



Wellcogen N. meningitidis ACY W135

REF R30859203 (ZL23)  30

1. INTENDED USE

Wellcogen™ N. meningitidis ACY W135 is a rapid latex test for use in the qualitative detection of antigen from *Neisseria meningitidis* (meningococcus) groups A, C, Y and W135, present in cerebrospinal fluid (CSF) as a consequence of infection or in blood cultures.

NOTE: Tests performed directly on clinical specimens are intended for screening purposes and should augment, not replace, culture procedures. Results must be used in conjunction with other data; e.g. symptoms, results of other tests, clinical impressions etc.

IVD The reagents are for *in vitro* diagnostic use only. For professional use only.

2. SUMMARY

Cerebrospinal meningitis and meningococcaemia are common manifestations of meningococcal disease, which is endemic in many areas and occurs epidemically throughout the world⁴. Early diagnosis is of great importance⁹ to assist the selection of appropriate therapy. The infecting organisms carry group-specific polysaccharide surface antigens, a quantity of which diffuses into body fluids such as serum and cerebrospinal fluid (CSF)^{2,5} and is excreted in the urine³. The antigen in these body fluids can be detected by sensitive immunological methods including counterimmunoelectrophoresis and latex agglutination^{3,6,7,11}. The serological groups most commonly associated with meningococcal infections include A, B, C, Y and W135⁴. The group B antigen is more difficult to detect⁶ than the others and is not included in the polyvalent reagent.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

The Wellcogen N. meningitidis ACY W135 reagent consists of polystyrene latex particles which have been coated with antibodies specific to *N. meningitidis* groups A, C, Y and W135 antigens. These latex particles agglutinate in the presence of sufficient homologous antigen.

Some CSF samples cause non-specific aggregation of latex particles, and a Control Latex preparation is provided in order to identify these samples.

4. SYMBOL DEFINITIONS

REF	Catalogue Number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Consult Instructions for Use (IFU)
	Temperature Limitations (Storage temp.)
	Contains sufficient for <N> tests
LOT	Batch Code (Lot Number)
	Use By (Expiration Date)
EC REP	Authorized representative in the European Community
UK CA	UK Conformity Assessed
	European Conformity Assessment
	Manufacturer

5. KIT CONTENTS, PREPARATION FOR USE AND STORAGE

The Wellcogen N. meningitidis ACY W135 kit includes sufficient reagents to perform  30 tests.

See also **Precautions**, section 6.

All components should be stored at 2 to 8°C under which condition they will retain their activity until the expiry date of the kit.

Before use, bring all reagents to room temperature (18 - 30°C) and mix. Return the unused reagents to the refrigerator after use.



Instructions for Use
Disposable Reaction Cards (1 pack)
Disposable Mixing Sticks (2 bundles)
Disposable Droppers (1 container)
Black rubber teat (1)

Test Latex

One dropper bottle (grey cap) containing a 0.5% suspension of polystyrene latex particles in glycine saline buffer, pH 8.2 with 0.1% sodium azide as preservative. The latex particles are coated with rabbit antibody to *N. meningitidis* antigens of groups A, C, Y and W135.

Control Latex

One dropper bottle (dark blue cap) containing a 0.5% suspension of polystyrene latex particles in glycine saline buffer, pH 8.2 with 0.1% sodium azide as preservative. The latex particles are coated with non-immune rabbit globulins.

The latex suspensions are provided ready for use and should be stored at 2 to 8°C in an upright position, until the expiry date of the kit. After prolonged storage some aggregation or drying of the latex may have occurred around the top of the bottle. Under these circumstances the bottle of latex should be shaken vigorously for a few seconds

until resuspension is complete. DO NOT FREEZE.

Polyvalent Positive Control

One bottle (blue cap) containing freeze-dried bacterial extract including antigen from a representative strain of *N. meningitidis* group C. Contains 0.01% bronopol before reconstitution and 0.004% when reconstituted.

Reconstitute using 3.6 ml of sterile distilled water. After the addition of water allow the bottle to stand for a few minutes and then swirl to mix. Store reconstituted antigen at 2 to 8°C for up to 6 months.

Negative Control

One dropper bottle (white cap) containing Glycine saline buffer, pH 8.2, with 0.05% Bronidox® as preservative.

6. PRECAUTIONS

Please refer to the Safety Data Sheet (SDS) and product labelling for information on potentially hazardous components.

HEALTH AND SAFETY INFORMATION

- The Test and Control Latex contain 0.1% sodium azide. The Test and Control Latex contain 0.1% sodium azide. Azides can react with copper and lead used in some plumbing systems to form explosive salts. The quantities used in this kit are small; nevertheless when disposing of azide-containing materials they should be flushed away with large volumes of water.
- In accordance with the principles of Good Laboratory Practice it is strongly recommended that body fluids should be treated as potentially infectious and handled with all necessary precautions.
- When handling radiometric blood culture medium, the basic rules of radiation safety should be followed. These include:
 - Radioactive material should be stored in a designated area in an approved container.
 - Handling of radioactivity should take place in a designated area.
 - No mouth pipetting of radioactive material should be carried out.
 - No eating, drinking or smoking should take place in the designated area.
 - Hands should be washed thoroughly after using radioactive material.
 - The local Radiation Safety Officer should be consulted concerning disposal requirements.
- Non-disposable apparatus should be sterilised by any appropriate procedure after use although the preferred method is to autoclave for 15 minutes at 121°C. Disposables should be autoclaved or incinerated. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with absorbent paper tissue and the contaminated areas swabbed with a standard bacterial disinfectant or 70% alcohol. Do NOT use sodium hypochlorite. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as biohazardous waste.
- Do not pipette by mouth. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens and performing the assay. Wash hands thoroughly when finished.
- When used in accordance with the principles of Good Laboratory Practice, good standards of occupational hygiene and the instructions stated in these Instructions for Use, the reagents supplied are not considered to present a hazard to health.

ANALYTICAL PRECAUTIONS

- Do not use the reagents beyond the stated expiry date.
 - Latex reagents should be brought to room temperature (18 to 30°C) before use. Latex reagents which show signs of aggregation or ‘lumpiness’ before use may have been frozen and must not be used.
 - It is important when using dropper bottles that they are held vertically and that the drop forms at the tip of the nozzle. If the nozzle becomes wet an incorrect volume will form around the end and not at the tip; if this occurs dry the nozzle before progressing.
 - The reagents provided with each kit are matched in performance and should not be used in conjunction with reagents from a kit having a different lot number.
 - Do not touch the reaction areas on the cards.
 - Mechanical rotators may be used in this assay. The following characteristics have been found to be satisfactory:
 - Orbital rotators (also known as dimensional rotators) operating at 25 rpm with approximate rotating angle of 9 to 10.5 degrees or operating at 18 rpm with a rotating angle of 16 to 17.5 degrees.
 - Avoid microbial contamination of reagents as this may lead to erroneous results.
- ### 7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE
- CSF samples** should be tested as soon after collection as possible. If the fluid cannot be tested immediately it may be stored overnight at 2 to 8°C, or for longer periods frozen at –15 to –25°C. If bacteriological analyses are required on the sample, these should be set up prior to performing the latex test, to avoid contaminating the sample.
 - Blood Cultures** may be sampled and tested after 18 to 24 hours incubation at 37°C and/or as soon as bacterial growth is observed.

8. TEST PROCEDURE

REQUIRED MATERIALS PROVIDED

See **Kit Contents**, section 5.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Boiling water bath
- Laboratory centrifuge or membrane filters (0.45 µm)
- Rotator (optional – refer to **Precautions**, section 6)

PREPARATION OF CLINICAL SPECIMENS

- CSF samples** must be heated¹ before testing by the Wellcogen procedure to minimise non-specific reactions. The following procedure is recommended:
 - Heat the sample for 5 minutes in a boiling water bath. Cool the sample to room temperature (18 to 30°C) and clarify by centrifugation or membrane filtration (0.45 µm) prior to testing.
- Blood Cultures.** Centrifuge a 1 to 2 ml sample to pellet the red blood cells, for example at 1000 g for 5 to 10 minutes. Perform the latex test on the supernatant.

If a non-specific reaction occurs with a blood culture supernatant (see **Interpretation of Results**, section 10), heat the sample in a boiling water bath for 5 minutes, cool to room temperature (18 to 30°C), clarify by centrifugation and repeat the test.

PROCEDURE

It is recommended that the section on **Precautions**, section 6, is read carefully before performing the test.

NOTE: If there is only a limited volume of test sample available, it should be used with the Test Latex first and if a positive result is obtained the sample should be tested with the Control Latex. If sufficient sample is available it should be tested against both the Test and Control Latexes simultaneously.

Step 1	Process the sample as described under Preparation of Clinical Specimens , section 8.	
Step 2	Shake the latex reagents.	
Step 3	For each test sample place 1 drop of Test Latex in one circle on a Reaction Card and 1 drop of Control Latex into a separate circle. Ensure that the dropper bottles are held vertically to dispense an accurate drop. (See Precautions , section 6).	1 drop
Step 4	Using a Disposable Dropper, dispense 1 drop (approximately 40 µl) of Test Sample next to each drop of latex.	1 drop
Step 5	Mix the contents of each circle with a Mixing Stick and spread to cover the complete area of the circle. Use a separate stick for each circle and discard it for safe disposal after use.	
Step 6	Rock the card slowly and observe for agglutination for 3 minutes, holding the card at normal reading distance (25 to 35 cm) from the eyes. Do not use a magnifying lens. Mechanical rotation (3 minutes) may be used (see Precautions , section 6). The patterns obtained are clear cut and can be recognised under all normal lighting conditions	3 mins
Step 7	Discard the used Reaction Card for safe disposal.	

9. QUALITY CONTROL

The following procedures should be carried out initially with each shipment of test kits and with each run of test samples. In practice, a run may be defined as a testing period for up to 24 hours. Any departure from the expected results indicates there may be a problem with the reagents, which must be resolved before further use with clinical samples.

VISUAL INSPECTION

The latex suspensions should always be inspected for aggregation as they are dropped onto the test card and if there is evidence of clumping before addition of the test sample, the suspension must not be used. After prolonged storage some aggregation or drying may have occurred around the top of the bottle. If this is observed, the bottle should be shaken vigorously for a few seconds until resuspension is complete.

POSITIVE CONTROL PROCEDURE

The reactivity of the test can be confirmed by adding Polyvalent Positive Control to a reaction circle in which the test sample has not agglutinated the Test Latex after 3 minutes rotation.

Step 1	Use a Disposable Dropper to add 1 drop of Positive Control to the circle containing Test Latex and specimen.	1 drop
Step 2	Mix using a Mixing Stick and discard it for safe disposal.	
Step 3	Rock the card manually or by a rotator for a further 3 minutes. After this time, definite agglutination should be visible in the Test Latex.	3 mins
Step 4	Discard the used Reaction Card for safe disposal.	

NEGATIVE CONTROL PROCEDURE

If at least one test sample within a run gives a negative result with Test and Control Latexes (or Test Latex only where no Control Latex has been used), this constitutes a valid negative control for the reagents and no further testing is necessary.

If the test sample gives agglutination with the Test Latex and no agglutination with the Control Latex then the Test Latex should be tested either with the Negative Control or uninoculated blood culture medium, as appropriate (see below).

Step 1	Place 1 drop of Test Latex in one circle on a Reaction Card.	1 drop
Step 2	Dispense 1 drop of Negative Control or uninoculated blood culture medium next to the Test Latex.	1 drop
Step 3	Mix using a Mixing Stick and discard it for safe disposal.	
Step 4	Rock the card manually or by a rotator for a further 3 minutes. After this time, there should be no significant agglutination in the Test Latex.	3 mins
Step 5	Discard the used Reaction Card for safe disposal.	

For tests with CSF samples, the Negative Control provided with the kit should be used.

For tests with blood cultures a sample of uninoculated blood culture medium from the same source as the specimen should be used as a negative control. Note: testing uninoculated media is important as false-positives can occur with some formulations of blood culture media.

NOTE: Previously assayed positive and negative samples, aliquoted and stored at –15 to –25°C or below, may be used as positive or negative controls respectively, if desired. The Positive Control can also be used in place of the test sample.

10. RESULTS

READING OF RESULTS

A **positive** reaction is indicated by the development of an agglutinated pattern within 3 minutes of mixing the latex with the test sample, showing clearly visible clumping of the latex particles (Figure 1).

The speed of appearance and quality of agglutination depend on the strength of the antigen, varying from large clumps which appear within a few seconds of mixing, to small clumps which develop rather slowly.

Figure 1

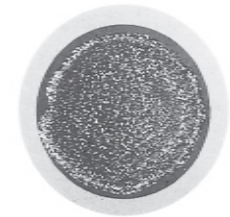


Figure 2



In a **negative** reaction the latex does not agglutinate and the milky appearance remains substantially unchanged throughout the test (Figure 2). Note, however, that faint traces of granularity may be detected in negative patterns, depending on the visual acuity of the operator.

INTERPRETATION OF RESULTS

Positive Result

Clear agglutination of the Test Latex accompanied by a lack of agglutination of the Control Latex indicates the presence of meningococcal antigen in the CSF or blood culture supernatant.

Negative Result

Lack of agglutination in both reagents means that no group A, C, Y or W135 meningococcal antigen is detectable in the test fluid – it does not eliminate the possibility of meningococcal infection, and if symptoms persist it may be desirable to perform the test on subsequent or alternative specimens, or after concentration of the urine specimen.

Non-interpretable Result

Visible agglutination of the Control Latex, whether stronger or weaker than the Test Latex, indicates a non-specific reaction. In most cases, non-specific reactions may be eliminated by heating and clarifying the CSF (see **Preparation of Clinical Specimens**, section 8). If a non-specific reaction occurs with a blood culture supernatant, heat the sample in a boiling water bath for 5 minutes, cool to room temperature (18 to 30°C), clarify by centrifugation and repeat the test.

11. PERFORMANCE LIMITATIONS

- A positive result in the test depends on the presence of a detectable level of antigen in the CSF or blood culture medium.
- A few examples have been reported of unrelated bacteria which possess common antigens and, as with any immunological test system, the possibility of cross reactions occurring in the latex test can not be ruled out^{8,10}.

12. EXPECTED RESULTS

Samples containing a detectable level of *N. meningitidis* A, C, Y or W135 antigen will give an agglutination reaction with the Test Latex.

13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Clinical studies were carried out in 12 laboratories using CSF samples (fresh and stored frozen) and blood culture supernatants. Both traditional and radiometric cultural techniques were used in the blood culture studies.

SENSITIVITY

The sensitivity of Wellcogen *N. meningitidis* ACY W135 was established from tests on samples found to be culture positive for the homologous organisms. Wellcogen N. meningitidis ACY W135 detected antigen in 29/41 (70.7%) CSF samples and 7/7 (100%) blood culture samples (Table 1).

The organisms isolated from the infected body fluid samples were *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* type *b*, *N. meningitidis* group *B*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis* and *Enterobacter aerogenes*.

Table 1
Results of Clinical Studies on
Wellcogen N. meningitidis ACY W135

Wellcogen N. meningitidis ACY W135

^a *N. meningitidis* group A, C, Y or W135 isolated/indicated.
^b Bacteria other than *N. meningitidis* group A, C, Y or W135; no growth.
^c Includes 8 group A, 25 Group C, and 1 Group Y (the remainder were not grouped).
^d *K. aerogenes*; *E. coli* isolated.

^d *K. aerogenes*; *E. coli* isolated.

14. BIBLIOGRAPHY

- Bronidox® is the registered trade name of Cognis UK Ltd.



 www.thermofisher.com	
Europe + 800 135 79 135	US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539	ROW +31 20 794 7071

Wellcogen

N. meningitidis

ACY W135

REF R30859203 (ZL23) ∇ 30

1. USO PRETENDIDO

O Wellcogen™ *N. meningitidis* *ACY W135* é um teste de látex rápido para uso na detecção qualitativa de antígeno de Neisseria meningitidis (meningococos) grupos A, C, Y e W135, presente nos líquido cérebro-espinhal (LCE), como uma consequência de infecção ou em hemoculturas.

OBSERVAÇÃO: Os testes realizados diretamente nos espécimes clínicos são projetados para fins de triagem e devem ampliar, e não substituir, os procedimentos de cultura. Os resultados devem ser interpretados em conjunto com outros dados; por exemplo, sintomas, resultados de outros testes, impressões clínicas etc.

2. RESUMO

A meningite cérebro-espinhal e a menincococcemia são manifestações comuns da doença meningocócica, que é endêmica em várias áreas e ocorre epidemicamente em todo o mundo⁴. O diagnóstico precoce é muito importante⁹ para auxiliar na seleção da terapia adequada. Os microorganismos infecciosos têm antígenos de carboidratos específicos do grupo, em quantidades que se difundem pelos fluidos corporais como soro e líquido cérebro-espinhal (LCE)^{2,5} e são excretados na urina³. O antígeno nesses fluidos corporais podem ser detectados por métodos imunológicos sensíveis incluindo contraimunoeletroforese e aglutinação em látex^{3,6,7,11}. Os grupos sorológico mais frequentemente associados às infecções meningocócicas incluem A, B, C, Y e W135⁴. O antígeno do grupo B é mais difícil de detectar⁶ do que os outros e não está incluído no reagente polivalente.

3. PRINCÍPIO DO TESTE

Os reagentes Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* consistem em partículas de látex de poliestireno que foram revestidas por anticorpos para os antígenos bacterianos de *N. meningitidis* grupos A, C, Y e W135. Estas partículas de látex se aglutinam na presença de antígeno homólogo em quantidades suficientes.

Algumas amostras de LCE provocam agregação não específica de partículas de látex, sendo que uma preparação de Látex de controle é fornecida para identificar essas amostras.

4. DEFINIÇÕES DOS SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Consultar as Instruções de utilização (IFU)
	Limitações de temperatura (temp. de armazenamento)
	Conteúdo suficiente para <N> testes
LOT	Código de lote (número de lote)
	Utilizar até (data de expiração)
EC REP	Representante autorizado na Comunidade Europeia
UK CA	Conformidade avaliada no Reino Unido
CE	Avaliação de conformidade europeia
	Fabricante

5. CONTEÚDO DO KIT, PREPARAÇÃO PARA USO E ARMAZENAMENTO

O kit de antígeno bacteriano Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* inclui reagentes suficientes para realizar 30 testes.

Consulte também Precauções, na seção 6.

Todos os componentes devem ser armazenados entre 2 e 8 °C, pois nessas condições eles preservam a sua atividade até a data de vencimento do kit.

Antes do uso, deixe todos os reagentes em temperatura ambiente (18 a 30 °C) e misture. Retorne os reagentes não usados à geladeira, após o uso.

Instruções de uso
Cartões de reação descartáveis (1 pacote)
Hastes para mistura descartáveis (2 maços)
Conta-gotas descartáveis (1 recipiente)
Bulbo de borracha preta (1)

TEST LATEX	Látex de teste
	Um frasco de conta-gotas, (tampa cinza), contendo uma suspensão de partículas de látex de poliestireno a 0,5% em tampão glicina-salina, pH 8,2, com azida sódica a 0,1% como conservante. As partículas de látex são revestidas por anticorpo de coelho para o antígeno <i>N. meningitidis</i> dos grupos A, C, Y e W135.

