

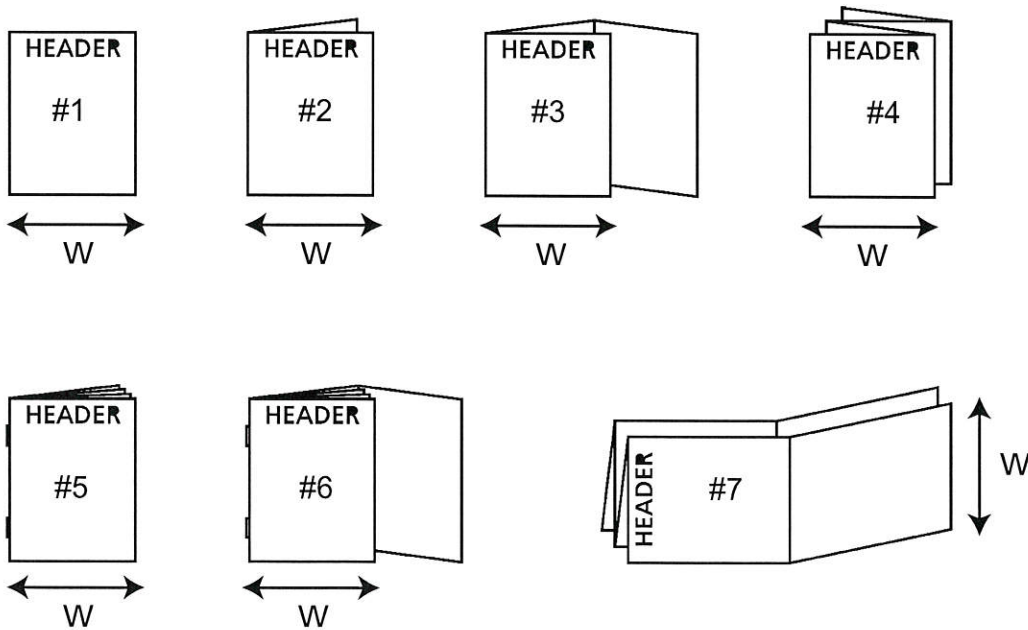
Revisions

BALTSO0191 Version 7.0 Template 4

Rev from	Rev to	Job #
01	02	7015-04

NOTES:

1. BD Catalog Number: 241050, 240939
2. Blank (Sheet) Size: Length: 18" Width: 30"
3. Number of Pages: 10 Number of Sheets: 1
4. Page Size: Length: 18" Width: 6" Final Folded Size: 2.25" x 4"
5. Ink Colors: No. of Colors: 3 PMS#: 2755 Blue, PMS 032 Red, PMS Standard Black
6. Printed two sides: Yes  No
7. Style (see illustrations below): # 4



8. See specification control no. 8810131 for material information.
9. Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level.

REVISED BY  
By Bryan Smith at 9:45 am, Nov 03, 2014

Label Design <i>[Signature]</i> Date <i>11/3/14</i>	COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION.	<b>BD</b> Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA
Proofer <i>[Signature]</i> Date <i>11/03/14</i>		
Checked By <i>[Signature]</i> Date <i>11-04-14</i>	Category and Description	Sheet: 1 of 11
Part Number: 8810131JAA	Package Insert, Francisella Tularensis Antigen & Antiserum	Scale: N/A
		<b>A</b>

# BD Francisella Tularensis Antigen and Antiserum for Febrile Antigen Agglutination Tests

English: pages 1 – 2 Italiano: pagine 5 – 7  
Français : pages 2 – 4 Español: páginas 7 – 8  
Deutsch: Seiten 4 – 5



8810131JAA(02)  
2014-11

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

## INTENDED USE

Febrile Antigens are used in agglutination tests as an aid in the diagnosis of certain febrile diseases such as tularemia. The patient's serum is tested directly for homologous antibodies by either a slide or tube agglutination test. These tests are qualitative and semi-quantitative. The rapid slide test is used primarily as a screening procedure especially useful when large numbers of sera must be examined. The tube test should be used to confirm positive results obtained by the slide test.

Francisella Tularensis Control Antiserum is used in agglutination tests in conjunction with the Febrile Antigen as a positive control.

## SUMMARY AND EXPLANATION

Serological diagnosis of patients suspected of having infectious diseases characterized by persistent fever is dependent upon demonstration of an agglutination reaction between the appropriate antigen and the patient's serum.

The natural response to the invasion by pathogenic organisms is the production of antibodies. This immune response is highly individualized and in addition to the host's physiological status and genetic capabilities, a number of other factors are involved with the production of antibodies to a particular stimulus. These include the antigenicity of the organism, the total amount introduced to the host and the route of introduction, and whether the host has had previous exposure to the organism. These factors will determine the rate of antibody formation, the amount of antibodies produced and their persistence in the circulatory system.

## PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

When the human body is invaded by any pathogenic microbiological agent, a variety of antibodies are formed. Among these antibodies are the agglutinins. Serum containing specific agglutinins in combination with homologous antigens under properly controlled conditions is capable of causing a visible agglutination. The degree to which agglutination occurs depends upon the concentration of the antigen, the number of antibodies present, the composition of the salt solution and the temperature.<sup>1</sup>

Sera from normal patients may show positive agglutination with febrile antigens due to previous immunization, past infection or the presence of antibodies to related antigens. In general, the titers found in these instances will be lower and remain at a constant level. Titers detected as a result of active infection or recent immunization with an organism containing homologous antigens will usually be higher and tend to rise over a period of time.

It is, therefore, necessary to evaluate two or more serum samples taken at 3- to 5-day intervals after the onset of the disease. A progressive increase in titer is the prime evidence of recent infection or immunization.<sup>2</sup>

## REAGENTS

Francisella Tularensis Antigen is a suspension of nonviable bacterial cells containing 0.5% formaldehyde.

Francisella Tularensis Control Antiserum is a polyclonal rabbit antiserum containing 30% – 50% glycerin as a preservative.

## Warnings and Precautions

For *in vitro* Diagnostic Use.

This Product Contains Dry Natural Rubber.

Pathogenic microorganisms, including hepatitis viruses and Human Immunodeficiency Virus, may be present in clinical specimens. "Standard Precautions"<sup>3-6</sup> and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood and other body fluids. Prior to discarding, sterilize specimen containers and other contaminated materials by autoclaving.

## Cat. No. Description

Febrile Antigen

241050 BD Francisella Tularensis Antigen, one 5 mL vial.

## WARNING



**H317** May cause an allergic skin reaction. **H351** Suspected of causing cancer. **P261** Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/spray. **P302 + P352** IF ON SKIN: Wash with plenty of water. **P405** Store locked up. **P501** Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

**Storage Instructions:** On receipt, store at 2 – 8 °C. Francisella Tularensis Antigen and Francisella Tularensis Control Antiserum are ready for use as supplied. Do not open until ready to use. Protect from evaporation and contamination. The expiration date on each vial applies to product in intact container stored as directed.

