possono presentare caratteristiche meno evidenti e, pertanto, possono essere meno facilmente identificabili.
10. Sciacquare i vetrini con acqua distillata/ultrapura facendo scorrere dell'acqua sopra la superficie dei pozzetti. Non lavare i pozzetti con un getto diretto di acqua.
11. Asciugare i vetrini dapprima con carta assorbente e quindi all'aria.
12. Aggiungere ai campioni **15 µl** di anticorpo anti-*P. jirovecii*, verificando che l'intera superficie del pozzetto sia coperta dal reagente. Incubare in una camera umidificata per 15 minuti a 37°C.
13. Sciacquare i pozzetti come descritto al punto 10; asciugare dapprima con carta assorbente e quindi all'aria.
14. Aggiungere ai campioni **15 µl** di anticorpo antimurino coniugato con FITC, verificando che l'intera superficie del pozzetto sia coperta dal reagente. Incubare in una camera umidificata per 15 minuti a 37°C.
15. Sciacquare i pozzetti, asciugare dapprima con carta assorbente e quindi all'aria.
16. Depositare una goccia di mezzo di montaggio su ogni pozzetto utilizzato, quindi coprire con un coprivetrino di misura adatta. Capovolgere il vetrino su carta assorbente e premere delicatamente per assorbire l'eccesso di mezzo di montaggio ed evitare la formazione di bollicine d'aria.
17. Esaminare i campioni per verificare la presenza di oocisti di colore verde-mela da brillante a medio brillante, che possono essere marcate uniformemente o irregolarmente. I detriti cellulari e altro materiale possono essere controcolorati in blu Evans, che dà una colorazione rossa. Esaminare l'intera superficie dei campioni.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

RISULTATO POSITIVO: cinque o più oocisti fluorescenti sull'intera superficie del vetrino.

RISULTATO EQUITIVO: da una a cinque oocisti fluorescenti.

RISULTATO NEGATIVO: nessuna oocisti fluorescente. Se si sospetta ancora infezione da *P. jirovecii*, ripetere il test con un inoculo più pesante.

DATI SULLE PRESTAZIONI

PRIMO CENTRO¹⁰

223 campioni di BAL e IS, prelevati da pazienti HIV-positivi, presentanti sintomi alle vie respiratorie, sono stati valutati e confrontati con la colorazione Grocott modificata. Concordezza totale = 90,6%.

Dei 21 (9,4%) risultati discrepanti, si sono ottenuti ulteriori sei campioni; cinque dei sei risultati erano positivi in entrambi i test.

SECONDO CENTRO⁸

135 campioni di IS sono stati valutati e confrontati con la colorazione Grocott modificata. Concordezza totale = 88,9%.

Quindici risultati (11,1%) erano positivi/equivoci con il test MONOFLUO™ KIT *P. jirovecii* e negativi con il Grocott. Gli autori hanno concluso che tale discrepanza è indice di un'aumentata sensibilità alla *P. jirovecii* nei preparati citologici di IS, testati mediante immunofluorescenza rispetto alle tecniche di colorazione tradizionali.

TERZO CENTRO⁹

254 campioni di BAL e IS, prelevati da 75 pazienti affetti da AIDS, da altri immunocompromessi, compresi pazienti trapiantati, e da pazienti con diagnosi di "polmonite atipica" sono stati valutati e confrontati mediante colorazione Grocott. Concordeza totale = 94,1%.

Quindici risultati (5,9%) erano positivi/equivoci con il test MONOFLUO™ KIT *P. jirovecii* e negativi con il Grocott. Gli autori hanno concluso che il test MONOFLUO™ KIT *P. jirovecii* presenta maggiore affidabilità e sensibilità della tecnica Grocott.

QUARTO CENTRO⁶

50 campioni di BAL e 50 di IS sono stati esaminati per rilevare infezione da *P. jirovecii*, utilizzando le metodiche di immunofluorescenza indiretta, immunofluorescenza diretta, colorazione Wright-Giemsa modificata e colorazione argentea modificata. La definizione di campione positivo era qualsiasi striscio che presentasse positività a due o più metodiche.