CONTROL LATEX	Látex de controle
	Um frasco de conta-gotas, (tampa azul escuro), contendo uma suspensão de partículas de látex de poliestireno a 0,5% em tampão salina-glicina, pH 8,2, com azida sódica a 0,1% como conservante. As partículas de látex são revestidas por globulinas de coelho não imune.

As suspensões em látex são fornecidas para uso imediato e devem ser armazenadas entre 2 a 8 °C na posição vertical, até a data de vencimento do kit. Após armazenamento prolongado, alguns agregados ou ressecamento do látex podem aparecer na parte superior do frasco. Caso isso aconteça, o frasco de látex deve ser vigorosamente agitado por alguns segundos, até que a ressuspensão esteja completa. NÃO CONGELE.

CONTROL +	Controle positivo polivalente
	Um frasco (tampa azul) contendo extratos bacterianos secos por congelamento incluindo o antígeno de uma cepa representativa de <i>N. meningitidis</i> grupo C. Contém bronopol a 0,01% antes da reconstituição e 0,004% após a reconstituição.

Reconstitua usando 3,6 ml de água destilada estéril. Após a adição de água, permita que o frasco repouse por uns minutos e, em seguida, agite para misturar. Armazene o antígeno reconstituído entre 2 e 8 °C por até 6 meses.

CONTROL -	Controle negativo
	Um frasco conta-gotas (tampa branca) contendo tampão de solução salina-glicina, pH 8,2, com Bronidox® a 0,05% como conservante.

6. PRECAUÇÕES

IVD

Os reagentes são somente para uso diagnóstico *in vitro*.

Somente para uso profissional.

Consulte a Ficha de informações para produtos químicos (FISPQ) e o rótulo do produto para obter mais informações sobre componentes potencialmente perigosos.

INFORMAÇÕES SOBRE SAÚDE E SEGURANÇA

6.1 O Látex de controle e de teste contém azida sódica a 0,1%. As azidas podem reagir com o cobre e o chumbo usado em alguns sistemas de encanamento, formando sais explosivos. As quantidades usadas neste kit são pequenas; entretanto, os materiais contendo azida devem ser descartados com grandes volumes de água.

6.2 De acordo com os princípios das Boas Práticas Laboratoriais é altamente recomendável que os fluidos corporais sejam tratados como potencialmente infecciosos e manipulados com todas as precauções necessárias.

6.3 Ao manipular meio de hemocultura radiométrico, as regras básicas de segurança da radiação devem ser obedecidas. Elas incluem:

- a) O material radioativo deve ser armazenado em uma área designada em um recipiente apropriado.
- b) A manipulação da radioatividade deve ocorrer em uma área designada.
- c) Não deve ser realizada a pipetagem de material radioativo com a boca.
- d) Não é permitido comer, beber ou fumar na área designada.
- e) Lave bem as mãos após usar o material radioativo.
- f) Um Agente de segurança para radiação local deve ser consultado sobre os requisitos de descarte.

6.4 O equipamento não descartável deve ser esterilizado com qualquer procedimento apropriado após o uso, sendo que o método de preferência é a autoclave por 15 minutos a 121 °C. Os materiais descartáveis devem ser autoclavados ou incinerados. O derramamento de possíveis materiais infecciosos deve ser removido imediatamente com papel absorvente e as áreas contaminadas lavadas com um desinfetante bactericida padrão ou álcool a 70%. NÃO use hipoclorito de sódio. Os materiais usados para limpar derramamentos, incluindo luvas, devem ser descartados como resíduo de risco biológico.

6.5 Não pipete com a boca. Use luvas descartáveis e proteção para os olhos durante a manipulação de espécimes e a realização do ensaio. Lave bem as mãos quando tiver terminado.

6.6 Quando usados de acordo com os princípios das Boas Práticas Laboratoriais, bons padrões de higiene ocupacional e as instruções contidas nestas Instruções de uso, os reagentes fornecidos não são considerados um risco à saúde.

PRECAUÇÕES ANALÍTICAS

6.7 Não use os reagentes após a data de vencimento.

6.8 Os reagentes de látex devem ser colocados em temperatura ambiente (18 a 30 °C) antes do uso. Os reagentes de látex que mostrarem sinais de agregação ou ‘grumos’, antes do uso, podem ter sido congelados e não devem ser usados.

6.9 Ao usar frascos conta-gotas, é importante que eles sejam mantidos na posição vertical e que a gota se forme na ponta do bico. Se o bico se tornar úmido, um volume incorreto será formado ao redor da extremidade e não na ponta do bico; Se isso ocorrer, seque o bico antes de prosseguir.

6.10 Os reagentes fornecidos em cada kit têm correspondência de desempenho e não devem ser usados em conjunto com reagentes de um kit com número de lote diferente.

6.11 Não toque nas áreas de reação dos cartões.

6.12 Os rotatores mecânicos podem ser usados neste ensaio. As características a seguir foram consideradas satisfatórias:

- i) Rotatores orbitais (também conhecidos como rotatores dimensionais) operando a 25 rpm com um ângulo de rotação de cerca de 9 a 10,5 graus ou operando a 18 rpm com um ângulo de rotação de 16 a 17,5 graus.

6.13 Evite a contaminação microbiana de reagentes, pois isto pode ocasionar resultados incorretos.

7. COLETA E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

7.1 Amostras de LCE devem ser testadas logo após a coleta, se possível. Se o fluido não puder ser imediatamente testado ele deverá ser armazenado de um dia para o outro em temperaturas entre 2 a 8 °C, ou congelado por períodos mais longos entre –15 e –25 °C. Se forem necessárias análise bacteriológicas na amostra, elas devem ser realizadas antes do teste de látex, para evitar a contaminação da amostra.

7.2 Hemoculturas podem ser coletadas e testadas após 18 a 24 horas de incubação a 37 °C e/ou assim que o crescimento bacteriano for observado.

8. PROCEDIMENTO DE TESTE

MATERIAIS NECESSÁRIOS FORNECIDOS

Consulte Conteúdo do kit, seção 5.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Banho-maria

Centrífuga de laboratório ou filtros de membrana (0,45 µm)

Rotor (opcional – consulte Precauções, seção 6)

PREPARAÇÃO DE ESPÉCIMES CLÍNICOS

8.1 Amostras de LCE devem ser aquecidas 1 antes do teste pelo procedimento Wellcogen para minimizar as reações não específicas. Os procedimentos a seguir são recomendados:

a) Aqueça a amostra por 5 minutos em banhomaria. Resfrie a amostra em temperatura ambiente (18 a 30 °C) e clarifique por centrifugação ou filtração por membrana (0,45 µm) antes do teste.

8.2 Hemoculturas Centrifugue de 1 a 2 ml de amostra para peletizar as hemácias, por exemplo a 1.000 g por 5 a 10 minutos. Realize o teste de látex no sobrenadante. Se ocorrer uma reação não específica com o sobrenadante de hemocultura (consulte Interpretação dos resultados, seção 10), aqueça a amostra em banho-maria por 5 minutos, resfrie em temperatura ambiente (18 a 30 °C), clarifique por centrifugação e repita o teste.

PROCEDIMENTO

Recomenda-se que a seção Precauções, seção 6, seja lida atentamente, antes de realizar o teste.

OBSERVAÇÃO: Se houver somente um volume limitado de amostras de teste disponíveis, ele deve ser usado com os Látex de teste primeiro e, se um resultado positivo for obtido, a amostra deve ser testada com o Látex de controle. Se houver amostra suficiente disponível, ela deve ser testada com os Látex de controle e teste simultaneamente.

Etapa 1	Processe a amostra conforme descrito em Preparação de espécimes clínicos , seção 8.	
Etapa 2	Agite os reagentes de látex.	
Etapa 3	Para cada cultura a ser testada coloque 1 gota de Látex de teste em um círculo no Cartão de reação e 1 gota de Látex de controle em um círculo separado. Certifique-se de que os frascos de contagotas estejam na vertical para dispensar uma gota apropriada. (Consulte Precauções , seção 6).	1 gota
Etapa 4	Usando um Conta-gotas descartável, dispense 1 gota (aproximadamente 40 µl) de Amostra de teste próxima a cada gota de látex.	1 gota
Etapa 5	Misture o conteúdo de cada círculo com uma Haste de mistura e espalhe para cobrir toda a área do círculo. Use uma haste separada para cada círculo e descarte-a de modo seguro após o uso.	
Etapa 6	Balance o cartão lentamente e observe 3 minutos se haverá aglutinação por 3 minutos, mantendo o cartão a uma distância normal de leitura (25 a 35 cm) em relação aos olhos. Não use uma lente de aumento. A rotação mecânica (3 minutos) pode ser usada (Consulte Precauções , seção 6). Os padrões obtidos são bem definidos e podem ser reconhecidos em todas as condições normais de iluminação.	
Etapa 7	Descarte o Cartão de reação de modo seguro.	

9. CONTROLE DE QUALIDADE

Os procedimentos a seguir devem ser inicialmente realizados com cada remessa dos kits de teste e com cada processamento das amostras de teste. Na prática, um processamento pode ser definido como um período de teste de até 24 horas. Qualquer discrepância em relação aos resultados esperados indica um possível problema com os reagentes, que deve ser solucionado antes de novo uso com as amostras clínicas.

INSPEÇÃO VISUAL

As suspensões de látex devem ser sempre inspecionadas para verificar se há agregados, à medida que forem colocadas no cartão de teste, e se houver evidências de pelotas, antes da adição das amostras de teste, a suspensão não deverá ser usada. Após o armazenamento prolongado, alguns agregados ou ressecamento podem ter ocorrido ao redor da parte superior do frasco. Se isto for observado, o frasco deve ser agitado vigorosamente por alguns segundos, até que a ressuspensão esteja completa.

PROCEDIMENTO DE CONTROLE POSITIVO

A reatividade do teste pode ser confirmada ao adicionar o Controle positivo polivalente ao círculo de reação, dentro do qual a amostra não aglutinou o Látex de teste após 3 minutos de rotação.

Etapa 1	Use uma Conta-gotas descartável para adicionar 1 gota de Controle positivo ao círculo contendo o Látex de teste e o espécime.	1 gota
Etapa 2	Misture usando uma Haste para mistura e descarte-a de modo seguro.	
Etapa 3	Agite o cartão manualmente ou com um rotator por mais 3 minutos. Após este tempo, a aglutinação definitiva deve estar visível no Látex de teste.	3 minutos
Etapa 4	Descarte o Cartão de reação de modo seguro.	

PROCEDIMENTO DE CONTROLE NEGATIVO

Se pelo menos uma amostra de teste em um processamento fornecer um resultado negativo com os Látex de teste e de controle (ou Látex de teste apenas, quando nenhum látex de controle tiver sido usado), isto representa um controle negativo válido para os reagentes e nenhum teste adicional é necessário.

Se uma amostra de teste fornecer aglutinação com o Látex de teste e nenhuma aglutinação com o Látex de controle, então o Látex de teste deve ser testado com o Controle negativo ou com o meio de hemocultura não inoculado, conforme a apropriado (veja a seguir).

Etapa 1	Coloque 1 gota de Látex de teste em um círculo no Cartão de reação.	1 gota
Etapa 2	Dispense 1 gota de Controle negativo ou de meio de hemocultura não inoculado próximo ao Látex de teste.	1 gota
Etapa 3	Misture usando uma Haste para mistura e descarte-a de modo seguro.	
Etapa 4	Agite o cartão manualmente ou com um rotator por mais 3 minutos. Após este tempo, não deve haver aglutinação significativa no Látex de teste.	3 minutos
Etapa 5	Descarte o Cartão de reação de modo seguro.	

Para testes com amostras de LCE, o Controle negativo fornecido com o kit deve ser usado.

Para testes com hemocultura, uma amostra de meio de hemocultura não inoculado da mesma fonte que o espécime deve ser usada como controle negativo. Observação: o meio não inoculado de teste é importante, pois falso-positivos podem ocorrer com algumas formulações do meio de hemocultura.

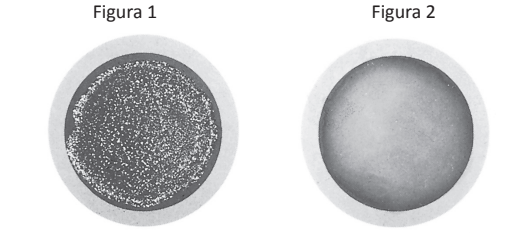
OBSERVAÇÃO: Amostras positivas e negativas previamente testadas, separadas em alíquotas e armazenadas entre –15 e –25 °C ou em temperaturas inferiores, podem ser usadas como controle negativo e positivo respectivamente, se desejado. O Controle positivo também pode ser usado no lugar da amostra de teste.

10. RESULTADOS

LEITURA DE RESULTADOS

Uma reação positiva é indicada pelo surgimento de um padrão aglutinado, 3 minutos após a mistura do látex com a amostra de teste, evidenciando um acúmulo visível das partículas de látex (Figura 1).

A velocidade do aparecimento e a qualidade da aglutinação dependem da intensidade do antígeno, variando de acúmulos grandes que aparecem após poucos segundos de mistura a pequenos acúmulos que aparecem lentamente.



Em uma reação negativa, o látex não se aglutina e uma aparência leitosa permanece inalterada durante todo o teste (Figura 2). Entretanto, observe que leves traços de granularidade podem ser detectados em padrões negativos, dependendo da acuidade visual do operador.

INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

Resultado positivo

Uma aglutinação evidente do Látex de teste, acompanhada pela ausência de aglutinação do Látex de controle, indica a presença de antígeno meningocócico no sobrenadante de LCE ou de hemocultura.

Resultado negativo

A ausência de aglutinação em ambos os reagentes indica que nenhum antígeno meningocócico dos grupos A, C, Y ou W135 é detectável no fluido de teste – ela não elimina a possibilidade de uma infecção causada por meningococos e, se os sintomas persistirem, pode ser desejável realizar o teste em espécimes alternativos ou subsequentes, ou após a concentração da urina no espécime.

Resultado não interpretável

A aglutinação visível do Látex de controle, mesmo sendo mais forte ou mais fraca que o Látex de teste, indica uma reação não específica. Na maioria dos casos, as reações não específicas em fluidos corporais pode ser eliminada aquecendo e clarificando a LCE (consulte Preparação de espécimes clínicos, seção 8). Se uma reação não específica ocorrer com um sobrenadante de hemocultura, aqueça a amostra em banho-maria por 5 minutos, resfrie-a em temperatura ambiente (18 a 30 °C), clarifique por centrifugação e repita o teste.

11. LIMITAÇÕES DE DESEMPENHO

11.1 Um resultado positivo no teste depende da presença de níveis detectáveis de antígeno no LCE ou no meio de hemocultura.

11.2 Poucos exemplos foram reportados de bactérias não relacionadas que têm antígenos em comum e, assim como em qualquer sistema de teste imunológico, não pode ser descartada a possibilidade de reação cruzada no teste de látex.^{8,10}.

12. RESULTADOS ESPERADOS

As amostras contendo um nível detectável de antígeno de *N. meningitidis* A, C, Y ou W135 fornecerão uma reação de aglutinação com o Látex de teste.

13. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Estudos clínicos foram realizados em 12 laboratórios usando amostras de LCE (frescas e armazenadas congeladas) e sobrenadantes de hemocultura. Ambas as técnicas de cultura radiométricas e tradicionais foram usadas nos estudos de hemocultura.

SENSIBILIDADE

A sensibilidade do Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* foi determinada em testes com amostras obtidas de pacientes com cultura positiva para o organismo homólogo. O Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* detectou o antígeno em 29/41 (70,7%) das amostras de LCE e 7/7 (100%) das amostras de hemocultura (Tabela 1).

ESPECIFICIDADE

A especificidade do of Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* foi avaliada usando amostras de LCE (frescas e congeladas) e de hemocultura de pacientes com meningite asséptica ou bacteriana e outras condições não relacionadas.

Os micro-organismos isolados das amostras de fluido corporal infectadas foram Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae tipo B, *N. meningitidis* grupo B, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Mycobacterium tuberculosis e Enterobacter aerogenes.

A especificidade do Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* na detecção de antígeno bacteriano em todos os Amostras de LCE testados foi de 99,5% (421/423) e 99,9% (1.613/1.615) em hemocultura. Um resultado positivo foi obtido de duas amostras de LCE, a E. coli foi isolada de uma e a Klebsiella aerogenes de outra. Os micro-organismos isolados de duas hemoculturas que forneceram resultados positivos foram Strep. sanguis e Staphylococcus epidermidis, misturados com um Enterococcus.

Tabela 1					
Resultados de estudos clínicos sobre Wellcogen N. meningitidis ACY W135					
	Sensibilidade ^a		Especificidade ^b		
Amostra	Número de testadas	Número de positivas	Número de testadas	Número de positivas	
LCE	41 ^c	29	423	2 ^d	
Hemocultura	7	7	1615	2 ^e	
a	<i>N. meningitidis</i> grupo A, C, Y ou W135 isolada/indicada.				
b	Bactérias diferentes de <i>N. meningitidis</i> grupo A, C, Y ou W135; sem crescimento.				
c	Inclui 8 grupo A, 25 grupo C e 1 grupo Y (o restante não foi agrupado).				
d	K. aerogenes; E. coli isolada.				
e	Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus isolada				

14. BIBLIOGRAFIA

- Doskeland, S.O. and Berdal, B.P. (1980).** Bacterial antigen detection in body fluids: methods for rapid antigen concentration and reduction of nonspecific reactions. J. Clin. Microbiol., 11, 380.
- Edwards, E.A. (1974).** Immunological investigations of meningococcal disease. II. Some characteristics of group C antigen of Neisseria meningitidis in the sera of patients with fulminant

meningococccemia. J. Infect. Dis., 129, 538.

3. **Feigin, R.D., Wong, M., et al (1976).**
Countercurrent immunoelectrophoresis of urine as well as of CSF and blood for diagnosis of bacterial meningitis. J. Pediatr., 89, 773.

4. **Galazka, A. (1982).**
Meningococcal disease and its control with meningococcal polysaccharide vaccines. Bull. W.H.O., 60, 1.

5. **Greenwood, B.M. and Whittle, H.C. (1974).**
Nature of the antigen present in the cerebrospinal fluid and serum of patients with group A meningococcal meningitis. Clin. Exp. Immunol., 16, 413.

6. **Kaldor, J., Asznowicz, R., et al (1977).**
Latex agglutination in diagnosis of bacterial infections, with special reference to patients with meningitis and septicemia. Amer. J. Clin. Path., 68, 284.

7. **Leinonen, M and Käyhty, H. (1978).**
Comparison of counter-current immunoelectrophoresis, latex agglutination, and radioimmunoassay in detection of soluble capsular polysaccharide antigens of Haemophilus influenzae type b and Neisseria meningitidis of groups A or C. J. Clin. Path., 31, 1172.