## SPECIMEN COLLECTION

Using aseptic techniques, collect 5 – 10 mL of blood in a blood tube without anticoagulant (i.e., **BD Vacutainer™** Brand Glass Evacuated Tube). This type of tube is recommended because the collection, clotting and centrifugation of the specimen can all be done without transferring the blood. Allow the blood to clot for 20 – 30 min. Loosen the clot from the side of the container with a clean glass rod or applicator stick, stopper the tube and centrifuge. Draw off the serum and refrigerate at 2 – 8 °C until testing, or immediately freeze the serum at -15 °C or below if the test is delayed more than 4 h.

## PROCEDURE

**Materials Provided:** Francisella Tularensis Antigen and Francisella Tularensis Control Antiserum.

### Materials Required But Not Provided:

- 3" x 6" glass slide (circled)
- Pipettes
- Toothpicks, glass rods or other applicator sticks
- 0.85% saline
- Water bath (37 °C)
- Tubes

### Test Procedure

**NOTE: ALL MATERIALS AND EQUIPMENT MUST BE AT ROOM TEMPERATURE AT THE TIME OF TEST PERFORMANCE.**

Directions for use should be followed carefully.

### Slide Test

- Using a 3" x 6" slide with circles (circles can be created using a wax pencil), dispense serum (patient or control) onto slide. Dispense serum samples into separate circles as follows:

Circle	Serum
1	0.08 mL
2	0.04 mL
3	0.02 mL
4	0.01 mL
5	0.005 mL

- Negative Control: Into a separate circle, dispense 1 drop of 0.85% sterile saline solution onto the 3" x 6" slide.
- Invert the bottle several times to mix antigen.
- Add one drop of antigen to each circle using the dropper supplied with the vial.
- Using a new toothpick or applicator for each circle, mix circle contents thoroughly.
- Rock the slide for 1 min near a light source and observe for agglutination.

### Tube Test

- Prepare dilutions of patient and control sera.

#### Patient Sera

- Add 0.5 mL of 0.85% saline to each of 8 tubes.
- Place 0.8 mL of saline in a separate tube and add 0.2 mL of serum. Mix well with a separate pipette and add 0.5 mL from this tube to the first tube of 8 tubes prepared in step "a".
- Using a clean pipette for each patient serum, mix and transfer 0.5 mL from tube 1 to tube 2 and serial dilute through tube 7. Discard 0.5 mL from tube 7. Tube 8 is the antigen control.

**Note:** Reading References may be set up as described in step 3 of RESULTS, "Reading References."

#### Control Serum

Prepare serial dilutions of the control serum in 0.5 mL amounts in tubes in the following manner:

- Place 8 tubes in a rack.
  - Pipette 0.9 mL of 0.85% saline into the first tube and 0.5 mL into each of the remaining tubes.
  - Add 0.1 mL of the serum to the first tube containing 0.9 mL of saline solution.
  - Mix well with a pipette and transfer 0.5 mL of the first tube to the second tube. Mix thoroughly.
  - Continue carrying the 0.5 mL of the serum dilution through tube 7. Discard 0.5 mL from tube 7 after mixing thoroughly. Tube 8 is the antigen control tube.
- Prepare Antigen Dilution
    - Dilute Francisella antigen to one part antigen in forty-nine parts of 0.85% saline (1:50), e.g., 0.25 mL antigen and 12.25 mL saline. Mix well.
  - Mix Antigen and Serum

Add 0.5 mL of diluted antigen to each tube containing patient sera or control serum, as well as to the antigen control tube. Shake tubes for a period of 10 sec. The resultant dilutions are 1:20 through 1:1280, respectively.
  - Incubate all tubes for 20 h in a 37 °C water bath.

## User Quality Control

At time of use, apply both positive and negative controls to check performance of the antigen, techniques and methodology.

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

## RESULTS

### Slide test

1. Record Agglutination		
Degree of Agglutination		
100 %	background clear to slightly hazy	4+
75 %	background slightly cloudy	3+
50 %	background moderately cloudy	2+
25 %	background very cloudy	1+
None		Negative

### 2. Determination of Antibody Titer

The titer is the reciprocal of the highest dilution producing at least 2+ agglutination.

Serum, mL	Correlation Dilution
0.08	1:20
0.04	1:40
0.02	1:80
0.01	1:160
0.005	1:320

### Tube Test

#### 1. Record Agglutination

Very gently agitate each tube and record agglutination as follows:

100 %	Clear liquid above agglutinins	4+
75 %	Slightly cloudy	3+
50 %	Moderately cloudy	2+
25 %	Very Cloudy	1+
Negative	Very cloudy with no agglutinins	

#### 2. Measure Titer

The titer is the reciprocal of the highest final dilution producing at least 2+ agglutination.

Tube Number	Dilution
1	1:20
2	1:40
3	1:80
4	1:160
5	1:320
6	1:640
7	1:1280

#### 3. Reading References

The following Reading References table will be helpful in determining how the liquid portion of the tube test should appear for differing degrees of agglutination. This is for the liquid portion only.

Antigen, mL	Saline, mL	Liquid Reading
0.5 mL	0.5 mL	Negative
0.25 mL	0.75 mL	2+
0.125 mL	0.875 mL	3+

**NOTE:** If auto-agglutination of the antigen is suspected, prepare the "Reading References" mixtures exactly as indicated above. Agglutinated material in any or all of the tubes indicates that the antigen is unstable and should be discarded.

As in other agglutination tests, no single test or determination can be considered diagnostic. Many variables are involved (See "Limitations of the Procedure"). However, a fourfold rise in antibody titer demonstrable in paired acute and convalescent phase sera collected at approximately five-day intervals is strongly suggestive of a specific presumptive diagnosis. The chart below gives an approximate indication of the significance of serum titers.<sup>2</sup>

Disease	Febrile Antigen	Serum Agglutinins		
		Appear	Maximum	Titer and Significance
Tularemia	Francisella tularensis	7 to 14 days	4 to 8 weeks	1:160 = strongly suggestive

### LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Prozone reactions are possible. Care should be taken to observe agglutination at the highest dilutions if no clumping is seen in lower dilutions.

Patients occasionally fail to develop any serum agglutinins.

Cross reactions may occur between Brucella and Francisella antigens and antisera. Therefore, parallel tests should be run with those antigens. Generally a higher titer is obtained with the homologous antigen.

Cross reactions, previous vaccinations, anamnestic responses,<sup>7</sup> antibiotic therapy, other diseases known or unknown, prozones, and autoagglutinins, as well as other factors, may affect these tests.

Consider the stage of disease when the specimen is collected. It is possible that peak titers occur only during convalescence.

For more complete information, consult appropriate references.<sup>8-10</sup>

These products are not intended as a substitute for culture. An appropriate attempt should be made to recover and identify the etiologic organism.

Only the product catalog numbers listed in this insert are to be used together. Do not use with other product catalog numbers.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- The positive control antiserum should produce 2+ or greater agglutination at 1:80 in the slide or tube test when tested with the corresponding homologous febrile antigen.

<b>Febrile Antigen</b>	<b>Homologous Control Antiserum</b>
Francisella tularensis	Francisella tularensis

- The negative control should show no agglutination with the Francisella Antigen.

### AVAILABILITY

#### Cat. No. Description

Febrile Antigen

241050 **BD** Francisella Tularensis Antigen, one 5 mL vial.