Adottando questo parametro, la sensibilità e specificità di MONOFLUO™ KIT *P. jirovecii* erano le seguenti.

BAL Sensibilità = 86% Specificità = 100%

IS Sensibilità = 97% Specificità = 100%

QUINTO CENTRO

152 campioni di BAL, prelevati da pazienti con evidenza clinica di pneumocistosi sono stati valutati e confrontati con la tecnica di colorazione Grocott. I risultati di ogni metodica sono stati confrontati con l'evidenza clinica di pneumocistosi (PCP). In cinque casi, il risultato dell'evidenza clinica era equivoco; quattro erano positivi con il test Detect IF e negativi con il Grocott ed uno era positivo con il Grocott e negativo con MONOFLUO™ KIT *P. jirovecii*.

Concordeza totale di MONOFLUO™ KIT *P. jirovecii* con evidenza clinica di PCP = 146/147 = 99,3% (un risultato era equivoco con IF)

Concordeza totale della colorazione Grocott con evidenza clinica di PCP = 140/147 = 95,2%

Concordeza totale di MONOFLUO™ KIT *P. jirovecii* con Grocott = 94,5%

LIMITI D'IMPIEGO

1. Un risultato negativo non esclude la possibilità di infezione da *P. jirovecii*. I risultati vanno pertanto interpretati alla luce di tutti i dati clinici e diagnostici. Se del caso, prelevare un ulteriore campione.
2. Eccessiva mucosa nei campioni può impedire una colorazione adeguata.
3. L'anticorpo antitopo coniugato FITC possiede la capacità di originare una reazione crociata con *Candida albicans* quando è presente nei campioni dei pazienti, che possono essere fraintesi come risultati falsamente positivi.¹⁶

REFERENCES

REFERENCES / REFERENCIAS / VERWEISE BIBLIOGRAPHIA / BIBLIOGRAFIA / REFERENCER REFERENSER / ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Stringer JR, Beard CB, Miller RF, Wakefield AE: A New Name (*Pneumocystis jiroveci*) for *Pneumocystis* from Humans. *Emerg Infect Dis* **8(9)**:891-896, 2002.
2. Kovacs JA et al. Diagnosis of *Pneumocystis carinii* Pneumonia: Improved Detection in Sputum with use of Monoclonal Antibodies. *The New Eng J Med*, March 10 1988, **318** No. 10, 499-593.
3. Posner D, Khan FA. Respiratory Infections in AIDS. A Comprehensive Care Approach. *J Respir Dis*, **June 1987**, 83-94.
4. Broaddus CM et al. Bronchoalveolar Lavage and Transbronchial Biopsy for the Diagnosis of Pulmonary Infections in the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Ann Intern Med*, **102**, 747-752, 1985.
5. Mills J. *Pneumocystis carinii* and *Toxoplasma Gondii* Infections in Patients with AIDS. *Rev Infect Dis*, **8**, 1001-1011.
6. Cregan P et al. Comparison of Four Methods for the Rapid Detection of *Pneumocystis carinii* in Respiratory Systems. *J Clin Microb*, **28** No. 11, 2432-2436, 1990
7. Dournon E et al. Diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia by non-experts. *The Lancet*, **Jan 14 1989**, 107-108.
8. Midgley J et al. Increased Sensitivity of Immunofluorescence for the Detection of *Pneumocystis carinii*. *The Lancet*, **Dec 23/30 1989**, 1523.
9. Magee JG et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia: Detection of Parasites by Immunofluorescence Based on a Monoclonal Antibody. *Medical Laboratory Sciences*, **48**, 235-237, 1991.
10. Midgley J et al. Monoclonal Immunofluorescence Compared with Silver Stain for Investigating *Pneumocystis carinii* pneumonia. *J Clin Path*, **44**, 75-76, 1991.
11. Gill VJ et al. Detection of *Pneumocystis carinii* by Fluorescent-Antibody Stain Using a Combination of Three Monoclonal Antibodies. *J Clin Microbiol*. **25 No. 10**, 1837-1840, 1987.
12. Datry A., Rozenbaum W., Rosenheim M., Danis M., Duflo B. et Gentilini M. - Parasitoses Opportunistes et SIDA. Méthodes de diagnostic. Feuil. Biol., 1985, **XXVI**, 41-46.
13. Petithory J.C., Derouin F., Ardoin F. - Les parasitoses dans le SIDA. Rev. Franç. Lab., Suppl : 15 ème Congrès National des Biologistes des Hôpitaux Généraux, Port Barcarès, Sept. 1986, 21-36.
14. Medrano F, Montes-Cano M, Conde M, de la Horra C, Respaldiza N, Gasch A, Perez-Lozano MJ, Varela JM, Calderon EJ: *Pneumocystis jirovecii* in general population. *Emerg Infect Dis* **11(2)**:245-50,2005.
15. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, Fifth Edition. Washington, DC: US Government Printing Office, January, 2007.
16. Koch M & Heizmann W. Problems in the Detection of *Pneumocystis carinii* by Indirect Immunofluorescence. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect Dis*, **1**, 58-59, 1990