8. **Robbins, J.B., Myerowitz, R.L., et al (1972).**
Enteric bacteria cross-reactive with Neisseria meningitidis groups A and C and Diplococcus pneumoniae types I and III. Infect. Immun., 6, 651.

9. **Slack, J. (1982).**
Deaths from meningococcal infection in England and Wales in 1978. J. Royal Coll. Phys. London, 16, 40.

10. **Vann. W.F., Liu, T.Y., et al (1976).**
Bacillus pumilus polysaccharide cross-reactive with meningococcal group A polysaccharide. Infect. Immun., 13, 1654.

11. **Whittle, H.C., Tugwell, P., et al (1974).**
Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. Lancet, ii, 619.

Para obter assistência técnica, www.thermofisher.com



 Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper
Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent,
DA2 6PT, UK

Amer. J. Clin. Path., 68, 284.

7. **Leinonen, M and Käyhty, H. (1978).**
Comparison of counter-current immunoelectrophoresis, latex agglutination, and radioimmunoassay in detection of soluble capsular polysaccharide antigens of Haemophilus influenzae type b and Neisseria meningitidis of groups A or C. J. Clin. Path., 31, 1172.

8. **Robbins, J.B., Myerowitz, R.L., et al (1972).**
Enteric bacteria cross-reactive with Neisseria meningitidis groups A and C and Diplococcus pneumoniae types I and III. Infect. Immun., 6, 651.

9. **Slack, J. (1982).**
Deaths from meningococcal infection in England and Wales in 1978. J. Royal Coll. Phys. London, 16, 40.

10. **Vann. W.F., Liu, T.Y., et al (1976).**
Bacillus pumilus polysaccharide cross-reactive with meningococcal group A polysaccharide. Infect. Immun., 13, 1654.

11. **Whittle, H.C., Tugwell, P., et al (1974).**
Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. Lancet, ii, 619.

Máte-li zájem o technickou asistenci, www.thermofisher.com



 Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

X7711C. aktualizováno červen 2024

latex agglutination. Lancet, ii, 619.



 Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper
Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent,
DA2 6PT, UK

Kontakt den lokale distributør vedrørende teknisk assistance.
www.thermofisher.com

Brugervejledning X7711C, revideret juni 2024

(421/423) in sämtlichen Liquor-Proben und 99,9 % (1613/1615) in Blutkulturen. Zwei Liquor-Proben ergaben ein positives Resultat; aus der einen wurde E. coli, aus der anderen Klebsiella aerogenes isoliert. Aus den zwei Blutkulturen, die positive Reaktionen zeigten, wurden Strep. sanguis und Staphylococcus epidermidis, gemischt mit Enterokokken, isoliert.

Tabelle 1				
Ergebnisse klinischer Studien zum				
Wellcogen N. meningitidis ACY W135-Testkit				
Probe	Sensitivität ^a		Spezifität ^b	
	Anz. getest.	Anz. positiv	Anz. getest.	Anz. positiv
Liquor	41 ^c	29	423	2 ^d
Blutkultur	7	7	1615	2 ^e
a	<i>N. meningitidis</i> Gruppe A, C, Y oder W135 isoliert/belegt.			
b	Andere Bakterien als <i>N. meningitidis</i> Gruppe A, C, Y oder W135; kein Wachstum.			
c	Umfasst 8 x Gruppe A, 25 x Gruppe C und 1 x Gruppe Y (Rest zu keiner Gruppe gehörig).			
d	K. aerogenes; E. coli, isoliert.			
e	Strep. sanguis; Staph. epidermidis plus Enterococcus, isoliert.			

14. LITERATUR

- Doskeland, S.O. and Berdal, B.P. (1980).**
Bacterial antigen detection in body fluids: methods for rapid antigen concentration and reduction of nonspecific reactions. J. Clin. Microbiol., 11, 380.
- Edwards, E.A. (1974).**
Immunological investigations of meningococcal disease. II. Some characteristics of group C antigen of Neisseria meningitidis in the sera of patients with fulminant meningococemia. J. Infect. Dis., 129, 538.
- Feigin, R.D., Wong, M., et al (1976).**
Countercurrent immunoelectrophoresis of urine as well as of CSF and blood for diagnosis of bacterial meningitis. J. Pediatr., 89, 773.
- Galazka, A. (1982).**
Meningococcal disease and its control with meningococcal polysaccharide vaccines. Bull. W.H.O., 60, 1.
- Greenwood, B.M. and Whittle, H.C. (1974).**
Nature of the antigen present in the cerebrospinal fluid and serum of patients with group A meningococcal meningitis. Clin. Exp. Immunol., 16, 413.
- Kaldor, J., Asznowicz, R., et al (1977).**
Latex agglutination in diagnosis of bacterial infections, with special reference to patients with meningitis and septicemia. Amer. J. Clin. Path., 68, 284.
- Leinonen, M and Käyhty, H. (1978).**
Comparison of counter-current immunoelectrophoresis, latex agglutination, and radioimmunoassay in detection of soluble capsular polysaccharide antigens of Haemophilus influenzae type b and Neisseria meningitidis of groups A or C. J. Clin. Path., 31, 1172.
- Robbins, J.B., Myerowitz, R.L., et al (1972).**
Enteric bacteria cross-reactive with Neisseria meningitidis groups A and C and Diplococcus pneumoniae types I and III. Infect. Immun., 6, 651.
- Slack, J. (1982).**
Deaths from meningococcal infection in England and Wales in 1978. J. Royal Coll. Phys. London, 16, 40.
- Vann. W.F., Liu, T.Y., et al (1976).**
Bacillus pumilus polysaccharide cross-reactive with meningococcal group A polysaccharide. Infect. Immun., 13, 1654.
- Whittle, H.C., Tugwell, P., et al (1974).**
Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. Lancet, ii, 619.



 Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper
Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent,
DA2 6PT, UK

Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem Händler vor
Ort. www.thermofisher.com

άλλες μη σχετικές παθήσεις.

Οι οργανισμοί που απομονώθηκαν από τα μολυσμένα δείγματα σωματικών υγρών ήταν Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae τύπου b, *N. meningitidis* ομάδας B, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Mycobacterium tuberculosis και Enterobacter aerogenes.

Η ειδικότητα του Wellcogen *N. meningitidis* ACY W135 στην ανίχνευση βακτηριακού αντιγόνου σε όλα τα σωματικά υγρά που δοκιμάστηκαν ήταν 99,5% (421/423) και 99,9% (1613/1615) για καλλιέργειες αίματος. Λήφθηκε θετικό αποτέλεσμα από δύο δείγματα ENY, απομονώθηκε E. coli από ένα και Klebsiella aerogenes από το άλλο. Οι οργανισμοί που απομονώθηκαν από τις δύο καλλιέργειες αίματος που έδωσαν θετική αντίδραση ήταν Strep. sanguis και Staphylococcus epidermidis σε μικτή καλλιέργεια με Enterococcus.

Πίνακας 1				
Αποτελέσματα κλινικών μελετών σε Wellcogen N. meningitidis ACY W135				
Δείγμα	Ευαισθησία ^α		Ειδικότητα ^β	
	Πλήθος που εξετάστηκαν	Πλήθος θετικών	Πλήθος που εξετάστηκαν	Πλήθος θετικών
ENY	41 ^γ	29	423	2 ^δ
Καλλιέργεια αίματος	7	7	1615	2 ^ε
α	N. meningitidis ομάδας A, C, Y ή W135 απομονωμένο/ενδεικνυόμενο.			
β	Βακτηρίδια διαφορετικά από <i>N. meningitidis</i> ομάδας A, C, Y ή W135, χωρίς ανάπτυξη.			
α	Περλαμβάνει 8 ομάδας A, 25 ομάδας C και 1 ομάδας Y (τα υπόλοιπα δεν ομαδοποιήθηκαν).			
δ	K. aerogenes, E. coli απομονωμένο.			
ε	Strep. sanguis, Staph. epidermidis + Enterococcus απομονωμένο.			

14. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Doskeland, S.O. and Berdal, B.P. (1980).**
Bacterial antigen detection in body fluids: methods for rapid antigen concentration and reduction of nonspecific reactions. J. Clin. Microbiol., 11, 380.
- Edwards, E.A. (1974).**
Immunological investigations of meningococcal disease. II. Some characteristics of group C antigen of Neisseria meningitidis in the sera of patients with fulminant meningococemia. J. Infect. Dis., 129, 538.
- Feigin, R.D., Wong, M., et al (1976).**
Countercurrent immunoelectrophoresis of urine as well as of CSF and blood for diagnosis of bacterial meningitis. J. Pediatr., 89, 773.
- Galazka, A. (1982).**
Meningococcal disease and its control with meningococcal polysaccharide vaccines. Bull. W.H.O., 60, 1.
- Greenwood, B.M. and Whittle, H.C. (1974).**
Nature of the antigen present in the cerebrospinal fluid and serum of patients with group A meningococcal meningitis. Clin. Exp. Immunol., 16, 413.
- Kaldor, J., Asznowicz, R., et al (1977).**
Latex agglutination in diagnosis of bacterial infections, with special reference to patients with meningitis and septicemia. Amer. J. Clin. Path., 68, 284.
- Leinonen, M and Käyhty, H. (1978).**
Comparison of counter-current immunoelectrophoresis, latex agglutination, and radioimmunoassay in detection of soluble capsular polysaccharide antigens of Haemophilus influenzae type b and Neisseria meningitidis of groups A or C. J. Clin. Path., 31, 1172.
- Robbins, J.B., Myerowitz, R.L., et al (1972).**
Enteric bacteria cross-reactive with Neisseria meningitidis groups A and C and Diplococcus pneumoniae types I and III. Infect. Immun., 6, 651.
- Slack, J. (1982).**
Deaths from meningococcal infection in England and Wales in 1978. J. Royal Coll. Phys. London, 16, 40.
- Vann. W.F., Liu, T.Y., et al (1976).**
Bacillus pumilus polysaccharide cross-reactive with meningococcal group A polysaccharide. Infect. Immun., 13, 1654.
- Whittle, H.C., Tugwell, P., et al (1974).**
Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. Lancet, ii, 619.



IFU X7711C Αναθεωρημένος Ιούνιος, 2024

 Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent DA2 6PT, UK

Για τεχνική βοήθεια, www.thermofisher.com

	
www.thermofisher.com	
Europe + 800 135 79 135	US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539	ROW +31 20 794 7071

Wellcogen

N. meningitidis

ACY W135

REF R30859203 (ZL23)▽ 30

1. INDICACIONES

Wellcogen™ *N. meningitidis* *ACY W135* es una prueba de látex rápida para uso en la detección cualitativa del antígeno de los grupos A, C, Y y W135 de Neisseria meningitidis (meningococo), que se encuentra presente en los hemocultivos o en los líquido cefalorraquídeo (LCR) a consecuencia de una infección.

NOTA: Las pruebas realizadas directamente con muestras clínicas están indicadas para el “screening”, y deben complementar los procedimientos con cultivos, en lugar de sustituirlos. Los resultados deben utilizarse junto con otros datos; p. ej., síntomas, resultados de otras pruebas, impresiones clínicas, etc.

2. RESUMEN

La meningitis cerebroespinal y la meningococemia son las principales manifestaciones de la meningitis meningocócica, que es una enfermedad endémica en muchas regiones del planeta, en las que se producen brotes epidémicosq. El diagnóstico precoz de la enfermedad es fundamental⁹ para elegir un tratamiento adecuado. Los microorganismos causantes de la infección son portadores de antígenos de superficie polisacáridos específicos del grupo, una parte de los cuales se dispersan en los líquidos corporales, como el suero y el líquido cefalorraquídeo (LCR)^{2,5} y se excretan por la orina³. La presencia de antígenos en los líquidos corporales puede detectarse mediante métodos inmunológicos sensibles, incluidas la contrainmunoelectroforesis y la aglutinación con látex^{3,6,7,11}. Los grupos serológicos que se asocian con más frecuencia a infecciones meningocócicas son A, B, C, Y y W135⁴. El antígeno del grupo B es más difícil de detectar⁶ que los demás, y no está incluido en el reactivo polivalente.

3. PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El reactivo Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* consiste en partículas de látex de poliestireno que se han recubierto con anticuerpos específicos contra los antígenos de los grupos A, C, Y y W135 de *N. meningitidis*. Estas partículas de látex se aglutinan si hay presente suficiente antígeno homólogo.

Como algunas muestras de LCR causan una agregación inespecífica de partículas de látex, se suministra un preparado de látex de control para identificar estas muestras..

4. DEFINICIÓN DE LOS SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo
IVD	Producto sanitario de diagnóstico in vitro
	Consultar las instrucciones de uso (IFU)
	Limitaciones de temperatura (temperatura de conservación)
	Contenido suficiente para <N> pruebas
LOT	Código de lote (número de lote)
	Usar antes de (fecha de caducidad)
UDI	Identificador único del producto
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea
UK CA	Evaluación del cumplimiento normativo de Reino Unido
CE	Evaluación de conformidad europea
	Fabricante

5. CONTENIDO DEL KIT, PREPARACIÓN PARA EL USO Y CONSERVACIÓN

El kit Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* incluye suficientes reactivos para realizar 30 pruebas.

Consulte también la sección 6, Precauciones.

Todos los componentes deben conservarse a una temperatura de entre 2 y 8 °C para que retengan su actividad hasta la fecha de caducidad del kit.

Antes de su uso, deje que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18 - 30 °C) y mézclelos. Después del uso, vuelva a guardar en el refrigerador los reactivos no utilizados.

Instrucciones de uso
Tarjetas de reacción desechables (1 paquete)
Bastoncillos de mezcla desechables (2 paquetes)
Cuentagotas desechables (1 recipiente)
Tetina de goma negra (1)

Látex de la prueba

Un frasco cuentagotas (tapa gris) que contiene una suspensión de partículas de látex de poliestireno al 0,5% en solución salina tamponada con glicina (pH 8,2), con azida sódica al 0,1% como conservante. Las partículas de látex están recubiertas con anticuerpo de conejo contra los antígenos de los grupos A, C, Y y W135 de *N. meningitidis*.

CONTROL LÁTEX

Látex de control

Un frasco cuentagotas (tapa azul oscuro) que contiene una suspensión de partículas de látex de poliestireno al 0,5% en solución salina tamponada con glicina (pH 8,2), con azida sódica al 0,1% como conservante. Las partículas de látex están recubiertas con globulinas de conejo no inmune.

Las suspensiones de látex se suministran listas para su uso y deben conservarse a una temperatura de entre 2 y 8 °C en posición vertical hasta la fecha de caducidad del kit. Tras el almacenamiento prolongado es posible que se observe un cierto grado de agregación o sequedad

del látex alrededor de la parte superior del frasco.

En dichos casos, el frasco de látex debe agitarse vigorosamente unos segundos hasta lograr laresuspensión. NO CONGELE ESTOS PRODUCTOS.

CONTROL +

Control positivo polivalente

Un frasco (tapa azul) que contiene extractos bacterianos liofilizados, incluido el antígeno de una cepa representativa de *N. meningitidis* del grupo C. Contiene bronopol al 0,01% antes de la reconstitución, y al 0,004% una vez reconstituido.

Reconstitúyalo con 3,6 ml de agua destilada estéril. Tras añadir agua, deje reposar el frasco unos minutos y, a continuación, agítelo suavemente con un movimiento giratorio para mezclar su contenido. Conserve el antígeno reconstituido entre 2 y 8 °C durante un máximo de 6 meses.

Control negativo

Un frasco cuentagotas (tapa blanca) que contiene tampón de solución salina de glicina (pH 8,2) con Bronidox® al 0,05% como conservante.

6. PRECAUCIONES

IVD

Los reactivos son para uso diagnóstico “*in vitro*” solamente.

Para uso por profesionales solamente.

Para obtener información sobre los componentes potencialmente peligrosos, consulte la hoja de datos sobre seguridad de los materiales y la documentación del producto.

INFORMACIÓN SANITARIA Y DE SEGURIDAD

- El látex de la prueba y de control contiene un 0,1% de azida sódica. Las azidas pueden reaccionar con el cobre y el plomo utilizados en algunos sistemas de cañerías, y formar sales explosivas. Las cantidades utilizadas en este kit son pequeñas; no obstante, al desechar materiales que contengan azidas debe dejarse correr mucha agua.
- De acuerdo con los principios de las buenas prácticas de laboratorio, se recomienda encarecidamente tratar los líquidos corporales como potencialmente infecciosos y manipularlos con las precauciones necesarias.
- Al manipular medios de hemocultivos radiométricos deben seguirse las normas básicas de seguridad relacionadas con la radiación. Estas incluyen:
 - El material radiactivo debe conservarse en una zona designada para ello y en un recipiente aprobado.
 - La manipulación de material radiactivo debe realizarse en una zona designada para ello.
 - El material radiactivo no debe pipetearse con la boca.
 - No se debe comer, beber ni fumar en la zona designada.
 - Las manos deben lavarse minuciosamente después de utilizar material radiactivo.
 - Los requisitos de eliminación deben consultarse al agente de seguridad de radiación local.
- Los aparatos no desechables deben esterilizarse mediante un procedimiento adecuado después de su uso, aunque el método preferido es la esterilización en autoclave durante 15 minutos a 121 °C. Los aparatos desechables deben incinerarse o esterilizarse en autoclave. Los derrames de materiales potencialmente infecciosos deben eliminarse inmediatamente con papel absorbente, y las zonas contaminadas deben limpiarse con algodón o gasa y un desinfectante bacteriano estándar o alcohol al 70%. NO utilice hipoclorito sódico. Los materiales utilizados para limpiar los derrames, incluidos los guantes, deben desecharse como residuos biopeligrosos.

- No utilice la pipeta con la boca. Lleve puestos guantes desechables y protección ocular cuando manipule muestras y cuando realice el ensayo. Lávese bien las manos cuando acabe.
- Cuando se utilizan de acuerdo con los principios de las buenas prácticas de laboratorio, las buenas normas de higiene laboral y las indicaciones de estas instrucciones de uso, los reactivos suministrados no representan ningún riesgo para la salud.
- Antes de utilizar los reactivos de látex, debe dejarse que estos alcancen la temperatura ambiente (de 18 a 30 °C). Los reactivos de látex que muestren signos de agregación o grumos antes de su uso pueden haberse congelado, y no deben utilizarse.
- Al utilizar frascos cuentagotas, es importante mantenerlos en vertical y que la gota se forme en la punta del tubo. Si el tubo se moja, se formará un volumen incorrecto alrededor del extremo, y no en la punta; si ocurre esto, seque el tubo antes de continuar.
- Los reactivos suministrados con cada kit están elaborados para utilizarse conjuntamente, y no deben emplearse con reactivos pertenecientes a kits con un número de lote diferente.