Febrile Control Antiserum

240939 **BD** Francisella Tularensis Antiserum, one 5 mL vial.

### REFERENCES

- Davidsohn, I, and J.B. Henry (ed.). 1969. Todd-Sanford clinical diagnosis by laboratory methods, 14th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Sonnenwirth, A.C. 1970. Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis, 7th ed., p. 1482. The C.V. Mosby Co., St. Louis.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
- Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
- U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
- Foomen, J., and H.R. Morgan. 1954. Amer. J. Med. Soc. 228:520.
- Ormsbee, R.A. 1985. Rickettsiae, p. 845-855. In E.H. Lennette, A. Balows, W. J. Hausler, Jr., and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Kolmer, J.A., E.H. Spaulding, and H.W. Robinson. 1951. Approved laboratory technic, 5th ed. Appleton Century-Crofts, New York.
- Sack, R.B. 1986. Serologic tests for the diagnosis of enterobacterial infections, p. 359-362. In N.R. Rose, H. Friedman, and J.L. Fahey (ed.), Manual of clinical laboratory immunology, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Technical Information: In the United States contact BD Technical Service and Support at 800-638-8663 or www.bd.com/ds.

## **BD Francisella Tularensis Antigen et Antiserum pour tests d'agglutination avec les antigènes fébriles**

Français

### APPLICATION

Les antigènes fébriles s'utilisent dans des tests d'agglutination et aident au diagnostic de certaines maladies fébriles comme la tularémie. Le sérum des patients est testé directement pour la présence d'anticorps homologues à l'aide d'un test sur lame ou d'un test d'agglutination en tube. Ces tests sont qualitatifs et semi-quantitatifs. Le test rapide sur lame s'utilise principalement comme méthode de dépistage et est particulièrement utile lorsque de grandes quantités de sérum doivent être examinées. Le test en tube doit s'utiliser pour confirmer les résultats positifs obtenus avec le test sur lame.

Francisella Tularensis Control Antiserum s'utilise dans des tests d'agglutination avec l'antigène fébrile en qualité de témoin positif.

### RESUME ET EXPLICATION

Le diagnostic sérologique des patients soupçonnés d'avoir des maladies infectieuses caractérisées par une fièvre persistante dépend de la démonstration d'une réaction d'agglutination entre l'antigène approprié et le sérum des patients.

La production d'anticorps constitue une réponse naturelle à l'invasion par des microorganismes pathogéniques. La réponse immunitaire est très individualisée et en plus du statut physiologique de l'hôte et de ses capacités génétiques, de nombreux autres facteurs participent à la production d'anticorps contre un stimulus. Ceux-ci comprennent l'antigénicité du microorganisme, la quantité totale introduite dans l'hôte et la voie d'introduction ainsi que l'exposition préalable ou non au microorganisme. Ces facteurs détermineront la vitesse de formation des anticorps, la quantité d'anticorps produite et leur persistance dans le système circulatoire.

### PRINCIPES DE LA METHODE

Divers anticorps se forment lorsque le corps humain est envahi par tout agent microbiologique pathogène. Les agglutinines sont présentes parmi ces anticorps. Un sérum contenant des agglutinines spécifiques en association avec des antigènes homologues dans des conditions bien contrôlées est capable de causer une agglutination visible. Le degré d'agglutination dépend de la concentration de l'antigène, du nombre d'anticorps présents, de la composition de la solution salée et de la température.<sup>1</sup>

Les sérums de patients normaux présentent une agglutination positive avec des antigènes fébriles du fait d'une immunisation préalable, d'une infection passée ou de la présence d'anticorps d'antigènes apparentés. Généralement, les titres trouvés dans ces cas-là seront inférieurs et resteront à un niveau constant. Les titres détectés suite à une infection active ou à une immunisation récente avec un microorganisme contenant des antigènes homologues seront habituellement plus élevés et auront tendance à s'élever avec le temps.

Il est donc nécessaire d'évaluer plusieurs échantillons de sérum prélevés à des intervalles de 3 à 5 jours après le début de la maladie. Une augmentation progressive des titres constitue la principale preuve d'une infection récente ou d'une immunisation.<sup>2</sup>

## REACTIFS

Francisella Tularensis Antigen est une suspension de cellules bactériennes non viables contenant 0,5 % de formaldéhyde.

Francisella Tularensis Control Antiserum est un antiserum polyclonal de lapin contenant entre 30 et 50 % de glycérine comme agent conservateur.

## Avertissements et précautions

Pour le diagnostic *in vitro*.

Ce produit contient du caoutchouc naturel sec.

Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »<sup>3-6</sup> et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques. Stériliser à l'autoclave les récipients contenant les échantillons et autres produits contaminés avant de les éliminer.

## N° réf. Description

Antigène fébrile

241050 **BD Francisella Tularensis Antigen**, un flacon de 5 mL.

## ATTENTION



**H317** Peut provoquer une allergie cutanée. **H351** Susceptible de provoquer le cancer. **P261** Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. **P302 + P352** EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau et au savon. **P405** Garder sous clef. **P501** Éliminer le contenu/récipient conformément aux règlements locaux/régionaux/nationaux/internationaux.

**Instructions pour la conservation :** Dès réception, conserver entre 2 et 8 °C. Francisella Tularensis Antigen et Francisella Tularensis Control Antiserum sont prêts à l'utilisation. Ne pas les ouvrir prématurément. Protéger contre l'évaporation et la contamination. La date de péremption inscrite sur chaque flacon s'applique au produit conservé dans le récipient intact et dans les conditions préconisées.

## PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

A l'aide de techniques aseptiques, prélever de 5 à 10 mL de sang dans un tube à sang sans anticoagulant (c.-à-d. un tube à vide en verre de la marque **BD Vacutainer**). Ce type de tube est recommandé parce que le prélèvement, la coagulation et la centrifugation de l'échantillon peuvent être effectués sans transférer le sang. Laisser le sang coaguler entre 20 et 30 minutes. Détacher le caillot de la paroi interne du récipient avec une tige en verre propre ou un écouvillon, boucher le tube et centrifuger. Prélever le sérum et réfrigérer entre 2 et 8 °C jusqu'au moment du test ou congeler immédiatement le sérum à -15 °C ou une température inférieure si le test est retardé de plus de 4 h.

## METHODE

**Matériaux fournis :** Francisella Tularensis Antigen et Francisella Tularensis Control Antiserum.

**Matériaux requis mais non fournis :**

1. Lame en verre (cerclée) de 7,5 x 15 cm
2. Pipettes
3. Cure-dents, tiges en verre ou écouvillons
4. Sérum physiologique à 0,85 %
5. Bain-marie (37 °C)
6. Tubes

**Mode opératoire du test**

**REMARQUE : TOUS LES MATERIELS ET LES EQUIPEMENTS DOIVENT ETRE A TEMPERATURE AMBIANTE AU MOMENT OU LE TEST EST EFFECTUE.**

Respecter scrupuleusement le mode d'emploi.