For in vitro diagnostic use / Pour diagnostic in vitro / Para uso diagnóstico in vitro
In Vitro Diagnosticum / Per uso diagnostico in vitro
Para utilizar no diagnóstico *in vitro* / Kun for in vitro diagnostik.
För diagnostisk användning in vitro / Για διαγνωστική χρήση in vitro



Catalogue number / Numero catalogue / Numero de catalogo / Bestellnummer
Numero di catalogo / Número de catálogo Bestillingsnummer / Katalognummer
Αριθμός καταλόγου



Lot / Lot / Lote / Ch.-B. / Lotto
Lote / Parti / Lot / Παρτίδα



60 tests / 60 determinations / 60 pruebas / 60 Bestimmungen
60 tests / 60 testes / 60 tests / 60 tester / 60 προσδιορισμοί



Caution / Avertissez / Adverta / Verwarnen / Cautela
Cuidado! / Advarsel / lakttag försiktighet / Προσοχή



See instructions for use / Voir les consignes d'utilisation
Ver las instrucciones de uso / Gebrauchsinformation beachten
Vedere le istruzioni per l'uso / Ver as instruções de utilização / Se
brugsvejledningen / Se instruktioner för användning / Δείτε τις Οδηγίες χρήσης



Use by / Utiliser avant / Utilizar antes de / Verwendbar bis / Scadenza
Utilizar antes de / Brug før / Använd före / Ημερομ. Λήξης



Store at 2-8°C / Conserver a 2-8°C / Conservar a 2-8°C / Lagerung bei 2-8°C
Conservare a 2-8°C / Armazenar entre 2 e 8°C / Opbevar ved 2-8°C
Förvara vid 2-8°C / Φυλάσσετε στους 2 -8° C



Manufactured by / Fabrique par / Fabricado por / Hergestellt von / Prodotto da
Fabricado por / Fremstillet af / Tillverkad av / Κατασκευάζεται από την



Keep away from light / Conserver à l'abri de la lumière / Mantener alejado de la luz /
Vor Licht schützen / Tenere al riparo dalla luce / Manter ao abrigo da luz / Må ikke
udsættes for lys / Förvara i väg från ljus / Φυλάξτε το μακριά από το φως

Axis-Shield Diagnostics Limited



The Technology Park, Dundee DD2 1XA, United Kingdom.

Tel: +44 (0) 1382 422000, Fax: +44 (0) 1382 422088.

E-mail: shield@uk.axis-shield.com

Website: www.axis-shield.com

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

Website: www.bio-rad.com