- No toque las zonas de reacción de las tarjetas.
- En este ensayo pueden utilizarse rotadores mecánicos. Se ha observado que las siguientes características son satisfactorias:

PRECAUCIONES ANALÍTICAS

- No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad indicada.
- Antes de utilizar los reactivos de látex, debe dejarse que estos alcancen la temperatura ambiente (de 18 a 30 °C). Los reactivos de látex que muestren signos de agregación o grumos antes de su uso pueden haberse congelado, y no deben utilizarse.
- Al utilizar frascos cuentagotas, es importante mantenerlos en vertical y que la gota se forme en la punta del tubo. Si el tubo se moja, se formará un volumen incorrecto alrededor del extremo, y no en la punta; si ocurre esto, seque el tubo antes de continuar.
- Los reactivos suministrados con cada kit están elaborados para utilizarse conjuntamente, y no deben emplearse con reactivos pertenecientes a kits con un número de lote diferente.
- No toque las zonas de reacción de las tarjetas.
- En este ensayo pueden utilizarse rotadores mecánicos. Se ha observado que las siguientes características son satisfactorias:
 - Rotadores orbitales (también denominados rotadores dimensionales) que funcionen a 25 rpm con un ángulo de rotación aproximado de entre 9 y 10,5 grados, o que funcionen a 18 rpm con un ángulo de rotación de entre 16 y 17,5 grados.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que podrían obtenerse resultados erróneos.

7. RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

- Las muestras de LCR deben analizarse lo antes posible tras su recogida. Cuando no sea posible analizar las muestras de inmediato, podrán conservarse a una temperatura de entre 2 y 8 °C durante la noche, o a temperaturas de entre -15 y -25 °C durante periodos más largos. Las muestras que necesiten someterse a análisis bacteriológicos tendrán que prepararse antes de realizar la prueba de látex para evitar que se contaminen.
- Los hemocultivos pueden muestrearse y analizarse después de entre 18 y 24 horas de incubación a 37 °C, o tan pronto como se observe proliferación bacteriana.

8. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

MATERIALES NECESARIOS SUMINISTRADOS

Consulte la sección 5, Contenido del kit.

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Baño de agua hirviendo

Centrífuga de laboratorio o filtros de membrana (0,45 μm)

Rotador (opcional, consulte la sección 6, Precauciones)

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS CLÍNICAS

- Las muestras de LCR deben calentarse¹ antes de analizarse con el procedimiento Wellcogen a fin de reducir al mínimo las reacciones inespecíficas. Se recomiendan los siguientes procedimientos:
 - Caliente la muestra durante 5 minutos en un baño de agua hirviendo. Enfríe la muestra hasta la temperatura ambiente (de 18 a 30 °C) y aclárela mediante centrifugación o filtración por membrana (0,45 μm) antes del análisis.
- Hemocultivos. Centrifugue una muestra de entre 1 y 2 ml para sedimentar los glóbulos rojos; por ejemplo, a 1000 g entre 5 y 10 minutos. Realice la prueba de látex con el sobrenadante. Si tiene lugar una reacción inespecífica con el sobrenadante de un hemocultivo (consulte la sección 10, Interpretación de los resultados), caliente la muestra en un baño de agua hirviendo durante 5 minutos, enfríela a temperatura ambiente (de 18 a 30 °C), aclárela mediante centrifugación y repita la prueba.

PROCEDIMIENTO

Se recomienda leer atentamente la sección 6, Precauciones, antes de realizar la prueba.

NOTA: Si solamente hay un volumen limitado de muestra analítica, esta debe utilizarse primero con el látex de la prueba y, si se obtiene un resultado positivo, debe analizarse con el látex de control. Si se dispone de suficiente muestra, esta debe analizarse simultáneamente con los látex de la prueba y de control.

Paso 1	Procese la muestra como se describe en la sección 8, Preparación de las muestras clínicas.	
Paso 2	Agite los reactivos de látex.	
Paso 3	Por cada muestra analítica, vierta 1 gota de látex de la prueba en un círculo de una tarjeta de reacción, y 1 gota de látex de control en un círculo aparte. Asegúrese de que los frascos cuentagotas se mantienen en posición vertical para dispensar una gota adecuada. (Consulte la sección 6, Precauciones.)	1 gota
Paso 4	Utilizando un cuentagotas desechable, dispense 1 gota (aproximadamente 40 μl) de muestra analítica al lado de cada gota de látex.	1 gota
Paso 5	Mezcle el contenido de cada círculo con un bastoncillo de mezcla y extiéndalo para cubrir toda el área del círculo. Utilice un bastoncillo para cada círculo y deséchelo de forma segura tras su uso.	
Paso 6	Rote la tarjeta lentamente y compruebe si se produce aglutinación durante 3 minutos mientras mantiene la tarjeta a la distancia de lectura normal (de 25 a 35 cm) de los ojos. No utilice una lupa. Puede utilizarse rotación mecánica (3 minutos) (consulte la sección 6, Precauciones). Los patrones obtenidos están bien definidos y pueden reconocerse en las condiciones de iluminación normales.	3 min
Paso 7	Deseche la tarjeta de reacción usada de forma segura.	

9. CONTROL DE CALIDAD

Los siguientes procedimientos deben realizarse inicialmente con cada kit de prueba nuevo y cada tanda analítica de muestras. En la práctica, una tanda analítica puede definirse como un periodo de análisis de hasta 24 horas.

Cualquier desviación de los resultados esperados indica que puede haber un problema con los reactivos, que debe resolverse antes de continuar usándolos con muestras clínicas.

INSPECCIÓN VISUAL

Las suspensiones de látex deben inspeccionarse siempre para comprobar si muestran agregación al verterlas sobre la tarjeta de la prueba; si presentan aglutinación antes de añadir la muestra analítica, la suspensión no debe utilizarse. Tras el almacenamiento prolongado es posible que se observe un cierto grado de agregación o sequedad alrededor de la parte superior del frasco. En dichos casos, el frasco debe agitarse vigorosamente unos segundos hasta lograr la resuspensión.

PROCEDIMIENTO DEL CONTROL POSITIVO

La reactividad de la prueba puede confirmarse añadiendo control positivo polivalente a un círculo de reacción en el que la muestra analítica no haya aglutinado el látex de la prueba después de 3 minutos de rotación.

Paso 1	Utilice un cuentagotas desechable para 1 gota dispensar 1 gota de control positivo en el círculo que contenga el látex de la prueba y muestra.
Paso 2	Mezcle utilizando un bastoncillo de mezcla y deséchelo de forma segura.
Paso 3	Rote la tarjeta manualmente o mediante un rotador 3 min durante otros 3 minutos. Transcurrido este tiempo, el látex de la prueba debe mostrar una aglutinación visible.
Paso 4	Deseche la tarjeta de reacción usada de forma segura.

PROCEDIMIENTO DEL CONTROL NEGATIVO

Si al menos una de las muestras analíticas de una tanda analítica obtiene un resultado negativo con los látex de la prueba y de control (o solamente con el látex de la prueba cuando no se haya utilizado látex de control), esto constituye un control negativo válido de los reactivos y no son necesarios más análisis.

Si una muestra analítica presenta aglutinación con el látex de la prueba, pero no con el látex de control, el látex de la prueba debe comprobarse con el control negativo o con medio de hemocultivo sin inocular, como sea adecuado (véase el procedimiento descrito a continuación).

Paso 1	Vierta una gota del látex de la prueba en un círculo 1 gota de una tarjeta de reacción.
Paso 2	Dispense una gota de control negativo o de medio 1 gota de hemocultivo sin inocular a continuación del látex de la prueba.
Paso 3	Mezcle utilizando un bastoncillo de mezcla y deséchelo de forma segura.
Paso 4	Rote la tarjeta manualmente o mediante un rotador 3 min durante otros 3 minutos. Transcurrido este tiempo, el látex de la prueba no debe mostrar una aglutinación evidente.
Paso 5	Deseche la tarjeta de reacción usada de forma segura.

En los análisis de muestras de líquidos corporales debe utilizarse el control negativo suministrado con el kit.

En los análisis de hemocultivos debe utilizarse como control negativo una muestra de medio de hemocultivo sin inocular del mismo origen que la muestra. Nota: El análisis de medios sin inocular es importante, ya que algunas fórmulas de medios de hemocultivo pueden arrojar resultados falsos positivos.

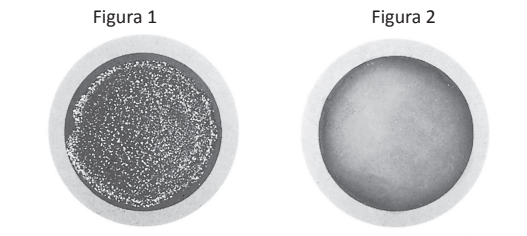
NOTA: Si se desea, pueden utilizarse muestras positivas y negativas previamente analizadas, divididas en partes alícuotas y conservadas a entre –15 y –25 °C o a temperaturas inferiores, como controles positivos y negativos, respectivamente. El control positivo también puees utilizarse en lugar de la muestra analítica.

10. RESULTADOS

LECTURA DE LOS RESULTADOS

El desarrollo de un patrón aglutinado en los 3 minutos posteriores a la mezcla del látex con la muestra analítica, con una aglutinación claramente visible de las partículas de látex (figura 1), indica una reacción positiva.

La velocidad de aglutinación y su naturaleza dependen de la fuerza del antígeno, pudiendo variar entre grumos de gran tamaño que aparecen unos segundos después de la mezcla y grumos pequeños que se forman con bastante lentitud.



En una reacción negativa, el látex no se aglutina y el aspecto lechoso se mantienen prácticamente sin cambios a lo largo de toda la prueba (figura 2). No obstante, tenga en cuenta que, dependiendo de la agudeza visual del operador, es posible que se detecten rastros tenues de granularidad en patrones negativos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultado positivo

Si va acompañada de la ausencia de aglutinación del látex de control, la aglutinación evidente del látex de la prueba indica la presencia del antígeno meningocócico en el muestras de LCR o en el sobrenadante del hemocultivo.

Resultado negativo

La ausencia de aglutinación en ambos reactivos indica que no se ha detectado el antígeno meningocócico de los grupos A, C, Y o W135 en el líquido de la prueba, aunque no se descarta la posibilidad de una infección meningocócica. Si los síntomas persisten, puede ser aconsejable realizar la prueba en muestras posteriores o alternativas, o después de la concentración de la muestra de orina.

Resultado no interpretable

La aglutinación visible del látex de control, ya sea en mayor o menor medida que el látex de la prueba, indica una reacción inespecífica. En la mayoría de los casos, las reacciones inespecíficas pueden eliminarse calentando y aclarando la LCR (consulte la sección 8, Preparación de las muestras clínicas). Si tiene lugar una reacción inespecífica con el sobrenadante de un hemocultivo, caliente la muestra en un baño de agua hirviendo durante 5 minutos, enfríela a temperatura ambiente (de 18 a 30 °C), aclárela mediante centrifugación y repita la prueba.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El que la prueba arroje un resultado positivo depende de la presencia de un nivel detectable de antígeno en el muestras de LCR o en el medio de hemocultivo.

- Se han documentado algunos ejemplos de bacterias no relacionadas que poseen antígenos comunes y, como en cualquier sistema de análisis inmunológico, no puede descartarse la posibilidad de que se produzcan reacciones cruzadas en la prueba de látex^{8,10}.

12. RESULTADOS ESPERADOS

En las muestras que contienen un nivel detectable de antígeno de los grupos A, C, Y o W135 de *N. meningitidis* se produce una reacción de aglutinación con el látex de la prueba.

13. CARACTERÍSTICAS DE LOS RESULTADOS

Los estudios clínicos realizados se llevaron a cabo en 12 laboratorios con muestras de LCR (frescas y congeladas) y sobrenadantes de hemocultivos. En los estudios de hemocultivos se utilizaron técnicas de cultivo tanto tradicionales como radiométricas.

SENSIBILIDAD

La sensibilidad del procedimiento Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* se ha establecido a partir del análisis de muestras de pacientes con cultivos positivos en los microorganismos homólogos. El procedimiento Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* permitió detectar el antígeno en 29/41 (70,7%) muestras de LCR, así como en 7/7 (100%) muestras de hemocultivo (Tabla 1).

ESPECIFICIDAD

Para evaluar la especificidad de Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* se empleó muestras de LCR (fresco y congelado) y muestras de hemocultivos de pacientes con meningitis bacteriana o aséptica y otras enfermedades no relacionadas.

Los microorganismos identificados en las muestras de LCR infectadas fueron Streptococcus pneumoniae (neumococo), Haemophilus influenzae tipo b, *N. meningitidis* (meningococo) del grupo B, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Mycobacterium tuberculosis y Enterobacter aerogenes.

La especificidad del método de detección del antígeno bacteriano con Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* en todos los líquidos corporales analizados fue del 99,5% (421/423), y del 99,9% (1613/1615) en hemocultivos. Dos muestras de LCR dieron positivo; en una de ellas se detectó E. coli y Klebsiella aerogenes en la otra. Los microorganismos identificados en los dos hemocultivos con reacciones positivas fueron Strep. sanguis y Staphylococcus epidermidis mezclados con Enterococcus.

Tabla 1				
Resultados de estudios clínicos de Wellcogen				
N. meningitidis ACY W135				
Muestra	Sensibilidad ^a		Especificidad ^b	
	N.º analizadas	N.º positivas	N.º analizadas	N.º positivas
LCR	41c	29	423	2 ^d
Hemocultivo	7	7	1615	2 ^e

- a N. meningitidis del grupo A, C, Y o W135 aislado/indicado.
- b Otras bacterias aparte de *N. meningitidis* del grupo A, C, Y o W135; ausencia de crecimiento.
- c Incluye 8 del grupo A, 25 del grupo C y 1 del grupo Y (las restantes no se agruparon).
- d Se aisló K. aerogenes y E. coli.
- e Se aisló Strep. sanguis, Staph. epidermidis + Enterococcus.

14. BIBLIOGRAFÍA

1. **Doskeland, S.O. and Berdal, B.P. (1980).** Bacterial antigen detection in body fluids: methods for rapid antigen concentration and reduction of nonspecific reactions. J. Clin. Microbiol., 11, 380.

2. **Edwards, E.A. (1974).** Immunological investigations of meningococcal disease. II. Some characteristics of group C antigen of Neisseria meningitidis in the sera of patients with fulminant meningococemia. J. Infect. Dis., 129, 538.

3. **Feigin, R.D., Wong, M., et al (1976).** Countercurrent immunoelectrophoresis of urine as well as of CSF and blood for diagnosis of bacterial meningitis. J. Pediatr., 89, 773.

4. **Galazka, A. (1982).** Meningococcal disease and its control with meningococcal polysaccharide vaccines. Bull. W.H.O., 60, 1.

5. **Greenwood, B.M. and Whittle, H.C. (1974).** Nature of the antigen present in the cerebrospinal fluid and serum of patients with group A meningococcal meningitis. Clin. Exp. Immunol., 16, 413.

6. **Kaldor, J., Asznowicz, R., et al (1977).** Latex agglutination in diagnosis of bacterial infections, with special reference to patients with meningitis and septicemia. Amer. J. Clin. Path., 68, 284.

7. **Leinonen, M and Käyhty, H. (1978).** Comparison of counter-current immunoelectrophoresis, latex agglutination, and radioimmunoassay in detection of soluble capsular polysaccharide antigens of Haemophilus influenzae type b and Neisseria meningitidis of groups A or C. J. Clin. Path., 31, 1172.

8. **Robbins, J.B., Myerowitz, R.L., et al (1972).** Enteric bacteria cross-reactive with Neisseria meningitidis groups A and C and Diplococcus pneumoniae types I and III. Infect. Immun., 6, 651.

9. **Slack, J. (1982).** Deaths from meningococcal infection in England and Wales in 1978. J. Royal Coll. Phys. London, 16, 40.

10. **Vann. W.F., Liu, T.Y., et al (1976).** Bacillus pumilus polysaccharide cross-reactive with meningococcal group A polysaccharide. Infect. Immun., 13, 1654.

11. **Whittle, H.C., Tugwell, P., et al (1974).** Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. Lancet, ii, 619.



 Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

Para obtener asistencia técnica, www.thermofisher.com

 	
www.thermofisher.com	
Europe + 800 135 79 135	US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539	ROW +31 20 794 7071

Wellcogen

N. meningitidis

ACY W135

REF R30859203 (ZL23)▽ 30

1. UTILISATION

Wellcogen™ *N. meningitidis* *ACY W135* est un test rapide au latex destiné à la détection qualitative de l'antigène des méningocoques (*Neisseria meningitidis*) des groupes A, C, Y et W135, que l'on retrouve dans le liquide céphalorachidien (LCR) suite à une infection ou encore dans des hémocultures.

REMARQUE : les tests effectués directement sur des échantillons cliniques ont une finalité de dépistage et doivent s'ajouter aux procédures de culture, non les remplacer. Les résultats doivent être utilisés conjointement avec d'autres données, par exemple les symptômes, les résultats d'autres tests, les impressions cliniques, etc.

2. RÉSUMÉ

La méningite cérébrospinale et la méningococcémie sont des manifestations fréquentes d'une infection à méningocoque, laquelle peut être qualifiée d'endémique dans de nombreuses régions et survient de façon épidémique partout dans le monde⁴. Il est particulièrement important d'en établir un diagnostic précoce⁹ pour pouvoir choisir le traitement approprié. Les organismes infectieux portent des antigènes polysaccharides de surface spécifiques aux groupes, dont une quantité se répand dans des liquides corporels comme le sérum et le liquide céphalorachidien (LCR), et est excrétée dans l'urine. L'antigène présent dans ces liquides corporels peut être détecté au moyen de méthodes immunologiques sensibles telles que l'électrosynérèse et l'agglutination au latex^{3,6,7,11}. Parmi les sérogroupes les plus fréquemment associés aux infections à méningocoque figurent les groupes A, B, C, Y et W135⁴. L'antigène du groupe B est plus difficile à détecter⁶ que les autres et il n'est pas intégré au réactif polyvalent.

3. PRINCIPE DU TEST

Le réactif Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* consiste en des particules de latex de polystyrène enrobées d'anticorps spécifiquement dirigés contre les antigènes des *N. meningitidis* des sérogroupes A, C, Y et W135. Ces particules de latex s'agglutinent en présence d'une quantité suffisante d'antigènes homologues.

Certains échantillons de LCR montrent une agrégation non spécifique des particules de latex, et une préparation de latex de contrôle est fournie afin de les identifier.

4. DÉFINITIONS DES SYMBOLES

REF	Référence catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Consulter le mode d'emploi
	Limites de température (temp. de stockage)
Σ _N	Contenu suffisant pour <N> tests
LOT	Code de lot (numéro de lot)
	Utiliser avant (date de péremption)
UDI	Identifiant unique du dispositif
EC REP	Représentant autorisé au sein de la Communauté européenne
UK CA	Conformité évaluée au Royaume-Uni
CE	Système européen d'évaluation de la conformité
	Fabricant

5. CONTENU DE LA TROUSSE, PRÉPARATION POUR UTILISATION ET CONSERVATION

La trousse Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* contient suffisamment de réactifs pour effectuer 30 tests.