### Test sur lame

1. Distribuer du sérum (patient ou témoin) sur une lame cerclée de 7,5 x 15 cm (les cercles peuvent être tracés à l'aide d'un crayon de cire). Distribuer les échantillons de sérum dans des cercles séparés comme suit :

Cercle	Sérum
1	0,08 mL
2	0,04 mL
3	0,02 mL
4	0,01 mL
5	0,005 mL

2. Témoin négatif : Dans un autre cercle, distribuer une goutte de sérum physiologique stérile à 0,85 % sur la lame de 7,5 x 15 cm.
3. Inverser le flacon plusieurs fois pour mélanger l'antigène.
4. Ajouter une goutte d'antigène à chaque cercle à l'aide du compte-gouttes fourni avec le flacon.
5. Bien mélanger le contenu du cercle à l'aide d'un nouveau cure-dents ou d'un écouvillon pour chaque cercle.
6. Agiter la lame pendant 1 min près d'une source de lumière et observer pour voir si une agglutination se produit.

### Test en tube

1. Préparer des dilutions du sérum des patients et du sérum témoin.

Sérums des patients

- a. Ajouter 0,5 mL de sérum physiologique à 0,85 % à chacun des huit tubes.
- b. Placer 0,8 mL de sérum physiologique dans un tube séparé et ajouter 0,2 mL de sérum. Bien mélanger avec une pipette séparée et ajouter 0,5 mL prélevé dans ce tube au premier des huit tubes préparés à l'étape « a ».
- c. A l'aide d'une pipette propre pour chaque sérum de patient, mélanger et transférer 0,5 mL du tube 1 au tube 2 et diluer en série jusqu'au tube 7. Jeter 0,5 mL du tube 7. Le tube 8 est le témoin antigène.

**Remarque :** Des références de lecture peuvent être mises en place comme décrit à l'étape 3 de la section RESULTATS, « Références de lecture ».

Sérum témoin

Préparer, dans des tubes, des dilutions en série du sérum témoin de 0,5 mL de la façon suivante :

- a. Placer 8 tubes dans un portoir.
  - b. Pipeter 0,9 mL de sérum physiologique à 0,85 % dans le premier tube et 0,5 mL dans chacun des tubes restants.
  - c. Ajouter 0,1 mL du sérum dans le premier tube contenant 0,9 mL de sérum physiologique.
  - d. Bien mélanger avec une pipette et transférer 0,5 mL du premier tube dans le second. Bien mélanger.
  - e. Continuer à transférer 0,5 mL de la dilution du sérum jusqu'au tube 7. Jeter 0,5 mL du tube 7 après avoir bien mélangé. Le tube 8 est un tube témoin antigène.
2. Préparer la dilution de l'antigène
    - a. Diluer l'antigène de la Francisella à une partie d'antigène dans quarante-neuf parties de sérum physiologique à 0,85 % (1/50), ex. 0,25 mL d'antigène et 12,25 mL de sérum physiologique. Bien mélanger.
  3. Mélanger l'antigène et le sérum  
Ajouter 0,5 mL d'antigène dilué dans chaque tube contenant du sérum de patients ou du sérum témoin, ainsi que dans le tube témoin antigène. Agiter les tubes pendant 10 secondes. Les dilutions résultantes sont respectivement de 1/20 à 1/1280.
  4. Incuber tous les tubes dans un bain-marie à 37 °C pendant 20 h.

### Contrôle de qualité par l'utilisateur

Tester dans la même série les témoins positifs et négatifs pour contrôler les performances de l'antigène, des techniques et de la méthodologie.

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

## RESULTATS

### Test sur lame

1. Lire l'agglutination

Degré d'agglutination		
100 %	fond clair à légèrement voilé	4+
75 %	fond légèrement trouble	3+
50 %	fond moyennement trouble	2+
25 %	background very cloudy	1+
Pas d'agglutination		Négatif

2. Détermination du titre d'anticorps

Le titre est l'inverse de la dilution la plus élevée produisant une agglutination d'au moins 2+.

Sérum, mL	Dilution de corrélation
0,08	1:20
0,04	1:40
0,02	1:80
0,01	1:160
0,005	1:320

### Test en tube

1. Lire l'agglutination

Agiter très doucement chaque tube et lire l'agglutination comme suit :

100 %	Liquide limpide au-dessus des agglutinines	4+
75 %	Légèrement trouble	3+
50 %	Moyennement trouble	2+
25 %	Très trouble	1+
Négatif	Très trouble avec absence d'agglutinine	

2. Mesurer le titre

Le titre est l'inverse de la dilution finale la plus élevée produisant une agglutination d'au moins 2+.

Numéro de tube	Dilution
1	1:20
2	1:40
3	1:80
4	1:160
5	1:320
6	1:640
7	1:1280

### 3. Références de lecture

Le tableau des références de lecture suivantes servira à déterminer comment la partie liquide du test en tube apparaît à des degrés d'agglutination différents. Ceci s'applique seulement à la partie liquide.

Antigène, mL	Sérum physiologique, mL	Lecture du liquide
0,5 mL	0,5 mL	Négatif
0,25 mL	0,75 mL	2+
0,125 mL	0,875 mL	3+

**REMARQUE :** Si une auto-agglutination de l'antigène est présumée, préparer les mélanges des « Références de lecture » exactement comme indiqué ci-dessus. Le matériel agglutiné dans l'un des tubes indique que l'antigène est instable et devrait être jeté. Comme avec tout autre test d'agglutination, aucun test ou détermination unique ne peut constituer un diagnostic. Plusieurs variables sont impliquées (voir « Limites de la procédure »). Cependant, une multiplication par quatre du titre d'anticorps évidente dans des sérums d'infection aiguë et de convalescence analysés par paires à environ 5 jours d'intervalle, suggère fortement un diagnostic présomptif spécifique. Le tableau ci-dessous donne une indication approximative de la signification des titres de sérum.<sup>2</sup>

Maladie	Antigène fébrile	Agglutinines de sérum		
		Apparence	Maximum	Titre et signification
Tularémie	Francisella tularensis	7 à 14 jours	4 à 8 semaines	1/160 = fortement suggestif

### LIMITES DE LA PROCEDURE

Des réactions avec effet de prozone sont possibles. Il convient d'observer l'agglutination avec attention pour les dilutions les plus élevées si aucun agrégat ne se forme dans les dilutions plus faibles.

Les patients peuvent parfois ne pas développer d'agglutinines de sérum.

Des réactions croisées peuvent se produire entre les antigènes et les antisérums de la Brucella et de la Francisella. Des tests parallèles doivent donc être effectués avec ces antigènes. Généralement un titre plus élevé est obtenu avec l'antigène homologue. Des réactions croisées, des vaccinations préalables, des réponses anamnestiques,<sup>7</sup> un traitement antibiotique, d'autres maladies connues ou non, des prozones et des auto-agglutinations, ainsi que d'autres facteurs, peuvent influencer ces tests.

Il convient de prendre en considération le stade de la maladie lorsque l'échantillon est prélevé. Il est possible que des titres maximum se produisent durant la convalescence.

Pour obtenir des informations plus complètes, consulter les références appropriées.<sup>8-10</sup>

Ces produits ne sont pas prévus comme un substitut de culture. Il convient de tenter d'isoler et d'identifier le microorganisme étiologique.