Voir également les Précautions, section 6.

Tous les composants doivent être stockés entre 2 et 8 °C ; dans ces conditions, ils conserveront leur activité jusqu'à la date de péremption de la trousse.

Avant utilisation, amener tous les réactifs à température ambiante (18-30 °C) et mélanger. Remettre les réactifs inutilisés au réfrigérateur après utilisation.

Notice d'utilisation
Cartes de réaction jetables (1 paquet)
Bâtonnets de mélange jetables (2 paquets)
Compte-gouttes jetables (1 boîte)
Tétine en caoutchouc noire (1)
Latex test
Un flacon compte-gouttes (capuchon gris) contenant une suspension à 0,5 % de particules de latex de polystyrène dans un tampon glycine salin, pH 8,2, avec 0,1 % d'azide de sodium comme conservateur. Les particules de latex sont recouvertes d'anticorps de lapin dirigés contre les antigènes de <i>N. meningitidis</i> groupes A, C, Y et W135.
CONTROL LATEX
Latex de contrôle
Un flacon compte-gouttes (capuchon bleu foncé) contenant une suspension à 0,5 % de particules de latex de polystyrène dans un tampon glycine salin, pH 8,2, avec 0,1 % d'azide de sodium comme conservateur. Les particules de latex sont recouvertes de globulines de lapins non-immunisés.

Les suspensions de latex sont fournies prêtes à l'emploi et doivent être conservées en position verticale entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption de la trousse. Après un stockage prolongé, le latex peut légèrement s'agréger ou

sécher en haut du flacon. Si cela se produit, le flacon de latex doit être vigoureusement agité pendant quelques secondes jusqu'à ce que la remise en suspension soit effectuée. NE PAS CONGELER.

Contrôle positif polyvalent

Un flacon (capuchon bleu) contenant des extraits bactériens lyophilisés, notamment l'antigène d'une souche représentative de *N. meningitidis* du groupe C. Contient 0,01 % de bronopol avant reconstitution et 0,004 % une fois la reconstitution effectuée.

Reconstituer avec 3,6 ml d'eau distillée stérile. Après ajout de l'eau, laisser le flacon reposer à la verticale pendant quelques minutes, puis l'agiter par un mouvement de rotation pour mélanger. Stocker l'antigène reconstitué entre 2 et 8 °C pour une conservation jusqu'à 6 mois.

Contrôle négatif

Un flacon compte-gouttes (capuchon blanc) contenant un tampon glycine salin, pH 8,2, avec du Bronidox® à 0,05 % comme conservateur.

6. PRÉCAUTIONS

IVD

Les réactifs sont exclusivement destinés à une utilisation diagnostique in vitro.

Usage exclusivement réservé à des professionnels.

Se reporter à la fiche de données de sécurité (FDS) et à l'étiquetage du produit pour prendre connaissance des informations relatives aux composants potentiellement dangereux.

ASPECTS SANITAIRES ET DE SÉCURITÉ

6.1 Les latex test et contrôle contiennent 0,1 % d'azide de sodium. Les azides peuvent réagir avec le cuivre et le plomb utilisés dans certains systèmes de canalisations pour former des sels explosifs. Les quantités utilisées dans cette trousse sont faibles ; néanmoins, lors de l'élimination de matériaux contenant des azides, il convient de procéder simultanément à un rinçage à grande eau.

6.2 Conformément aux principes de bonnes pratiques de laboratoire, il est fortement recommandé de traiter les liquides corporels comme potentiellement infectieux et de les manipuler en observant toutes les précautions nécessaires.

6.3 En cas de manipulation d'un milieu d'hémoculture pour analyse radiométrique, les règles élémentaires de protection contre le rayonnement doivent être respectées. Celles-ci comprennent les suivantes :

- a) Le matériau radioactif doit être conservé dans une zone réservée, dans un conteneur agréé.
- b) Toute manipulation avec radioactivité doit avoir lieu dans une zone réservée.
- c) Ne pas pipeter à la bouche un matériau radioactif.
- d) Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone réservée.
- e) Un lavage de mains soigneux doit être effectué après utilisation d'un matériau radioactif.
- f) Le responsable local de la protection contre le rayonnement doit être consulté pour connaître les exigences concernant l'élimination.

6.4 Les instruments non jetables doivent être stérilisés par toute procédure appropriée après utilisation, la méthode de prédilection étant cependant le passage à l'autoclave pendant 15 minutes à 121 °C. Les éléments jetables doivent être passés à l'autoclave ou incinérés. Les matériaux potentiellement infectieux qui seraient déversés doivent immédiatement être éliminés avec du papier absorbant, et les zones contaminées doivent être tamponnées avec un désinfectant antibactérien standard ou de l'alcool à 70 %. Ne PAS utiliser d'hypochlorite de sodium. Les matériaux utilisés pour nettoyer les déversements, y compris les gants, doivent être mis au rebut en tant que déchets nocifs pour l'organisme.

6.5 Ne pas pipeter à la bouche. Porter des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons et de la réalisation du test. Se laver soigneusement les mains lorsque la procédure est terminée.

6.6 Lorsqu'ils sont utilisés conformément aux principes des bonnes pratiques de laboratoire, aux normes à respecter d'hygiène du travail et aux instructions données dans la présente notice d'utilisation, les réactifs fournis ne sont pas considérés comme présentant un danger pour la santé.

PRÉCAUTIONS ANALYTIQUES

6.7 Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption indiquée.

6.8 Les réactifs latex doivent être amenés à température ambiante (entre18 et 30 °C) avant utilisation. Les réactifs latex qui montrent des signes d'agrégation ou un aspect « granuleux » peuvent avoir subi une congélation et ne doivent absolument pas être utilisés.

6.9 Il est important, lors de l'utilisation des flacons compte-gouttes, de maintenir ceux-ci verticalement et que la goutte se forme à la pointe de la canule. Si la canule est mouillée, il y aura un volume incorrect se formant vers l'extrémité, et non à la pointe ; dans ce cas, sécher la canule avant de continuer.

6.10 Les réactifs fournis avec chaque trousse sont correspondants en termes de performances et ne doivent pas être utilisés avec des réactifs provenant d'une trousse dont le numéro de lot est différent.

6.11 Ne pas toucher les zones de réaction sur les cartes.

6.12 Ce test autorise l'utilisation d'agitateurs rotatifs mécaniques. Les caractéristiques suivantes ont été estimées satisfaisantes :

- a) Agitateurs rotatifs orbitaux (également dénommés agitateurs rotatifs dimensionnels) fonctionnant à 25 rpm avec un angle de rotation approximatif de 9 à 10,5 degrés, ou fonctionnant à 18 rpm avec un angle de rotation de 16 à 17,5 degrés.

6.13 Éviter la contamination microbienne des réactifs car celle-ci pourrait donner lieu à des résultats erronés.

7. PRÉLEVEMENT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

7.1 Les échantillons de LCR doivent être testés le plus rapidement possible après le prélèvement. Si le liquide ne peut pas être immédiatement testé, il peut être conservé jusqu'au lendemain entre 2 et 8 °C, ou plus longtemps s'il est conservé congelé entre −15 et −25 °C. S'il est nécessaire de soumettre l'échantillon à des analyses bactériologiques,

celles-ci doivent être préparées avant d'effectuer le test au latex afin d'éviter une contamination de l'échantillon.

7.2 Les hémocultures peuvent être échantillonnées et testées après 18 à 24 heures d'incubation à 37 °C et/ou dès lors qu'une croissance bactérienne est observée.

8. PROCÉDURE DE TEST
MATÉRIEL REQUIS FOURNI
Voir le Contenu de la trousse, section 5.
MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI
Bain-marie à ébullition
Centrifugeuse de laboratoire ou filtres à membrane (0,45 μm)
Agitateur rotatif (facultatif; se reporter aux Précautions, section 6)
PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS CLINIQUES

8.1 Les échantillons de LCR doivent impérativement être chauffés1 avant de procéder au test par la procédure Wellcogen, afin de réduire au maximum le risque de réactions non spécifiques. Les procédures suivantes sont recommandées :

- a) Chauffer l'échantillon pendant 5 minutes dans un bain-marie à ébullition. Laisser refroidir l'échantillon jusqu'à température ambiante (18 à 30 °C) et le clarifier par centrifugation ou filtration avec membranes (0,45 μm) avant d'effectuer le test.

8.2 Hémocultures. Centrifuger un échantillon d'1 à 2 ml pour former un culot d'hématies, par exemple à 1000 x g pendant 5 à 10 minutes. Effectuer le test au latex sur le surnageant. S'il se produit une réaction non spécifique avec un surnageant d'hémoculture (voir l'Interprétation des résultats, section 10), chauffer l'échantillon dans un bain-marie à ébullition pendant 5 minutes, le laisser refroidir jusqu'à température ambiante (18 à 30 °C), le clarifier par centrifugation et effectuer à nouveau le test.

PROCÉDURE

Il est conseillé de lire attentivement les Précautions, section 6, avant d'effectuer le test.

REMARQUE : si le volume disponible de l'échantillon à tester est limité, l'échantillon doit d'abord être utilisé avec le latex test, et en cas d'obtention d'un résultat positif, il doit être ensuite testé avec le latex de contrôle. Si l'échantillon est d'un volume suffisant, il doit être testé simultanément avec les latex test et de contrôle.

Étape 1	Traiter l'échantillon comme décrit dans la Préparation des échantillons cliniques, section 8.
Étape 2	Agiter les réactifs latex.
Étape 3	Pour chaque échantillon à tester, déposer 1 goutte 1 goutte de latex de test dans un cercle d'une carte de réaction, et 1 goutte de latex de contrôle dans un autre cercle. S'assurer que les flacons compte-gouttes sont maintenus en position verticale pour verser une goutte précise. (Voir les Précautions , section 6).
Étape 4	À l'aide d'un compte-gouttes jetable, 1 goutte verser 1 goutte (environ 40 μl) de l'échantillon à tester à côté de chaque goutte de latex.
Étape 5	Mélanger le contenu de chaque cercle avec un bâtonnet de mélange et étaler pour recouvrir la zone entière du cercle. Utiliser un bâtonnet différent pour chaque cercle et le jeter après utilisation de façon à ce qu'il soit éliminé en toute sécurité.
Étape 6	Bouger la carte en la basculant lentement et 3 min observer la formation d'une agglutination pendant 3 minutes, en maintenant la carte à une distance normale de lecture (25 à 35 cm des yeux). Ne pas utiliser de loupe grossissante. Un agitateur rotatif mécanique peut être utilisé pendant 3 minutes (voir les Précautions , section 6). Les résultats obtenus sont clairs et facilement interprétables dans des conditions normales d'éclairage.
Étape 7	Jeter la carte de réaction utilisée de façon à ce qu'elle soit éliminée en toute sécurité.

9. CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les procédures ci-après doivent être effectuées initialement avec chaque livraison de trousses de test et avec chaque série d'échantillons destinés au test. En pratique, une série peut être définie comme étant une période de tests d'une durée allant jusqu'à 24 heures. Tout écart par rapport aux résultats escomptés indique un possible problème au niveau des réactifs, qu'il est impératif de résoudre avant toute utilisation ultérieure avec des échantillons cliniques.

INSPECTION VISUELLE

Il est nécessaire de toujours vérifier l'absence d'agrégation au niveau des suspensions de latex lorsqu'elles sont déposées sur la carte test ; s'il y a des signes d'agglomération avant l'ajout de l'échantillon destiné au test, la suspension ne doit pas être utilisée. Après un stockage prolongé, le latex peut légèrement s'être agrégé ou avoir séché en haut du flacon. Si ce phénomène se produit, le flacon doit être vigoureusement agité pendant quelques secondes jusqu'à ce que la remise en suspension soit effectuée.

PROCÉDURE DE CONTRÔLE POSITIF

La réactivité du test peut être confirmée en ajoutant un contrôle positif polyvalent dans un cercle de réaction pour lequel l'échantillon destiné au test n'a pas entraîné d'agglutination du latex test après rotation pendant 3 minutes.

Étape 1	Utiliser un compte-gouttes jetable pour ajouter 1 goutte de contrôle positif dans le cercle contenant le latex de test et l'échantillon.	1 goutte
Étape 2	Mélanger avec un bâtonnet de mélange et jeter celui-ci de façon à ce qu'il soit éliminé en toute sécurité.	
Étape 3	Bouger la carte en la basculant, manuellement ou avec un agitateur rotatif, pendant 3 minutes supplémentaires. Après cela, une agglutination avérée doit être visible dans le latex de test.	3 min
Étape 4	Jeter la carte de réaction utilisée de façon à ce qu'elle soit éliminée en toute sécurité.	

PROCÉDURE DE CONTRÔLE NÉGATIF

Si au moins un échantillon testé dans une série donne un résultat négatif avec les latex test et de contrôle (ou avec le latex test seul quand aucun latex de contrôle n'a été utilisé), cela constitue un contrôle négatif valide et il n'est pas nécessaire de procéder à d'autres tests.

Si l'échantillon testé donne une agglutination avec le latex test et une absence d'agglutination avec le latex de contrôle, le latex test doit alors être testé, soit avec le contrôle négatif soit avec un milieu d'hémoculture non inoculé, selon les cas (voir ci-dessous).

Étape 1	Déposer 1 goutte de latex de test dans un cercle sur une carte de réaction.	1 goutte
Étape 2	Verser 1 goutte de contrôle négatif ou de milieu d'hémoculture non inoculé à côté du latex de test.	1 goutte
Étape 3	Mélanger avec un bâtonnet de mélange et jeter celui-ci de façon à ce qu'il soit éliminé en toute sécurité.	
Étape 4	Bouger la carte en la basculant, manuellement ou avec un agitateur rotatif, pendant 3 minutes. Après cela, il ne devrait y avoir aucune agglutination significative dans le latex test.	3 min
Étape 5	Jeter la carte de réaction utilisée de façon à ce qu'elle soit éliminée en toute sécurité.	

Pour les tests avec des échantillons de liquides corporels, le contrôle négatif fourni avec la trousse doit être utilisé.

Pour les tests avec des hémocultures, un échantillon de milieu d'hémoculture non inoculé provenant de la même source que l'échantillon doit être utilisé en tant que contrôle négatif. Remarque : le test d'un milieu non inoculé est important car des résultats fausement positifs peuvent être observés avec certaines formulations de milieu d'hémoculture.

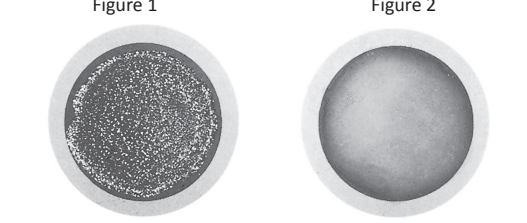
REMARQUE : des échantillons positifs et négatifs précédemment soumis au test, séparés en parties aliquotes et conservés à une température entre −15 et −25 °C ou inférieure, peuvent être le cas échéant utilisés en tant que contrôles respectivement positifs et négatifs. Le contrôle positif peut également être utilisé à la place de l'échantillon destiné au test.

10. RÉSULTATS

LECTURE DES RÉSULTATS

Une réaction positive est indiquée par le développement d'un profil d'agglutination dans les 3 minutes suivant le mélange du latex et de l'échantillon à tester, avec une agglomération clairement visible des particules de latex (figure 1).

La vitesse à laquelle apparaît l'agglutination et sa qualité dépendent de la puissance de l'antigène ; il peut y avoir de gros agglomérats apparaissant quelques secondes après le mélange comme de petits agglomérats qui se développent plutôt lentement.



Dans une réaction négative, le latex ne s'agglutine pas et l'aspect laiteux reste notablement inchangé tout au long du test (figure 2). Il convient cependant de noter que des traces subtiles de granularité peuvent être détectées dans des profils négatifs, en fonction de l'acuité visuelle de l'opérateur.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Résultat positif

Une agglutination évidente au niveau du latex test, accompagnée d'une absence d'agglutination au niveau du latex de contrôle, témoigne de la présence de l'antigène méningococcique dans le échantillons de LCR ou le surnageant d'hémoculture.

Résultat négatif

L'absence d'agglutination au niveau des deux réactifs signifie que les antigènes méningococciques des sérogroupes A, C, Y et W135 ne sont pas présents dans le liquide testé à un niveau détectable ; elle n'élimine pas la possibilité d'une infection à méningocoque, et si les symptômes persistent, il peut être souhaitable d'effectuer le test sur des échantillons autres ou prélevés ultérieurement, ou encore après concentration des échantillons d'urine.

Résultat non interprétable

Une agglutination visible au niveau du latex de contrôle, qu'elle soit plus marquée ou moins marquée que celle observée au niveau du latex test, indique une réaction non spécifique. Dans la plupart des cas, les réactions non spécifiques peuvent être éliminées en chauffant et en clarifiant le LCR (voir la Préparation des échantillons cliniques, section 8).

S'il se produit une réaction non spécifique avec un surnageant d'hémoculture, chauffer l'échantillon dans un bain-marie à ébullition pendant 5 minutes, le laisser refroidir jusqu'à température ambiante (18 à 30 °C), le clarifier par centrifugation et effectuer à nouveau le test.

11. LIMITES DE PERFORMANCES

11.1 Pour l'obtention d'un résultat positif du test, il faut la présence de l'antigène à un niveau détectable dans le échantillons de LCR ou le milieu d'hémoculture.

11.2 Quelques exemples de bactéries sans rapport possédant des antigènes communs ont été rapportés et, comme avec tout système de test immunologique, on ne peut éliminer la possibilité de réactions croisées qui se produiraient avec le test au latex^{8,10}.

12. RÉSULTATS ESCOMPTÉS

Les échantillons contenant l'antigène capsulaire de *N. meningitidis* groupe A, C, Y ou W135 à un niveau détectable produiront une réaction d'agglutination avec le latex test.

13. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Des études cliniques ont été menées dans 12 laboratoires sur des échantillons de LCR (frais et conservés congelés) et sur des surnageants d'hémocultures. Des techniques de culture aussi bien traditionnelles que radiométriques ont été employées dans les études d'hémocultures.

SENSIBILITÉ

La sensibilité du test Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* a été établie à partir de tests d'échantillons de culture positifs pour les organismes homologues. Le test Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* a détecté l'antigène dans 29 échantillons de LCR sur 41 (70,7 %) et dans 7 échantillons d'hémocultures sur 7 (100 %) (tableau 1).

SPÉCIFICITÉ

La spécificité du test Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* a été évaluée en utilisant des échantillons de LCR (frais et congelés) et d'hémocultures provenant de patients qui présentaient une méningite bactérienne ou aseptique et d'autres pathologies sans rapport.

Les organismes isolés dans les échantillons de LCR infectés étaient les suivants : pneumocoque, Haemophilus influenzae type b, *N. meningitidis* groupe B, Escherichia coli, staphylocoque doré, Mycobacterium tuberculosis et Enterobacter aerogenes.

La spécificité du test Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* pour la détection de l'antigène bactérien a été de 99,5 % (421/423) pour l'ensemble des liquides corporels testés, et de 99,9 % (1613/1615)

pour les hémocultures. Un résultat positif a été obtenu avec deux échantillons de LCR : E. coli a été isolé dans l'un et Klebsiella aerogenes dans l'autre.

Les organismes isolés dans les deux hémocultures ayant donné des réactions positives étaient : Strep. sanguis et Staphylococcus epidermidis avec un entérocoque.

Tableau 1				
Résultats d'études cliniques sur le test de détection Wellcogen N. meningitidis ACY W135				
Échantillon	Sensibilité ^a		Spécificité ^b	
	Nombre de testés	Nombre de positifs	Nombre de testés	Nombre de positifs
LCR	41 ^c	29	423	2 ^d
Hémoculture	7	7	1615	2 ^e

- a *N. meningitidis* groupe A, C, Y ou W135 isolé/indiqué.
- b Bactéries autres que *N. meningitidis* groupe A, C, Y ou W135 ; pas de croissance.
- c Dont 8 du groupe A, 25 du groupe C et 1 du groupe Y (le reste n'appartenait pas à un groupe).
- d K. aerogenes, E. coli isolés.
- e Strep. sanguis, Staph. epidermidis + entérocoque isolés.

14. BIBLIOGRAPHIE

- Doskeland, S.O. and Berdal, B.P. (1980).**
Bacterial antigen detection in body fluids: methods for rapid antigen concentration and reduction of nonspecific reactions. J. Clin. Microbiol., 11, 380.
- Edwards, E.A. (1974).**
Immunological investigations of meningococcal disease. II. Some characteristics of group C antigen of Neisseria meningitidis in the sera of patients with fulminant meningococemia. J. Infect. Dis., 129, 538.
- Feigin, R.D., Wong, M., et al (1976).**
Countercurrent immunoelectrophoresis of urine as well as of CSF and blood for diagnosis of bacterial meningitis. J. Pediatr., 89, 773.
- Galazka, A. (1982).**
Meningococcal disease and its control with meningococcal polysaccharide vaccines. Bull. W.H.O., 60, 1.
- Greenwood, B.M. and Whittle, H.C. (1974).**
Nature of the antigen present in the cerebrospinal fluid and serum of patients with group A meningococcal meningitis. Clin. Exp. Immunol., 16, 413.
- Kaldor, J., Asznowicz, R., et al (1977).**
Latex agglutination in diagnosis of bacterial infections, with special reference to patients with meningitis and septicemia. Amer. J. Clin. Path., 68, 284.
- Leinonen, M and Käyhty, H. (1978).**
Comparison of counter-current immunoelectrophoresis, latex agglutination, and radioimmunoassay in detection of soluble capsular polysaccharide antigens of Haemophilus influenzae type b and Neisseria meningitidis of groups A or C. J. Clin. Path., 31, 1172.
- Robbins, J.B., Myerowitz, R.L., et al (1972).**
Enteric bacteria cross-reactive with Neisseria meningitidis groups A and C and Diplococcus pneumoniae types I and III. Infect. Immun., 6, 651.
- Slack, J. (1982).**
Deaths from meningococcal infection in England and Wales in 1978. J. Royal Coll. Phys. London, 16, 40.
- Vann. W.F., Liu, T.Y., et al (1976).**
Bacillus pumilus polysaccharide cross-reactive with meningococcal group A polysaccharide. Infect. Immun., 13, 1654.
- Whittle, H.C., Tugwell, P., et al (1974).**
Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. Lancet, ii, 619.



 Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper
Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent,
DA2 6PT, UK

For technical assistance www.thermofisher.com

 www.thermofisher.com	
Europe + 800 135 79 135 CA 1 855 805 8539	US 1 855 236 0910 ROW +31 20 794 7071

Wellcogen

N. meningitidis

ACY W135

REF R30859203 (ZL23)▽ 30

1. USO PREVISTO

Wellcogen™ *N. meningitidis* *ACY W135* è un test rapido al lattice per la rilevazione qualitativa dell’antigene di *Neisseria meningitidis* (meningococcus) gruppi A, C, Y e W135, presente in fluido cerebrospinale (CSF) in seguito a un’infezione o in colture ematiche.

NOTA: I test eseguiti direttamente su campioni clinici hanno finalità di screening e dovrebbero accompagnare, non sostituire, le procedure colturali. I risultati devono essere utilizzati in combinazione con altri dati, per es. sintomi, risultati di altri test, impressioni cliniche ecc.

2. SOMMARIO

La meningite cerebrospinale e la sepsi meningococcica sono manifestazioni comuni della malattia meningococcica, che è endemica in molte aree e si verifica in forma epidemica in tutto il mondo⁴. La diagnosi precoce è di grande importanza⁹ per facilitare la scelta della terapia appropriata. Gli organismi infettivi veicolano antigeni polisaccaridici di superficie gruppo-specifici, una parte dei quali si diffonde in fluidi corporei come siero e fluido cerebrospinale (CSF)^{2,5} ed è escreta nell’urina³. Gli antigeni in questi fluidi corporei possono essere rilevati con metodi immunologici sensibili come controimmunoellettroforesi e agglutinazione al lattice^{3,6,7,11}. I gruppi sierologici più comunemente associati alle infezioni meningococciche comprendono A, B, C, Y e W135⁴. L’antigene di gruppo B è più difficile da rilevare⁶ rispetto agli altri e non è incluso nel reagente polivalente.

3. PRINCIPIO DEL TEST

Il reagente Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* è costituito da particelle di lattice di polistirene che sono rivestite con anticorpi specifici per gli antigeni di *N. meningitidis* dei gruppi A, C, Y e W135. Tali particelle di lattice agglutinano in presenza di un antigene omologo sufficiente.

Alcuni campioni di CSF causano un’aggregazione aspecifica delle particelle di lattice e per identificare questi campioni è fornita una preparazione di Lattice di Controllo.

4. DEFINIZIONI DEI SIMBOLI

REF	Numero di catalogo
IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Consultare le istruzioni per l'uso (IFU)
	Limiti di temperatura (temp. di conservazione)
Σ N	Contiene materiali sufficienti per <N> test
LOT	Codice del lotto (numero di lotto)
	Utilizzare entro (data di scadenza)
UDI	Identificatore univoco del dispositivo
EC REP	Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea
UK CA	Valutazione di conformità del Regno Unito
CE	Valutazione di conformità per l’Europa
	Produttore

5. CONTENUTO DEL KIT, PREPARAZIONE PER L’USO E CONSERVAZIONE

Il kit Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* contiene reagenti in quantità sufficiente per eseguire 30 test.

Vedere anche Precauzioni, sezione 6.

Tutti i componenti dovrebbero essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8°C per mantenere la propria efficacia fino alla data di scadenza del kit.

Prima dell’uso, portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (18 - 30°C) e miscelarli Rimettere i reagenti non utilizzati in frigorifero dopo l’uso.

Istruzioni per l’uso
Carte reattive monouso (1 confezione)
Bacchette di miscelazione monouso (2 mazzetti)
Contagocce monouso (1 flacone)
Tettarella in gomma nera (1)
Lattice di test
Un flacone contagocce (tappo grigio) contenente una sospensione allo 0,5% di particelle di lattice di polistirene in tampone glicina salino a pH 8,2 con sodio azide 0,1% come conservante. Le particelle di lattice sono rivestite con anticorpo di coniglio agli antigeni di <i>N. meningitidis</i> dei gruppi A, C, Y e W135.
Lattice di controllo
Un flacone contagocce (tappo blu scuro) contenente una sospensione allo 0,5% di particelle di lattice di polistirene in tampone glicina salino a pH 8,2 con sodio azide 0,1% come conservante. Le particelle di lattice sono rivestite con globuline di coniglio non immuni.

Le sospensioni di lattice sono fornite pronte per l’uso e dovrebbero essere conservate a una temperatura compresa tra 2 e 8°C, in posizione verticale, fino alla data di scadenza del kit. Dopo una prolungata conservazione, possono manifestarsi tracce di aggregazione o essiccazione del lattice attorno all’imboccatura del flacone. In tal caso, è opportuno agitare vigorosamente il flacone di lattice per alcuni secondi fino alla completa risospensione. **NON CONGELARE**.

CONTROL +

Controllo positivo polivalente

Un flacone (tappo blu) contenente estratti batterici liofilizzati con un antigene di un ceppo rappresentativo di *N. meningitidis* gruppo C. Contiene bronopol allo 0,01% prima della ricostituzione e allo 0,004% dopo la ricostituzione.

Ricostituire utilizzando 3,6 ml di acqua distillata sterile. Dopo l’aggiunta di acqua, lasciare riposare per alcuni minuti quindi ruotare il flacone per miscelarne il contenuto. Conservare l’antigene ricostituito a una temperatura compresa tra 2 e 8°C per un periodo fino a 6 mesi.

CONTROL -

Controllo negativo

Un flacone contagocce (tappo bianco) contenente tampone glicina salino a pH 8,2 con Bronidox® 0,05% come conservante.

6. PRECAUZIONI

IVD

I reagenti sono solo per uso diagnostico in vitro.

Solo per uso professionale.

Fare riferimento alla scheda tecnica di sicurezza dei materiali (MSDS) e all’etichetta del prodotto per informazioni sui componenti potenzialmente pericolosi.

INFORMAZIONI SU SALUTE E SICUREZZA

6.1 Il lattice test e di controllo contengono sodio azide 0,1%. Gli azidi possono reagire con il rame e il piombo utilizzati negli impianti idraulici, formando sali esplosivi. Le quantità utilizzate in questo kit sono ridotte; tuttavia, dopo lo smaltimento di materiali contenenti azide, è opportuno lavare gli scarichi con un’abbondante quantità d’acqua.

6.2 In conformità ai principi delle Buone prassi di laboratorio, si raccomanda di trattare i fluidi corporei come potenzialmente infettivi e di maneggiarli con tutte le necessarie precauzioni.

6.3 Nella manipolazione del terreno di coltura ematico con metodo radiometrico, è opportuno seguire le regole di base per la sicurezza delle radiazioni. Tali regole comprendono quanto segue:

- a) Conservare il materiale radioattivo in un’area designata all’interno di un contenitore approvato.
- b) Maneggiare il materiale radioattivo in un’area designata.
- c) Non pipettare con la bocca il materiale radioattivo.
- d) Non mangiare, bere o fumare nell’area designata.
- e) Lavare con cura le mani dopo l’uso di materiale radioattivo.
- f) Per lo smaltimento, consultare il funzionario locale addetto alla sicurezza delle radiazioni.

6.4 Dopo l’uso, sterilizzare le attrezzature non monouso con qualunque procedura appropriata, anche se il metodo preferibile è la sterilizzazione in autoclave per 15 minuti a 121°C. I prodotti monouso dovrebbero essere sterilizzati in autoclave o inceneriti. Eventuali fuoriuscite di materiali potenzialmente infettivi dovrebbero essere rimosse immediatamente con carta assorbente, asciugando e trattando le aree contaminate con un disinfettante batterico standard o con alcool al 70%. **NON** utilizzare ipoclorito di sodio. I materiali utilizzati per pulire eventuali fuoriuscite di materiali, compresi i guanti, dovrebbero essere smaltiti come rifiuti a rischio biologico.

6.5 Non pipettare con la bocca. Indossare guanti monouso e protezioni oculari quando si maneggiano campioni e si eseguono i test. Lavare con cura le mani al termine delle procedure.

6.6 Se utilizzati in conformità ai principi delle buone prassi di laboratorio, ai corretti standard di igiene del lavoro e alle indicazioni fornite nelle presenti Istruzioni per l’uso, i reagenti forniti non sono considerati presentare un pericolo per la salute.

PRECAUZIONI ANALITICHE

6.7 Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza indicata.

6.8 I reagenti al lattice dovrebbero essere portati a temperatura ambiente (da 18 a 30°C) prima dell’uso. I reagenti al lattice che mostrano tracce di aggregazione o agglutinazione prima dell’uso potrebbero essersi congelati e non devono essere utilizzati.

6.9 Quando si utilizzano i flaconi contagocce, è importante mantenerli in posizione verticale per consentire la corretta formazione della goccia sulla punta del beccuccio. Se il beccuccio si bagna prima che arrivi la goccia, si rischia di dispensare gocce di volume inappropriato formatesi attorno al bordo anziché sulla punta. In tal caso, è necessario asciugare il beccuccio prima di procedere.

6.10 I reagenti forniti con ogni kit sono combinati tra loro in maniera specifica e non dovrebbero essere utilizzati con reagenti appartenenti a kit di lotti diversi.

6.11 Non toccare le superfici reattive delle carte.

6.12 Possono essere anche utilizzati rotatori meccanici per questo test. A tal fine, si considerano appropriate le seguenti caratteristiche:

- i) Rotatori orbitali (noti anche come rotatori dimensionali) funzionanti a 25 rpm con angolo di rotazione approssimativo compreso tra 9 e 10,5 gradi o funzionanti a 18 rpm con angolo di rotazione compreso tra 16 e 17,5 gradi.

6.13 Impedire eventuali contaminazioni microbiche dei reagenti che potrebbero determinare risultati erranei.

7. PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

7.1 I campioni di CSF dovrebbero essere sottoposti a test nel più breve tempo possibile dopo il prelievo. Se il fluido non può essere sottoposto a test immediatamente, è possibile conservarlo per una notte a temperatura compresa tra 2 e 8°C o per periodi più lunghi congelandolo a temperatura da –15 a –25°C. Se sono richieste analisi batteriologiche sul campione, queste dovrebbero essere attuate prima di eseguire il test al lattice per impedire eventuali contaminazioni del campione.

7.2 Le colture ematiche possono essere sottoposte a prelievo di campioni e testate dopo incubazione da 18 a 24 ore a 37°C e/o non appena si osserva crescita batterica.

8. PROCEDURA DEL TEST

MATERIALI NECESSARI INCLUSI NEL KIT

Vedere Contenuto del kit, sezione 5.

MATERIALI NECESSARI NON INCLUSI NEL KIT

Bagno d’acqua in ebollizione

Centrifuga da laboratorio o filtri a membrana (0,45 µm)

Rotatore (opzionale – vedere Precauzioni, sezione 6)

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI CLINICI

8.1 I campioni di CSF devono essere riscaldati1 prima dell’esecuzione del test mediante la procedura Wellcogen per ridurre al minimo le reazioni aspecifiche. Si raccomandano le procedure seguenti:

- a) Riscaldare il campione per 5 minuti in un bagno d’acqua in ebollizione. Raffreddare il campione a temperatura ambiente (da 18 a 30°C) e chiarificare mediante centrifugazione o filtrazione a membrana (0,45 µm) prima di eseguire il test.

8.2 Colture ematiche. Centrifugare un campione di 1-2 ml per ottenere un pellet di eritrociti, per esempio a 1000 g per 5- 10 minuti. Eseguire il test al lattice sul supernatante. Se si verifica una reazione aspecifica con un supernatante di coltura ematica (vedere Interpretazione dei Risultati, sezione 10), riscaldare il campione in un bagno d’acqua in ebollizione per 5 minuti, raffreddare a temperatura ambiente (da 18 a 30°C), chiarificare mediante centrifugazione e ripetere il test.

PROCEDURA

Si raccomanda di leggere attentamente la sezione 6 Precauzioni prima di eseguire il test.

NOTA: Se è disponibile soltanto un volume di campione di test limitato, si consiglia di utilizzarlo inizialmente con il Lattice Test e in caso di risultato positivo il campione dovrebbe essere testato con il Lattice di Controllo. Se è disponibile un campione sufficiente, si consiglia di sottoporlo a test con i Lattici Test e di Controllo simultaneamente.

Fase 1	Processare il campione come descritto in Preparazione dei campioni clinici , sezione 8.	
Fase 2	Agitare i reagenti al lattice.	
Fase 3	Per ogni campione di test, versare 1 goccia di Lattice di test in un cerchio su una carta reattiva e 1 goccia di Lattice di Controllo in un cerchio separato. Assicurarsi di mantenere i flaconi contagocce in posizione verticale per dispensare una goccia di volume appropriato. (Vedere Precauzioni , sezione 6).	1 goccia
Fase 4	Utilizzando un flacone contagocce monouso, dispensare 1 goccia (circa 40 µl) di Campione di Test accanto a ogni goccia di lattice.	1 goccia
Fase 5	Miscelare il contenuto di ogni cerchio con una bacchetta di miscelazione e spanderlo in modo da coprire l’intera superficie del cerchio. Utilizzare una bacchetta separata per ogni cerchio e scartarla dopo l’uso per lo smaltimento appropriato.	
Fase 6	Scuotere lentamente la carta e osservare se vi sono tracce di agglutinazione per 3 minuti, tenendo la carta a una distanza di lettura normale (25 - 35 cm) dagli occhi. Non usare una lente di ingrandimento. Può essere utilizzata anche la rotazione meccanica (3 minuti) (Vedere Precauzioni , sezione 6). I pattern ottenuti sono netti e chiaramente riconoscibili in tutte le normali condizioni di illuminazione.	3 min
Fase 7	Scartare la carta reattiva utilizzata per lo smaltimento appropriato.	

9. CONTROLLO DI QUALITÀ

Le seguenti procedure dovrebbero essere eseguite inizialmente con ogni lotto di spedizione dei kit di test e con ogni serie di campioni di test. Una serie può essere in pratica definita come un periodo di test di durata fino a 24 ore. Qualunque deviazione dai risultati attesi indica che può esservi un problema con i reagenti che deve essere risolto prima del successivo utilizzo con i campioni clinici.

ISPEZIONE VISIVA

Le sospensioni di lattice dovrebbero sempre essere ispezionate per rilevare eventuali tracce di aggregazione quando si dispensano sulla carta reattiva. Se vi è traccia di agglutinazione prima dell’aggiunta del campione di test, la sospensione non deve essere utilizzata.

Dopo una prolungata conservazione, possono manifestarsi tracce di aggregazione o essiccazione del lattice attorno all’imboccatura del flacone. In tal caso, occorre agitare vigorosamente il flacone per alcuni secondi fino alla completa risospensione.

PROCEDURA CON CONTROLLO POSITIVO

La reattività del test può essere confermata aggiungendo un Controllo Positivo Polivalente in un cerchio di reazione in cui il campione di test non ha agglutinato il Lattice Test dopo rotazione per 3 minuti.

Fase 1	Utilizzando un contagocce monouso, aggiungere 1 goccia di Controllo Positivo nel cerchio contenente il Lattice di Test e il campione.	1 goccia
Fase 2	Miscelare utilizzando una bacchetta di miscelazione e scartarla dopo l’uso per lo smaltimento appropriato.	
Fase 3	Scuotere la carta manualmente o mediante un rotatore per altri 3 minuti. Dopo questo tempo, dovrebbe essere visibile una netta agglutinazione nel Lattice di Test.	3 min
Fase 4	Scartare la carta reattiva utilizzata per lo smaltimento appropriato.	