Seules les références de produits listés dans cette notice sont à utiliser ensemble. Ne pas utiliser avec d'autres références de produit.

### CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

- L'antisérum témoin positif doit produire une agglutination de 2+ ou supérieure à 1/80 dans le test sur lame ou en tube avec l'antigène fébrile homologue correspondant.

Antigène fébrile	Antisérum témoin homologue
Francisella tularensis	Francisella tularensis

- Le témoin négatif ne doit présenter aucune agglutination avec l'antigène de la Francisella.

### CONDITIONNEMENT

#### N° réf. Description

Antigène fébrile

241050 **BD** Francisella Tularensis Antigen, un flacon de 5 mL.

Antisérum témoin fébrile

240939 **BD** Francisella Tularensis Antiserum, un flacon de 5 mL.

**REFERENCES :** voir la rubrique "References" du texte anglais.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD.

## **BD Francisella Tularensis Antigen und Antiserum für Febril-Antigen-Agglutinationstests**

Deutsch

### VERWENDUNGSZWECK

Febrile Antigene werden in Agglutinationstests als Hilfsmittel zur Diagnose bestimmter Fieberkrankheiten wie Tularämie verwendet. Das Patientenserum wird mithilfe eines Objektträger- oder Röhrchen-Agglutinationstests direkt auf homologe Antikörper getestet. Diese Tests sind qualitativ und semi-quantitativ. Der Objektträger-Schnelltest wird primär als Überwachungsmethode eingesetzt und ist besonders hilfreich bei der Untersuchung einer großen Anzahl von Seren. Der Röhrchentest sollte zur Bestätigung positiver Ergebnisse beim Objektträgertest verwendet werden.

Francisella Tularensis Control Antiserum wird zusammen mit dem febrilen Antigen als positive Kontrolle in Agglutinationstests verwendet.

### ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Die serologische Diagnose von Patienten, die im Verdacht stehen, an Infektionskrankheiten, die sich durch anhaltendes Fieber auszeichnen, erkrankt zu sein, ist abhängig von dem Vorhandensein einer Agglutinationsreaktion zwischen dem entsprechenden Antigen und dem Patientenserum.

Die natürliche Reaktion auf die Invasion durch pathogene Organismen ist die Bildung von Antikörpern. Diese Immunreaktion ist in hohem Maße individuell und zusätzlich zum physiologischen Status und den genetischen Anlagen des Wirts von einer Vielzahl anderer Faktoren abhängig, die bei der Bildung von Antikörpern auf einen bestimmten Stimulus eine Rolle spielen. Zu diesen Faktoren gehören u. a. die Antigenizität des Organismus, die in den Wirt eingebrachte Gesamtmenge, der Einbringungsweg und der vorherige Kontakt mit dem Wirt. Diese Faktoren bestimmen die Antikörper-Bildungsrate, die Menge produzierter Antikörper und ihre Persistenz im Blutkreislauf.

### VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Wenn ein pathogener mikrobiologischer Wirkstoff in den menschlichen Körper eindringt, wird eine Vielzahl von Antikörpern gebildet. Zu diesen Antikörpern gehören auch die Agglutinine. Serum, welches unter korrekt kontrollierten Bedingungen spezifische Agglutinine zusammen mit homologen Antigenen enthält, kann eine sichtbare Agglutination zeigen. Der Grad der Agglutination ist abhängig von der Antigen-Konzentration, der Anzahl vorhandener Antikörper, der Zusammensetzung der Salzlösung sowie der Temperatur.<sup>1</sup>

Seren von normalen Patienten können aufgrund einer vorherigen Immunisierung, einer Infektion in der Vergangenheit oder aufgrund des Vorhandenseins von Antikörpern gegen verwandte Antigene eine positive Agglutination mit febrilen Antigenen zeigen. Im Allgemeinen sind die in diesen Situationen gefundenen Titer niedriger und bleiben auf einem konstanten Niveau. Titer, die das Ergebnis einer aktiven Infektion oder einer kürzlich erfolgten Immunisierung mit einem, homologe Antigene enthaltenden, Organismus sind, sind üblicherweise höher und neigen dazu, über einen bestimmten Zeitraum anzusteigen.

Aus diesem Grund ist es notwendig, zwei oder mehr Serumprouben in einem Zeitraum von 3 bis 5 Tagen nach der Erkrankung zu untersuchen. Ein progressiver Titeranstieg ist das erste Anzeichen für eine kürzlich erfolgte Infektion oder Immunisierung.<sup>2</sup>

### REAGENZIEN

Francisella Tularensis Antigen ist eine Suspension nicht lebensfähiger bakterieller Zellen, die 0,5 % Formaldehyd enthält.

Francisella Tularensis Control Antiserum ist ein polyklonales Kaninchen-Antiserum mit 30 % – 50 % Glycerin als Konservierungsmittel.

### Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

*In-vitro*-Diagnostikum.

Dieses Produkt enthält Naturkautschuk (getrocknet).

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z. B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“<sup>3-6</sup> sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Probenbehälter und andere kontaminierte Materialien vor dem Entsorgen im Autoklaven sterilisieren.

### Best.- Nr. Beschreibung

Febrile Antigen

241050 **BD** Francisella Tularensis Antigen, ein Fläschchen mit 5 mL.

### ACHTUNG



**H317** Kann allergische Hautreaktionen verursachen. **H351** Kann vermutlich Krebs erzeugen. **P261** Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. **P302 + P352** BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. **P405** Unter Verschluss aufbewahren. **P501** Inhalt/Behälter gemäß den örtlichen/regionalen/nationalen/internationalen Bestimmungen entsorgen.

**Aufbewahrung:** Nach Erhalt bei 2 – 8 °C lagern. Francisella Tularensis Antigen und Francisella Tularensis Control Antiserum werden gebrauchsfertig geliefert. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Verdunstung und Kontamination schützen. Das angegebene Verfallsdatum auf jedem Fläschchen gilt nur für das in ungeöffneten Packungen aufbewahrte Produkt und bei Beachtung der entsprechenden Lagervorschriften.

### PROBENENTNAHME

Mit antiseptischen Methoden 5 – 10 mL Blut in einem Blutröhrchen ohne Antikoagulanzen (z. B. **BD Vacutainer** Brand Glass Evacuated Tube) sammeln. Diese Röhrchenart wird empfohlen, da das Sammeln, die Gerinnung und das Zentrifugieren der Probe ohne einen Bluttransfer durchgeführt werden kann. Das Blut 20 – 30 Minuten gerinnen lassen. Das Geronnene mit einem sauberen Glasstäbchen oder einem Applikatorstäbchen von den Seiten des Behälters lösen, das Röhrchen verschließen und zentrifugieren. Das Serum ablassen und bis zum Test bei 2 – 8 °C gekühlt aufbewahren oder das Serum sofort bei max. -15 °C einfrieren, wenn sich der Test um mehr als 4 Stunden verzögert.

### VERFAHREN

**Mitgeliefertes Arbeitsmaterial:** Francisella Tularensis Antigen und Francisella Tularensis Control Antiserum.

**Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial:**

- Objektträger aus Glas, 7,5 x 15 cm (kreisförmig)
- Pipetten
- Zahnstocher, Glasstäbchen oder andere Applikatorstäbchen
- 0,85 %ige Kochsalzlösung
- Wasserbad (37 °C)
- Röhrchen

### Testverfahren

**HINWEIS: ALLE MATERIALIEN UND AUSTRÜTUNGSGEGENSTÄNDE MÜSSEN ZUM ZEITPUNKT DER TESTDURCHFÜHRUNG BEI RAUMTEMPERATUR AUFBEWAHRT WERDEN.**

Die Gebrauchsanleitung ist sorgfältig zu befolgen.

### Objektträgertest

- Das Serum (Patienten- oder Kontrollserum) auf einen mit Testfeldern versehenen Objektträger (7,5 x 15 cm, Testfelder können mit Wachsstift gezogen werden) geben. Serumprouben wie folgt auf separate Testfelder geben:

Testfeld	Serum
1	0,08 mL
2	0,04 mL
3	0,02 mL
4	0,01 mL
5	0,005 mL

- Negative Kontrolle: Einen Tropfen 0,85 %ige sterile Kochsalzlösung in ein einzelnes Testfeld auf dem Objektträger (7,5 x 15 cm) geben.

- Die Flasche mehrere Male umdrehen, um das Antigen zu mischen.
- Auf jedes Testfeld einen Tropfen Antigen mit der mit dem Fläschchen mitgelieferten Pipette geben.
- Einen neuen Zahnstocher oder Applikator für jedes Testfeld verwenden; Substanzen auf dem Testfeld gründlich mischen.
- Den Objektträger 1 Min. in Nähe einer Lichtquelle schwenken und im Hinblick auf Agglutination begutachten.

#### Röhrchentest

- Verdünnungen von Patienten- und Kontrollseren vorbereiten.

##### Patientenseren

- In jedes der 8 Röhrchen 0,5 mL 0,85 %ige Kochsalzlösung geben.
- 0,8 mL Kochsalzlösung in ein separates Röhrchen füllen und 0,2 mL Serum hinzufügen. Gut mit einer separaten Pipette durchmischen und 0,5 mL aus diesem Röhrchen in das erste der 8 in Schritt „a“ vorbereiteten Röhrchen geben.
- Für jedes Patientenserum eine saubere Pipette verwenden. 0,5 mL aus Röhrchen 1 in Röhrchen 2 übertragen. Eine Serienverdünnung bis Röhrchen 7 durchführen. 0,5 mL aus Röhrchen 7 entsorgen. Röhrchen 8 ist die Antigen-Kontrolle.

**Hinweis:** Das Ablesen der Referenzen kann wie in Schritt 3 unter ERGEBNISSE, „Referenzen ablesen“, beschrieben erfolgen.

##### Kontrollserum

In den Röhrchen wie folgt Serienverdünnungen des Kontrollserums in Mengen zu 0,5 mL vorbereiten:

- 8 Röhrchen in ein Gestell einsetzen.
- Mit der Pipette 0,9 mL 0,85 %ige Kochsalzlösung in das erste Röhrchen geben sowie 0,5 mL in alle anderen Röhrchen.
- Dem ersten Röhrchen mit 0,9 mL Kochsalzlösung 0,1 mL Serum hinzufügen.
- Gut mit einer Pipette vermischen und 0,5 mL aus dem ersten Röhrchen in das zweite Röhrchen geben. Gut durchmischen.
- Die 0,5-mL-Serumverdünnung bis Röhrchen 7 fortsetzen. Nach dem gründlichen Durchmischen 0,5 mL aus Röhrchen 7 entsorgen. Röhrchen 8 ist das Röhrchen mit der Antigen-Kontrolle.

- Antigen-Verdünnung vorbereiten

- Francisella-Antigen im Verhältnis 1 : 50 (ein Teil Antigen zu neunundvierzig Teilen 0,85 %ige Kochsalzlösung) verdünnen, z. B. 0,25 mL Antigen und 12,25 mL Kochsalzlösung. Gut durchmischen.

- Antigen und Serum vermischen

Jedem Röhrchen mit Patientenseren oder Kontrollserum sowie dem Röhrchen mit der Antigen-Kontrolle 0,5 mL verdünntes Antigen hinzufügen. Die Röhrchen 10 Sekunden lang schütteln. Die daraus resultierenden Verdünnungen sind Verdünnungen im Verhältnis 1 : 20 bis 1 : 1280.

- Alle Röhrchen 20 h lang im Wasserbad bei 37 °C inkubieren

#### Qualitätssicherung durch den Anwender

Bei der Anwendung sowohl positive als auch negative Kontrollen einsetzen, um die Leistung des Antigens, die Techniken und die Methodik zu überprüfen.

Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Anwendern wird geraten, die relevanten CLSI-Richtlinien und CLIA-Vorschriften über geeignete Maßnahmen zur Qualitätskontrolle einzusehen.

#### ERGEBNISSE

##### Objekträgeretest

- Auf Agglutination überprüfen und diese notieren

Agglutinationsgrad		
100 %	Hintergrund klar bis leicht trüb	4+
75 %	Hintergrund leicht wolkig	3+
50 %	Hintergrund mäßig wolkig	2+
25 %	Hintergrund sehr wolkig	1+
Keine		negativ

- Bestimmung des Antikörpertiters

Der Titer ist reziprok zur höchsten Verdünnung mit einer Mindestagglutination der Stärke 2+.

Serum, mL	Korrelationsverdünnung
0,08	1 : 20
0,04	1 : 40
0,02	1 : 80
0,01	1 : 160
0,005	1 : 320

##### Röhrchentest

- Auf Agglutination überprüfen und diese notieren

Jedes Röhrchen äußerst vorsichtig bewegen und Agglutination wie folgt dokumentieren:

100 %	Klare Flüssigkeit über den Agglutininen	4+
75 %	Leicht wolkig	3+
50 %	Mäßig wolkig	2+
25 %	Sehr wolkig	1+
Negativ	Sehr wolkig ohne Agglutinine	

- Titer messen

Der Titer ist reziprok zur höchsten endgültigen Verdünnung mit einer Mindestagglutination der Stärke 2+.

Röhrchen-Nummer	Verdünnung
1	1 : 20
2	1 : 40
3	1 : 80
4	1 : 160
5	1 : 320
6	1 : 640
7	1 : 1280

- Referenzen ablesen

Die folgende Tabelle „Referenzen ablesen“ ist hilfreich bei der Bestimmung, wie der flüssige Teil des Röhrchentests im Hinblick auf die unterschiedlichen Agglutinationsgrade aussehen sollte. Dies gilt nur für den flüssigen Teil.

Antigen, mL	Kochsalzlösung, mL	Flüssigkeitswert
0,5 mL	0,5 mL	negativ
0,25 mL	0,75 mL	2+
0,125 mL	0,875 mL	3+

**HINWEIS:** Wenn eine Autoagglutination des Antigens vermutet wird, die unter „Referenzen ablesen“ aufgeführten Mischungen genau wie oben beschrieben vorbereiten. Agglutiniertes Material in einem oder in allen der Röhrchen zeigt, dass das Antigen instabil ist und entsorgt werden muss.