PROCEDURA CON CONTROLLO NEGATIVO

Se almeno un campione di test di una serie fornisce un risultato negativo con i Lattici Test e di Controllo (o solo Lattice Test senza Lattice di Controllo), questo costituisce un controllo negativo valido per i reagenti e non sono necessari ulteriori test.

Se un campione di test mostra agglutinazione con il Lattice Test e nessuna agglutinazione con il Lattice di Controllo, è consigliabile testare il Lattice Test con il Controllo Negativo o con terreno di coltura ematica non inoculato, come opportuno (vedere di seguito).

Fase 1	Deporre una goccia di Lattice di Test in un cerchio su una Carta Reattiva.	1 goccia
Fase 2	Dispensare una goccia di Controllo Negativo o terreno di coltura ematica non inoculato accanto al Lattice di test.	1 goccia
Fase 3	Miscelare utilizzando una bacchetta di miscelazione e scartarla dopo l’uso per lo smaltimento appropriato.	
Fase 4	Scuotere la carta manualmente o mediante un rotatore per altri 3 minuti. Dopo questo tempo, non dovrebbe esservi una significativa agglutinazione nel Lattice di Test.	3 min
Fase 5	Scartare la carta reattiva utilizzata per lo smaltimento appropriato.	

Per i test con campioni di fluido corporeo, dovrebbe essere utilizzato il Controllo Negativo fornito nel kit.

Per i test con colture ematiche, dovrebbe essere utilizzato come controllo negativo un campione di terreno di coltura ematica non inoculato della stessa origine del campione. Nota: è importante effettuare il test su terreni non inoculati, poiché potrebbero prodursi falsi positivi con alcune formulazioni di terreni di coltura ematici.

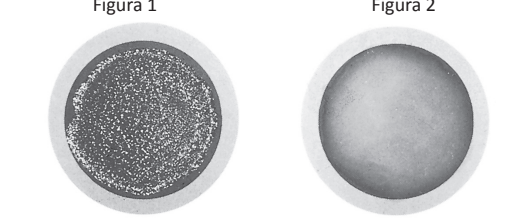
NOTA: a) Come controlli positivi e negativi, possono essere eventualmente utilizzati campioni positivi o negativi già sottoposti a test precedentemente, opportunamente aliquotati e conservati a temperatura compresa tra –15 e –25°C o inferiore. Il Controllo Positivo può essere anche utilizzato al posto del campione di test.

10. RISULTATI

LETTURA DEI RISULTATI

Una reazione positiva è indicata dallo sviluppo di un pattern agglutinato entro 3 minuti dalla miscelazione del lattice con il campione di test, mostrando un’agglutinazione di particelle di lattice chiaramente visibile (Figura 1).

La velocità di comparsa e la qualità dell’agglutinazione dipende dalla resistenza dell’antigene, variabile da grandi agglomerati che compaiono entro pochi secondi dalla miscelazione a piccoli agglomerati che si sviluppano piuttosto lentamente.



In una reazione negativa, il lattice non agglutina e l’aspetto lattiginoso rimane sostanzialmente invariato per tutto il test (Figura 2). Va tuttavia osservato che si possono rilevare deboli tracce di granularità nei pattern negativi, a seconda dell’acutezza visiva dell’operatore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Risultato Positivo

Una chiara agglutinazione del Lattice Test accompagnata da una mancanza di agglutinazione del Lattice di Controllo indica la presenza di un antigene meningococcico nel fluido corporeo o nel supernatante di coltura ematica.

Risultato Negativo

La mancanza di agglutinazione in entrambi i reagenti indica l’assenza di un antigene meningococcico di gruppo A, C, Y o W135 nel fluido di test, ma non esclude la possibilità di un’infezione meningococcica e, se i sintomi persistono, può essere auspicabile eseguire il test su campioni successivi o alternativi o dopo concentrazione del campione di urina.

Risultato non interpretabile

L’agglutinazione visibile del Lattice di Controllo, sia essa più forte o più debole rispetto al Lattice Test, indica una reazione aspecifica. Nella maggior parte dei casi, le reazioni aspecifiche con fluidi corporei possono essere eliminate mediante riscaldamento e chiarificazione del campione4 (vedere Preparazione dei Campioni Clinici, sezione 8). Se si verifica una reazione aspecifica con un supernatante di coltura ematica, riscaldare il campione in un bagno d’acqua in ebollizione per 5 minuti, raffreddare a temperatura ambiente (da 18 a 30°C), chiarificare mediante centrifugazione e ripetere il test.

11. LIMITI DI PERFORMANCE

11.1 Un risultato positivo nel test dipende dalla presenza di un livello rilevabile di antigene nel campioni di CSF o nel terreno di coltura ematica.

11.2 Sono stati riferiti alcuni esempi di batteri non correlati che possiedono antigeni comuni e, come per qualunque sistema di test immunologico, non può essere esclusa la possibilità di reazioni crociate emergenti dal test al lattice^{8,10}.

12. RISULTATI ATTESI

I campioni contenenti un livello rilevabile dell’antigene di *N. meningitidis* A, C, Y o W135 forniranno una reazione all’agglutinazione con il Lattice Test.

13. CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

Sono stati effettuati studi clinici presso 12 laboratori utilizzando campioni di CSF (freschi e conservati refrigerati) e supernatanti in coltura ematica. Negli studi su colture ematiche, sono state impiegate entrambe le tecniche culturale tradizionale e radiometrica.

SENSIBILITÀ

La sensibilità di Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* è stata stabilita da test su campioni risultati positivi in coltura per gli organismi omologhi. Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* ha rilevato l’antigene in 29/41 campioni di fluido corporeo (70,7%) e 7/7 campioni di coltura ematica (100%) (Tabella 1).

SPECIFICITÀ

La specificità di Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* è stata valutata utilizzando campioni di CSF (fresco e congelato) e campioni di coltura ematica prelevati da pazienti con meningite batterica o asettica e altre condizioni non correlate. Gli organismi isolati dai campioni di fluido corporeo infetti erano Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae tipo b, *N. meningitidis* gruppo B, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Mycobacterium tuberculosis ed Enterobacter aerogenes.

La specificità di Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* nel rilevamento dell’antigene batterico in tutti i campioni di CSF testati è stata pari al 99,5% (421/423) e 99,9% (1613/1615) per le colture ematiche. Un risultato positivo è stato ottenuto da due campioni di CSF, E. coli è stata isolata da uno e Klebsiella aerogenes dall’altro. Gli organismi isolati dalle due colture ematiche erano Strep. sanguis e Staphylococcus epidermidis mescolati a un Enterococco.

Tabella 1

Risultati di studi clinici su Wellcogen *N. meningitidis* ACY W135

Campione	Sensibilità ^a		Specificità ^b	
	N. testati	N. positivi	N. testati	N. positivi
Fluidi cerebrospinali	41 ^c	29	423	2 ^d
Cultura ematica	7	7	1615	2 ^e

- a *N. meningitidis* gruppo A, C, Y o W135 isolato/indicato.
- b Batteri diversi da *N. meningitidis* gruppo A, C, Y o W135; nessuna crescita.
- c Comprende 8 di gruppo A, 25 di gruppo C e 1 di gruppo Y (i restanti non erano in gruppi).
- d *K. aerogenes*; *E. coli* isolato.
- e *Strep. sanguis*; *Staph. epidermidis* + *Enterococcus* isolato.

14. BIBLIOGRAFIA

1. **Doskeland, S.O. and Berdal, B.P. (1980).**
Bacterial antigen detection in body fluids: methods for rapid antigen concentration and reduction of nonspecific reactions. J. Clin. Microbiol., 11, 380.

2. **Edwards, E.A. (1974).**
Immunological investigations of meningococcal disease. II. Some characteristics of group C antigen of *Neisseria meningitidis* in the sera of patients with fulminant meningococemia. J. Infect. Dis., 129, 538.

3. **Feigin, R.D., Wong, M., et al (1976).**
Countercurrent immunoelectrophoresis of urine as well as of CSF and blood for diagnosis of bacterial meningitis. J. Pediatr., 89, 773.

4. **Galazka, A. (1982).**
Meningococcal disease and its control with meningococcal polysaccharide vaccines. Bull. W.H.O., 60, 1.

5. **Greenwood, B.M. and Whittle, H.C. (1974).**
Nature of the antigen present in the cerebrospinal fluid and serum of patients with group A meningococcal meningitis. Clin. Exp. Immunol., 16, 413.

6. **Kaldor, J., Asznowicz, R., et al (1977).**
Latex agglutination in diagnosis of bacterial infections, with special reference to patients with meningitis and septicemia. Amer. J. Clin. Path., 68, 284.

7. **Leinonen, M and Käyhty, H. (1978).**
Comparison of counter-current immunoelectrophoresis, latex agglutination, and radioimmunoassay in detection of soluble capsular polysaccharide antigens of *Haemophilus influenzae* type b and *Neisseria meningitidis* of groups A or C. J. Clin. Path., 31, 1172.

8. **Robbins, J.B., Myerowitz, R.L., et al (1972).**
Enteric bacteria cross-reactive with *Neisseria meningitidis* groups A and C and *Diplococcus pneumoniae* types I and III. Infect. Immun., 6, 651.

9. **Slack, J. (1982).**
Deaths from meningococcal infection in England and Wales in 1978. J. Royal Coll. Phys. London, 16, 40.

10. **Vann. W.F., Liu, T.Y., et al (1976).**
Bacillus pumilus polysaccharide cross-reactive with meningococcal group A polysaccharide. Infect. Immun., 13, 1654.

11. **Whittle, H.C., Tugwell, P., et al (1974).**
Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. Lancet, ii, 619.





Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper
Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent,
DA2 6PT, UK

Per assistenza tecnica, www.thermofisher.com

11. **Whittle, H.C., Tugwell, P., et al (1974).**
Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. Lancet, ii, 619.



 Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard
West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK
For teknisk støtte www.thermofisher.com

X7711C. revidert juni 2024

reakcje dodatnie to Strep. sanguis i Staphylococcus epidermidis wymieszane z enterokokami.

Tabela 1				
Wyniki badań klinicznych nad Wellcogen				
N. meningitidis ACY W135				
Próbka	Czułość ^a		Specyficzność ^b	
	Liczba przebadanych	Liczba dodatnich	Liczba przebadanych	Liczba dodatnich
Płyn mózgowordzeniowy	41 ^c	29	423	2 ^d
Surowica	5	3	36	0
Mocz	0	–	229 ^e	0
Posiew krwi	7	7	1615	2 ^e

- a *N. meningitidis* grupy A, C, Y lub W135 wyizolowany/wykryty.
- b Bakterie inne niż *N. meningitidis* grupy A, C, Y lub W135; brak wzrostu.
- c Obejmuje 8 z grupy A, 25 z grupy C i 1 z grupy Y (pozostałe nie pogrupowane).
- d Wyizolowany *K. aerogenes*; *E. coli*.
- e Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococcus wyizolowany.

14. PIŚMIENNICTWO

- Doskeland, S.O. and Berdal, B.P. (1980).**
Bacterial antigen detection in body fluids: methods for rapid antigen concentration and reduction of nonspecific reactions. J. Clin. Microbiol., 11, 380.
- Edwards, E.A. (1974).**
Immunological investigations of meningococcal disease. II. Some characteristics of group C antigen of *Neisseria meningitidis* in the sera of patients with fulminant meningococemia. J. Infect. Dis., 129, 538.
- Feigin, R.D., Wong, M., et al (1976).**
Countercurrent immunoelectrophoresis of urine as well as of CSF and blood for diagnosis of bacterial meningitis. J. Pediatr., 89, 773.
- Galazka, A. (1982).**
Meningococcal disease and its control with meningococcal polysaccharide vaccines. Bull. W.H.O., 60, 1.
- Greenwood, B.M. and Whittle, H.C. (1974).**
Nature of the antigen present in the cerebrospinal fluid and serum of patients with group A meningococcal meningitis. Clin. Exp. Immunol., 16, 413.
- Kaldor, J., Asznowicz, R., et al (1977).**
Latex agglutination in diagnosis of bacterial infections, with special reference to patients with meningitis and septicemia. Amer. J. Clin. Path., 68, 284.
- Leinonen, M and Käyhty, H. (1978).**
Comparison of counter-current immunoelectrophoresis, latex agglutination, and radioimmunoassay in detection of soluble capsular polysaccharide antigens of *Haemophilus influenzae* type b and *Neisseria meningitidis* of groups A or C. J. Clin. Path., 31, 1172.
- Robbins, J.B., Myerowitz, R.L., et al (1972).**
Enteric bacteria cross-reactive with *Neisseria meningitidis* groups A and C and *Diplococcus pneumoniae* types I and III. Infect. Immun., 6, 651.
- Slack, J. (1982).**
Deaths from meningococcal infection in England and Wales in 1978. J. Royal Coll. Phys. London, 16, 40.
- Vann. W.F., Liu, T.Y., et al (1976).**
Bacillus pumilus polysaccharide cross-reactive with meningococcal group A polysaccharide. Infect. Immun., 13, 1654.
- Whittle, H.C., Tugwell, P., et al (1974).**
Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. Lancet, ii, 619.



 Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper
Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent,
DA2 6PT, UK

Aby uzyskać pomoc techniczną, www.thermofisher.com

 www.thermofisher.com	
Europe + 800 135 79 135 CA 1 855 805 8539	US 1 855 236 0910 ROW +31 20 794 7071

Wellcogen

N. meningitidis

ACY W135

REF R30859203 (ZL23) ∇ 30

1. USO PRETENDIDO

Wellcogen™ *N. meningitidis* *ACY W135* consiste num teste de látex rápido para utilização na detecção qualitativa de antígeno proveniente de Neisseria meningitidis (meningococos) dos grupos A, C, Y e W135, presente no líquido cefalorraquidiano (LCR) como consequência de infeção ou em culturas sanguíneas.

NOTA: Os testes realizados directamente em amostras clínicas destinam-se a fins de rastreio e devem complementar, e não substituir, os procedimentos com culturas. Os resultados devem ser utilizados em conjunto com outros dados, como p. ex., sintomas, resultados de outros testes, impressões clínicas, etc.

2. RESUMO

A meningite cerebrospinal e a meningococemia são manifestações comuns da doença meningocócica, a qual é endémica em muitas zonas e ocorre de forma epidémica em todo o mundo⁴. O diagnóstico precoce é de grande importância⁹ para auxiliar na selecção de terapêutica adequada. Os organismos infecciosos transportam antígenos polissacarídicos de superfície, específicos do grupo, dos quais é disseminada uma determinada quantidade nos fluidos corporais como o soro e líquido cefalorraquidiano (LCR)^{2,5}, sendo excretada na urina³. O antígeno nestes fluidos corporais pode ser detectado através de métodos imunológicos sensíveis, incluindo contraimunoelectroforese e aglutinação em látex^{3,6,7,11}. Os grupos serológicos mais frequentemente associados a infeções meningocócicas incluem os grupos A, B, C, Y e W135⁴. O antígeno do grupo B é mais difícil de detectar⁶ do que os outros, e não está incluído no reagente polivalente.

3. PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

O reagente Wellcogen N. meningitidis *ACY W135* consiste de partículas de látex poliestireno que foram revestidas com anticorpos específicos dos antígenos dos *N. meningitidis* dos grupos A, C, Y e W135. Estas partículas de látex aglutinam-se na presença de antígeno homólogo suficiente. Algumas amostras de LCR causam a agregação não específica de partículas de látex, sendo fornecida uma preparação de látex de controlo para identificar estas amostras.

4. DEFINIÇÕES DOS SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Consultar as Instruções de utilização (IFU)
	Limitações de temperatura (temp. de armazenamento)
Σ_N	Conteúdo suficiente para <N> testes
LOT	Código de lote (número de lote)
	Utilizar até (data de expiração)
	Importador
EC REP	Representante autorizado na Comunidade Europeia
UK CA	Conformidade avaliada no Reino Unido
CE	Avaliação de conformidade europeia
	Fabricante

5. CONTEÚDO DO KIT. PREPARAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO E CONSERVAÇÃO

O Kit Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* inclui reagentes suficientes para realizar 30 testes.

Consultar também Precauções, secção 6.

Todos os componentes devem ser conservados entre 2 e 8°C, condição na qual conservarão a sua actividade até ao final do prazo de validade do kit.

Antes da sua utilização, deixe os reagentes atingirem a temperatura ambiente (18 - 30°C) e misture. Após a utilização, volte a colocar os reagentes não utilizados no frigorífico.

Instruções de utilização
Cartões de reacção descartáveis (1 pacote)
Varetas de mistura descartáveis (2 pacotes)
Conta-gotas descartáveis (1 recipiente)
Tetina de borracha preta (1)
Látex de teste
As azidas podem reagir com o cobre e chumbo contidos em alguns sistemas de canalização, formando sais explosivos. As quantidades utilizadas neste kit são pequenas. No entanto, quando eliminar materiais contendo azida, estes devem ser despejados nas canalizações juntamente com uma grande quantidade de água.
Látex de controlo
Um frasco conta-gotas (tampa azul escura) contendo uma suspensão de 0,5% de partículas de látex polistireno em tampão de glicina-solução salina, pH 8,2, com 0,1% de azida de sódio como conservante. As partículas de látex são revestidas com globulinas de coelho não imunes.
As suspensões de látex são fornecidas prontas a usar e devem ser conservadas entre 2 e 8°C na posição vertical, até ao final do prazo de validade do kit. Após armazenamento prolongado pode ocorrer alguma agregação ou secagem do látex em redor da tampa do frasco. Nestas circunstâncias, o frasco de látex deve ser agitado vigorosamente durante alguns segundos até a ressuspensão estar concluída. NÃO CONGELAR.

CONTROL +

Controlo positivo polivalente

Um frasco (tampa azul) com extractos bacterianos congelados-secos incluindo antígeno de uma estirpe representativa de N.meningitidis do grupo C. Contém 0,01% de bronopol antes da reconstituição e 0,004% depois de reconstituído.

Reconstitua com 3,6 ml de água destilada estéril. Após a adição de água, deixe o frasco em repouso durante alguns minutos e depois agite para misturar. Conserve o antígeno reconstituído entre 2 a 8°C por um período de até 6 meses.

CONTROL -

Controlo Negativo

Um frasco conta-gotas (tampa branca) contendo tampão de glicina-solução salina, pH 8,2, com 0,05% de Bronidox® como conservante.

6. PRECAUÇÕES

IVD

Os reagentes destinam-se apenas para uso em diagnóstico in vitro.

Exclusivamente para uso profissional.

Consulte a Ficha de Dados de Segurança do Material (FDSM) e a rotulagem do produto para obter informações sobre componentes potencialmente perigosos.