Wie bei anderen Agglutinationstests kann kein Einzeltest und keine Einzelbestimmung als diagnostisch betrachtet werden. Es existieren viele Variablen (siehe „Verfahrensbeschränkungen“). Ein vierfacher Anstieg des Antikörpertiters, nachweisbar in Seren, die im Abstand von ungefähr 5 Tagen während der akuten Phase und der Rekonvaleszenzphase gesammelt wurden, lässt in hohem Maße die Vermutung einer spezifischen Präsumtidiagnose zu. Die Tabelle unten liefert einen ungefähren Anhaltspunkt für die Bedeutung der Serumtiters.<sup>2</sup>

Krankheit	Febriles Antigen	Serum-Agglutinine		
		Ausbruch	Maximum	Titer und Signifikanz
Tularemie	Francisella tularensis	7 bis 14 Tage	4 bis 8 Wochen	1 : 160 = starker Verdacht

#### VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Prozone-Reaktionen sind möglich. Wenn keine Verklumpung in geringeren Verdünnungen zu erkennen ist, unbedingt sicherstellen, dass Agglutination bei höchster Verdünnung beobachtet wird.

Es kommt gelegentlich vor, dass Patienten keine Serumagglutinine ausbilden.

Es kann zu Kreuzreaktionen zwischen den Brucella- und den Francisella-Antigenen und -Antisera kommen. Aus diesem Grund sollten parallele Tests mit diesen Antigenen durchgeführt werden. Im Allgemeinen wird ein höherer Titer mit dem homologen Antigen erreicht.

Kreuzreaktionen, vorherige Impfung, anamnestiche Reaktionen,<sup>7</sup> Behandlung mit Antibiotika, sonstige bekannte oder unbekannte Krankheiten, Prozone und Autoagglutinationen sowie andere Faktoren können diese Tests beeinflussen.

Beim Sammeln der Probe das Krankheitsstadium berücksichtigen. Es ist möglich, dass Spitzentiter nur während der Rekonvaleszenz auftreten.

Für umfassendere Informationen einschlägige Quellen konsultieren.<sup>8-10</sup>

Diese Produkte sind nicht als Kultursatz gedacht. Der etiologische Organismus muss auf geeignete Weise gewonnen und identifiziert werden.

Nur die in diesem Beipackzettel aufgeführten Produkte mit den entsprechenden Bestellnummern dürfen zusammen verwendet werden. Keine Produkte mit anderen Bestellnummern verwenden.

#### LEISTUNGSMERKMALE

- Das positive Kontroll-Antiserum sollte im Test mit dem entsprechenden homologen febrilen Antigen bei einem Verhältnis von 1 : 80 beim Objektträger- oder Röhrchentest eine Agglutination von 2+ oder mehr zeigen.

##### Febriles Antigen      Homologes Kontroll-Antiserum

Francisella tularensis      Francisella tularensis

- Die negative Kontrolle sollte mit dem Francisella-Antigen keine Agglutination zeigen.

#### LIEFERBARE PRODUKTE

##### Best.- Nr.      Beschreibung

Febrile Antigen

241050      **BD** Francisella Tularensis Antigen, ein Fläschchen mit 5 mL.

Febrile Control Antiserum

240939      **BD** Francisella Tularensis Antiserum, ein Fläschchen mit 5 mL.

**LITERATUR:** S. "References" im englischen Text.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung.

## **BD Francisella Tularensis Antigen e Antiserum per prove di agglutinazione con antigeni febbrili**

Italiano

#### USO PREVISTO

Gli antigeni febbrili sono usati in prove di agglutinazione come aiuto nella diagnosi dei disturbi febbrili come la tularemia. Il siero del paziente viene testato direttamente per ricercare anticorpi omologhi con una prova di agglutinazione su vetrino o in provetta. Questi test sono qualitativi e semi-quantitativi. Il test rapido su vetrino è utilizzato principalmente come procedura di ricerca utile in particolar modo in quei casi in cui è necessario esaminare grandi quantità di siero. Sarà necessario confermare i risultati ottenuti con il test su vetrini con il test in provetta.

Francisella Tularensis Control Antiserum viene impiegato nelle prove di agglutinazione insieme all'antigene febbrile come controllo positivo.

## SOMMARIO E SPIEGAZIONE

La diagnosi sierologica dei pazienti con sospetti disturbi infettivi caratterizzati da febbre persistente dipende dalla dimostrazione di una reazione di agglutinazione tra gli antigeni opportuni ed il siero del paziente.

La reazione naturale all'invasione degli organismi patogeni è la produzione di anticorpi. Questa reazione immunitaria è molto soggettiva e oltre allo stato fisiologico del portatore e alle capacità genetiche, molti altri fattori concorrono alla produzione di anticorpi in seguito ad un determinato stimolo. Questi comprendono l'antigenicità dell'organismo, la quantità totale introdotta nel portatore ed il percorso dell'introduzione, e l'eventuale precedente esposizione del portatore all'organismo. Tali fattori determineranno il ritmo di formazione degli anticorpi, la quantità degli anticorpi prodotti e la loro persistenza all'interno del sistema circolatorio.

## PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Quando il corpo umano è invaso da qualsiasi agente microbiologico patogeno, si forma una varietà di anticorpi, tra cui le agglutinine. Un siero contenente agglutinine specifiche in combinazione con antigeni omologhi in condizioni adeguatamente controllate è in grado di provocare un'agglutinazione evidente. Il grado di formazione dell'agglutinazione dipende dalla concentrazione dell'antigene, dal numero di anticorpi presenti, dalla composizione della soluzione fisiologica e dalla temperatura.<sup>1</sup>

I sieri dei pazienti normali potranno mostrare agglutinazione positiva di antigeni febbrili dovuta ad una precedente immunizzazione, a passate infezioni o alla presenza di anticorpi dei relativi antigeni. Generalmente, i titoli riscontrati in questi casi saranno inferiori e rimarranno ad un livello costante. I titoli rilevati a causa di un'infezione attiva o di una recente immunizzazione con un organismo contenente antigeni omologhi di solito sono in numero maggiore e tendono ad aumentare per un certo periodo di tempo.

Per tale motivo, si rende necessaria una valutazione di due o più campioni di siero prelevati a intervalli di 3 – 5 giorni, dopo l'insorgenza della malattia. La primaria evidenza della recente infezione o immunizzazione è un progressivo aumento dei titoli.<sup>2</sup>

## REAGENTI

Francisella Tularensis Antigen è una sospensione di cellule batteriche non vitali contenenti lo 0,5% di formaldeide.

Francisella Tularensis Control Antiserum è un antisiero policlonale di coniglio contenente il 30% – 50% di glicerina come conservante.

## Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Questo prodotto contiene gomma naturale secca.

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle norme dell'istituto e alle "Precauzioni standard".<sup>3-6</sup> Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

## N. di cat. Descrizione

Antigene febbrile

241050 **BD** Francisella Tularensis Antigen, fiala da 5 mL.

## ATTENZIONE



**H317** Può provocare una reazione allergica cutanea. **H351** Sospettato di provocare il cancro. **P261** Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. **P302 + P352** IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone. **P405** Conservare sotto chiave. **P501** Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alle normative locali/regionali/nazionali/internazionali.