INFORMAÇÕES A NÍVEL DA SAÚDE E SEGURANÇA

- O látex de teste e de controlo contém 0,1% de azida de sódio. As azidas podem reagir com o cobre e chumbo contidos em alguns sistemas de canalização, formando sais explosivos. As quantidades utilizadas neste kit são pequenas. No entanto, quando eliminar materiais contendo azida, estes devem ser despejados nas canalizações juntamente com uma grande quantidade de água.
- De acordo com os princípios das Boas Práticas Laboratoriais, recomenda-se fortemente que os fluidos corporais sejam tratados como potencialmente infecciosos e manuseados com todas as precauções necessárias.
- Aquando do manuseamento de meios de cultura sanguínea radiométricos, devem ser seguidas as regras básicas de segurança contra radiação. Estas incluem:
 - O material radioactivo deve ser guardado numa área designada, dentro de um recipiente aprovado para o efeito.
 - O manuseamento de material radioactivo deve ter lugar numa área designada para o efeito.
 - Não pipetar material radioactivo com a boca.
 - Não comer, beber ou fumar na área designada.
 - Lavar cuidadosamente as mãos após a utilização de material radioactivo.
 - Deve consultar o Gabinete de Segurança contra Radiação local relativamente aos requisitos de eliminação do material.
- Os instrumentos não descartáveis devem ser esterilizados após a sua utilização mediante procedimento adequado, embora o método preferido seja a esterilização em autoclave durante 15 minutos a 121°C. Os instrumentos descartáveis devem ser submetidos a autoclave ou incinerados. Os materiais potencialmente infecciosos derramados devem ser removidos imediatamente com papel absorvente e deve-se esfregar as áreas contaminadas com um desinfectante bacteriano normal ou com álcool a 70%. NÃO utilize hipoclorito de sódio. Os materiais utilizados para limpar derrames, incluindo luvas, têm de ser eliminados como resíduos biológicos perigosos.
- Não pipete os materiais com a boca. Use luvas descartáveis e protecções oculares durante o manuseamento das amostras e a realização do ensaio. Lave cuidadosamente as mãos quando terminar.
- Quando utilizados de acordo com os princípios das Boas Práticas Laboratoriais, as boas normas da higiene ocupacional e as instruções indicadas nas Instruções de Utilização, não se considera que os reagentes fornecidos constituam um risco para a saúde.

PRECAUÇÕES ANALÍTICAS

- Não utilize os reagentes para além do prazo de validade indicado.
- Os reagentes de látex devem ser restaurados à temperatura ambiente (18 a 30°C) antes da utilização. Os reagentes de látex que mostram sinais de agregação ou aglomeração antes da utilização, podem ter sido congelados e não devem ser utilizados.
- Quando utilizar frascos conta-gotas, é importante segurá-los na vertical e que a gota se forme na ponta do bocal. Se o bocal ficar húmido, formar-se-á um volume incorrecto em redor da extremidade inferior e não na ponta; se tal ocorrer, seque o bocal antes de prosseguir.
- Os reagentes fornecidos com este kit estão equiparados em termos de desempenho e não devem ser utilizados em conjunto com reagentes de outro kit com um número de lote diferente.
- Não toque nas áreas de reacção dos cartões.
- Podem ser utilizados agitadores mecânicos neste ensaio. As seguintes características foram consideradas satisfatórias:
 - Os agitadores orbitais (também designados por agitadores dimensionais) a funcionar a 25 rpm com um ângulo de rotação aproximado de 9 a 10,5 graus ou a 18 rpm com um ângulo de rotação de 16 a 17,5 graus.
- Evite a contaminação microbiana dos reagentes, que poderá originar resultados erróneos.
- COLHEITA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS**
- As amostras de LCR devem ser testadas o mais rapidamente possível após a colheita. Se não for possível testar o fluido de imediato, este pode ser conservado de um dia para o outro entre 2 e 8°C, ou durante períodos maiores congelado entre –15 e –25°C. Se for necessário efectuar análises bacteriológicas à amostra, estas deverão ser preparadas antes da realização do teste de látex, para evitar contaminar a amostra.
- As culturas sanguíneas podem ser divididas em amostras e testadas após 18 a 24 horas de incubação a 37°C e/ou logo que se observe crescimento bacteriano.

8. PROCEDIMENTO DE TESTE

MATERIAIS NECESSÁRIOS FORNECIDOS

Consulte Conteúdo do Kit, secção 5.

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Banho de água a ferver

Centrífuga de laboratório ou filtros de membrana (0,45 µm)

Agitador (opcional – consultar Precauções, secção 6)

PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS CLÍNICAS

- As amostras de LCR devem ser aquecidas1 antes de testadas com o procedimento Wellcogen, por forma a minimizar reacções não específicas. Recomendam-se os seguintes procedimentos:
 - Aqueça a amostra durante 5 minutos num banho de água a ferver. Arrefeça a amostra até à temperatura ambiente (18 a 30°C) e clarifique-a por meio de centrifugação ou filtração por membrana (0,45 µm) antes do teste.
- Culturas sanguíneas. Centrifugue uma amostra de 1 a 2 ml para precipitar os eritrócitos, por exemplo a 1000 g durante 5 a 10 minutos. Realize o teste de látex no sobrenadante. Se ocorrer uma reacção não específica com um sobrenadante da cultura sanguínea (consultar Interpretação de Resultados, secção 10), aqueça a amostra num banho de água a ferver durante 5 minutos, arrefeça até à temperatura ambiente (18 a 30°C), clarifique por meio de centrifugação e repita o teste.

PROCEDIMENTO

Recomenda-se que a secção 6, Precauções seja lida com atenção antes da realização do teste.

NOTA: Se houver apenas um volume limitado de amostra de teste disponível, esta deve ser utilizada primeiro com o látex de teste e, no caso de obtenção de um resultado positivo, testada com o látex de controlo. Se estiver disponível amostra suficiente, esta deve ser testada em simultâneo com os látex de teste e de controlo.

Passo 1	Processe a amostra como descrito em Preparação de amostras clínicas, secção 8.
Passo 2	Agite os reagentes de látex.
Passo 3	Para cada amostra de teste, coloque 1 gota 1 gota de látex de teste num círculo num cartão de reacção e 1 gota de látex de controlo num círculo em separado. Certifique-se de que os frascos conta-gotas são mantidos na vertical a fim de dispensar uma gota exacta. (Consultar Precauções , secção 6).
Passo 4	Com um conta-gotas descartável, dispense 1 gota 1 gota (aproximadamente 40 µl) de amostra de teste junto de cada gota de látex.
Passo 5	Misture o conteúdo de cada círculo com uma vareta de mistura e espalhe de modo a cobrir a área total do círculo. Utilize uma vareta em separado para cada círculo e ponha-a de parte para posterior eliminação segura.
Passo 6	Agite o cartão lentamente e observe 3 minutos para detecção de sinais de aglutinação durante 3 minutos, segurando o cartão a uma distância de leitura normal (25 a 35 cm) dos olhos. Não utilize uma lupa. Pode ser utilizada agitação mecânica (3 minutos) (Consultar Precauções , secção 6). Os padrões obtidos são inequívocos e reconhecíveis em todas as condições de iluminação normais.
Passo 7	Ponha de parte o cartão de reacção usado para posterior eliminação segura.

9. CONTROLO DE QUALIDADE

Os procedimentos indicados a seguir devem ser realizados inicialmente com cada fornecimento de kits de teste e com cada ensaio de amostras de teste. Em termos práticos, um ensaio pode ser definido como um período de teste de até 24 horas. Qualquer desvio em relação aos resultados de referência indica um possível problema com os reagentes, o qual deve ser resolvido antes da utilização com amostras clínicas.

INSPECÇÃO VISUAL

As suspensões de látex devem ser sempre inspeccionadas quanto a sinais de agregação à medida que são deitadas no cartão de teste, e caso haja evidências de aglomeração antes da adição da amostra de teste, a suspensão não deve ser utilizada. Após um armazenamento prolongado pode ocorrer alguma agregação ou secagem em redor da tampa do frasco. Se tal for observado, o frasco deve ser agitado vigorosamente durante alguns segundos até a ressuspensão estar concluída.

PROCEDIMENTO DE CONTROLO POSITIVO

A reactividade do teste pode ser confirmada através da adição de Controlo Positivo Polivalente num círculo de reacção, no qual a amostra de teste não tenha aglutinado o látex de teste após 3 minutos de agitação.

Passo 1	Utilize um conta-gotas descartável, para adicionar 1 gota de controlo positivo ao círculo que contém látex de teste e amostra.	1 gota
Passo 2	Misture com uma vareta de mistura e ponha de parte para posterior eliminação segura.	
Passo 3	Abane o cartão manualmente ou com um agitador por mais 3 minutos. Ao fim deste tempo, deve ser visível aglutinação evidente no látex de teste.	3 minutos
Passo 4	Ponha de parte o cartão de reacção usado para posterior eliminação segura.	

PROCEDIMENTO DE CONTROLO NEGATIVO

Se pelo menos uma amostra de teste, num procedimento de ensaio, apresentar um resultado negativo com os látex de teste e de controlo (ou apenas com o látex de teste, no caso de não ter sido utilizado látex de controlo), tal constitui um controlo negativo válido para os reagentes, não sendo necessário mais testes.

Se a amostra de teste apresentar aglutinação com o látex de teste e nenhuma aglutinação com o látex de controlo, o látex de teste deve ser testado com o Controlo Negativo ou com meio de cultura sanguínea não inoculada, conforme apropriado (consultar abaixo).

Passo 1	Coloque 1 gota de látex de teste num círculo de um cartão de reacção.	1 gota
Passo 2	Dispense 1 gota de Controlo Negativo ou meio de cultura sanguínea não inoculada junto ao látex de teste.	1 gota
Passo 3	Misture com uma vareta de mistura e ponha de parte para posterior eliminação segura.	
Passo 4	Agite o cartão manualmente ou com um agitador por mais 3 minutos. Ao fim deste tempo, não deve existir aglutinação significativa no látex de teste.	3 minutos
Passo 5	Ponha de parte o cartão de reacção usado para posterior eliminação segura.	

No caso de testes com amostras de fluidos corporais, deve ser utilizado o Controlo Negativo fornecido com o kit.

No caso de testes com culturas sanguíneas, deve ser utilizada como controlo negativo uma amostra de meio de cultura sanguínea não inoculada da mesma proveniência da amostra de teste. Nota: o teste de meios não inoculados é importante dado que podem ocorrer resultados falsos positivos com algumas formulações de meios de cultura sanguínea.

NOTA: Se pretendido, podem ser utilizadas amostras positivas e negativas previamente testadas, divididas em alíquotas e conservadas entre –15 e –25°C ou abaixo, como controlos positivos e negativos, respectivamente. O Controlo Positivo também pode ser utilizado em vez da amostra de teste.

10. RESULTADOS

LEITURA DOS RESULTADOS

Uma reacção positiva é indicada pelo desenvolvimento de um padrão de aglutinação ao fim de 3 minutos da mistura do látex com a amostra de teste, evidenciando aglomeração claramente visível das partículas de látex (Figura 1).

A rapidez de aparecimento e a qualidade da aglutinação dependem do título do antígeno, variando entre grandes aglomerados que aparecem alguns segundos após a mistura, e pequenos aglomerados que se desenvolvem bastante lentamente.

Figura 1	Figura 2

Numa reacção negativa, o látex não aglutina e o aspecto leitoso permanece substancialmente inalterado ao longo do teste (Figura 2).

Note, no entanto, que podem ser detectados vestígios ligeiros de granularidade em padrões negativos, dependendo da acuidade visual do operador.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Resultado positivo

A aglutinação evidente do látex de teste acompanhada de ausência de aglutinação do látex de controlo, indica a presença de antígeno de meningococos no amostras de LCR ou no sobrenadante da cultura sanguínea.

Resultado Negativo

A ausência de aglutinação em ambos os reagentes significa que não é detectável antígeno de meningococos dos grupos A, C, Y ou W135 no fluido de teste – não elimina a possibilidade de uma infeção causada por meningococos, e se os sintomas persistirem pode ser útil realizar o teste em amostras subsequentes ou alternativas, ou após a concentração da amostra de urina.

Resultado não interpretável

A aglutinação visível do látex de controlo, quer seja mais forte ou mais fraca do que o látex de teste, indica uma reacção não específica. Na maioria dos casos, as reacções não específicas podem ser eliminadas aquecendo e clarificando a LCR (consultar Preparação de Amostras Clínicas, secção 8). Se ocorrer uma reacção não específica com um sobrenadante da cultura sanguínea, aqueça a amostra num banho de água a ferver durante 5 minutos, arrefeça até à temperatura ambiente (18 a 30°C), clarifique por meio de centrifugação e repita o teste.

NOTA: Os testes realizados directamente em amostras clínicas destinam-se a fins de rastreio e devem complementar, e não substituir, os procedimentos com culturas. Os resultados devem ser utilizados em conjunto com outros dados, como p. ex., sintomas, resultados de outros testes, impressões clínicas, etc.

11. LIMITES DE DESEMPENHO

11.1 Um resultado positivo no teste depende da presença de um nível detectável de antígeno no amostras de LCR ou meio de cultura sanguínea.

11.2 Foram referidos alguns exemplos de bactérias não relacionadas que possuem antígenos comuns e, tal como acontece com outros sistemas de teste imunológico, não pode ser excluída a possibilidade de ocorrência de reacções cruzadas no teste de látex^{8,10}.

12. RESULTADOS DE REFERÊNCIA

As amostras que contêm um nível detectável de antígeno de *N. meningitidis* dos grupos A, C, Y ou W135 apresentarão uma reacção de aglutinação com o látex de teste.

13. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Foram realizados estudos clínicos em 12 laboratórios utilizando amostras de LCR (amostras de colheita recente e amostras conservadas congeladas) e sobrenadantes de culturas sanguíneas. Nos estudos com culturas sanguíneas foram utilizadas técnicas de cultura tradicionais e radiométricas.

SENSIBILIDADE

A sensibilidade de Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* foi estabelecida a partir de testes em amostras recolhidas de pacientes e consideradas como cultura positiva para os organismos homólogos.

Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* detectou antígeno em 29/41 (70,7%) amostras de LCR e 7/7 (100%) amostras de culturas sanguíneas (Tabela 1).

ESPECIFICIDADE

A especificidade de Wellcogen *N. meningitidis* *ACY W135* foi avaliada utilizando amostras de LCR (de colheita recente e congeladas) e amostras de culturas sanguíneas de pacientes com meningite bacteriana ou asséptica e outras patologias não relacionadas.

Os organismos isolados a partir das amostras infectadas foram os seguintes: Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae do tipo b, *N. meningitidis* do grupo B, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Mycobacterium tuberculosis e Enterobacter aerogenes.

A especificidade de Wellcogen *N. meningitidis* ACY W135 na detecção de antígeno bacteriano em todos os amostras de LCR testados foi de 99,5% (421/423) e de 99,9% (1613/1615) no caso de culturas sanguíneas. Foi obtido um resultado positivo em duas amostras de LCR; E. coli foi isolada de uma amostra e Klebsiella aerogenes de outra. Os organismos isolados das duas culturas sanguíneas que forneceram reacções positivas foram os seguintes: Strep. sanguis e Staphylococcus epidermidis misturados com um Enterococo.

Tabela 1				
Resultados de estudos clínicos com Wellcogen <i>N. meningitidis</i> ACY W135				
Amostra	Sensibilidade ^a		Especificidade ^b	
	Nº testado	Nº positivo	Nº testado	Nº positivo
LCR	41 ^c	29	423	2 ^d
Cultura sanguínea	7	7	1615	2 ^e

- a *N. meningitidis* dos grupos A, C, Y ou W135 isolada/indicada.
- b Outras bactérias que não a *N. meningitidis* dos grupos A, C, Y ou W135; sem crescimento.
- c Inclui 8 do grupo A, 25 do grupo C e 1 do grupo Y (as restantes não foram agrupadas).
- d K. aerogenes; E. coli isolada.
- e Strep. sanguis; Staph. epidermidis + Enterococos isolados.

14. BIBLIOGRAFIA

- Doskeland, S.O. and Berdal, B.P. (1980).** Bacterial antigen detection in body fluids: methods for rapid antigen concentration and reduction of nonspecific reactions. J. Clin. Microbiol., 11, 380.
- Edwards, E.A. (1974).** Immunological investigations of meningococcal disease. II. Some characteristics of group C antigen of *Neisseria meningitidis* in the sera of patients with fulminant meningococemia. J. Infect. Dis., 129, 538.
- Feigin, R.D., Wong, M., et al (1976).** Countercurrent immunoelectrophoresis of urine as well as of CSF and blood for diagnosis of bacterial meningitis. J. Pediatr., 89, 773.
- Galazka, A. (1982).** Meningococcal disease and its control with meningococcal polysaccharide vaccines. Bull. W.H.O., 60, 1.
- Greenwood, B.M. and Whittle, H.C. (1974).** Nature of the antigen present in the cerebrospinal fluid and serum of patients with group A meningococcal meningitis. Clin. Exp. Immunol., 16, 413.
- Kaldor, J., Asznowicz, R., et al (1977).** Latex agglutination in diagnosis of bacterial infections, with special reference to patients with meningitis and septicemia. Amer. J. Clin. Path., 68, 284.
- Leinonen, M and Käyhty, H. (1978).** Comparison of counter-current immunoelectrophoresis, latex agglutination, and radioimmunoassay in detection of soluble capsular polysaccharide antigens of Haemophilus influenzae type b and *Neisseria meningitidis* of groups A or C. J. Clin. Path., 31, 1172.
- Robbins, J.B., Myerowitz, R.L., et al (1972).** Enteric bacteria cross-reactive with *Neisseria meningitidis* groups A and C and Diplococcus pneumoniae types I and III. Infect. Immun., 6, 651.
- Slack, J. (1982).** Deaths from meningococcal infection in England and Wales in 1978. J. Royal Coll. Phys. London, 16, 40.
- Vann. W.F., Liu, T.Y., et al (1976).** Bacillus pumilus polysaccharide cross-reactive with meningococcal group A polysaccharide. Infect. Immun., 13, 1654.
- Whittle, H.C., Tugwell, P., et al (1974).** Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. Lancet, ii, 619.



 Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

Para obter assistência técnica, www.thermofisher.com

7. **Leinonen, M and Käyhty, H. (1978).**
Comparison of counter-current immunoelectrophoresis, latex agglutination, and radioimmunoassay in detection of soluble capsular polysaccharide antigens of Haemophilus influenzae type b and *Neisseria meningitidis* of groups A or C. J. Clin. Path., 31, 1172.

8. **Robbins, J.B., Myerowitz, R.L., et al (1972).**
Enteric bacteria cross-reactive with *Neisseria meningitidis* groups A and C and Diplococcus pneumoniae types I and III. Infect. Immun., 6, 651.

9. **Slack, J. (1982).**
Deaths from meningococcal infection in England and Wales in 1978. J. Royal Coll. Phys. London, 16, 40.

10. **Vann. W.F., Liu, T.Y., et al (1976).**
Bacillus pumilus polysaccharide cross-reactive with meningococcal group A polysaccharide. Infect. Immun., 13, 1654.

11. **Whittle, H.C., Tugwell, P., et al (1974).**
Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. Lancet, ii, 619.



 Remel Europe Ltd, Remel House, Clipper
Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent,
DA2 6PT, UK

För teknisk assistans, www.thermofisher.com