**Modalità di conservazione:** Al ricevimento, conservare a 2 – 8 °C. Francisella Tularensis Antigen e Francisella Tularensis Control Antiserum sono forniti pronti all'uso. Aprire soltanto al momento dell'uso. Proteggere dall'evaporazione e dalla contaminazione. La data di scadenza riportata sulla fiala si riferisce al prodotto conservato come indicato nel contenitore intatto.

## RACCOLTA DEI CAMPIONI

Ricorrendo a tecniche asettiche, prelevare 5 – 10 mL di sangue in una provetta per sangue senza anticoagulante (ossia **BD Vacutainer** Brand Glass Evacuated Tube). Si consiglia questo tipo di provetta perché permette il prelievo, la coagulazione e la centrifugazione del campione senza dover trasferire il sangue. Far coagulare il sangue per 20 – 30 min. Sciogliere il coagulo dalla parte laterale del contenitore servendosi di un'astina di vetro pulita o di uno stick di applicazione, zaffare la provetta e centrifugare. Estrarre il siero e refrigerare a 2 – 8 °C fino al momento della prova, o congelare immediatamente ad una temperatura pari o inferiore a -15 °C nel caso in cui il test venga eseguito dopo più di 4 h.

## PROCEDURA

**Materiali forniti:** Francisella Tularensis Antigen e Francisella Tularensis Control Antiserum.

### Materiali necessari ma non forniti:

1. Vetrino 7,5 x 15 cm (cerchiato)
2. Pipette
3. Strumenti da dentista, astine di vetro o altri stick di applicazione
4. Soluzione fisiologica allo 0,85%
5. Bagnomaria (37 °C)
6. Provette

### Procedura del test

**N.B.: TUTTI I MATERIALI E LE APPARECCHIATURE DEVONO TROVARSI A TEMPERATURA AMBIENTE AL MOMENTO DELL'ESECUZIONE DEL TEST.**

Seguire attentamente le istruzioni per l'uso.

### Test su vetrino

1. Utilizzando un vetrino 7,5 x 15 cm cerchiato (i cerchi si possono creare usando una matita a cera), dispensare il siero (del paziente o del controllo) sul vetrino. Dispensare i campioni di siero in cerchi separati nel modo seguente:

Cerchio	Siero
1	0,08 mL
2	0,04 mL
3	0,02 mL
4	0,01 mL
5	0,005 mL

2. Controllo negativo: Su un cerchio distinto, dispensare 1 goccia di soluzione sterile allo 0,85% su un vetrino 7,5 x 15 cm.
3. Capovolgere ripetutamente la bottiglia per miscelare l'antigene.
4. Aggiungere una goccia di antigene in ogni cerchio con il contagocce fornito con la fiala.
5. Servendosi di uno strumento da dentista o un applicatore nuovi per ogni cerchio, miscelare accuratamente il contenuto dei cerchi.
6. Agitare delicatamente il vetrino per 1 min in prossimità di una fonte di luce e osservare l'agglutinazione.

### Test in provetta

1. Preparare le diluizioni dei sieri del paziente e del controllo.

Sieri del paziente

- a. Aggiungere 0,5 mL di soluzione fisiologica allo 0,85% in ognuna delle 8 provette.
- b. Aggiungere 0,2 mL di siero in una provetta separata contenente 0,8 mL di soluzione fisiologica. Miscelare bene con un'altra pipetta e aggiungere 0,5 mL del contenuto alla prima delle 8 provette preparate nella fase "a".
- c. Utilizzando una pipetta pulita per ogni siero del paziente, miscelare e trasferire 0,5 mL dalla provetta 1 alla provetta 2 e diluire in serie fino alla provetta 7. Togliere 0,5 mL dalla provetta 7. La provetta 8 è l'antigene di controllo.

**N.B.:** I Riferimenti di lettura possono essere configurati nel modo descritto nel paragrafo 3 dei RISULTATI, "Riferimenti di lettura".

Siero di controllo

Preparare le diluizioni in serie del siero di controllo in quantità di 0,5 mL nelle provette, nella maniera seguente:

- a. Porre 8 provette in un rack.
  - b. Con una pipetta introdurre 0,9 mL di soluzione fisiologica allo 0,85% nella prima provetta e 0,5 mL in ognuna delle provette rimanenti.
  - c. Aggiungere 0,1 mL del siero alla prima provetta contenente 0,9 mL di soluzione fisiologica.
  - d. Miscelare bene con una pipetta e trasferire 0,5 mL dalla prima alla seconda provetta. Mescolare accuratamente.
  - e. Continuare a diluire 0,5 mL di siero fino alla provetta 7. Togliere 0,5 mL dalla provetta 7 dopo aver miscelato accuratamente. La provetta 8 è l'antigene di controllo dell'antigene.
2. Preparare la diluizione dell'antigene
    - a. Diluire l'antigene Francisella fino ad avere una parte di antigene in quarantanove parti di soluzione fisiologica allo 0,85% (1:50), per esempio, 0,25 mL di antigene e 12,25 mL di soluzione fisiologica. Mescolare accuratamente.
  3. Miscelare l'antigene ed il siero.

Aggiungere 0,5 mL dell'antigene diluito ad ogni provetta contenente siero del paziente o siero del controllo, nonché alla provetta del controllo dell'antigene. Agitare le provette per 10 secondi. Le diluizioni risultanti vanno rispettivamente da 1:20 a 1:1280.
  4. Incubare tutte le provette a bagnomaria a 37 °C per 20 h.

### Controllo di qualità a cura dell'utente

Al momento dell'uso, applicare entrambi i controlli per gli antisieri positivi e negativi per verificare le prestazioni dell'antigene, le tecniche e la metodologia.

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Consultare le linee guida CLSI e le norme CLIA in materia, per una corretta esecuzione delle procedure relative al controllo di qualità.

## RISULTATI

### Test su vetrino

1. Registrare l'agglutinazione

Grado di agglutinazione	
100%	sfondo da trasparente a leggermente appannato 4+
75%	sfondo leggermente torbido 3+
50%	sfondo moderatamente torbido 2+
25%	sfondo molto torbido 1+
Assente	Negativo

2. Determinazione del titolo dell'anticorpo

Il titolo è il reciproco della più elevata diluizione che produce agglutinazione pari ad almeno 2+.

Siero, mL	Diluizione di correlazione
0,08	1:20
0,04	1:40
0,02	1:80
0,01	1:160
0,005	1:320

### Test in provetta

1. Registrare l'agglutinazione

Agitare molto delicatamente le provette e registrare l'agglutinazione nel modo seguente:

100%	Liquido trasparente sopra le agglutinine	4+
75%	Leggermente torbido	3+
50%	Moderatamente torbido	2+
25%	Molto torbido	1+
Negativo	Molto torbido privo di agglutinine	

## 2. Misurare il titolo

Il titolo è il reciproco della più elevata diluizione finale che produce agglutinazione pari ad almeno 2+.

Numero di provetta	Diluizione
1	1:20
2	1:40
3	1:80
4	1:160
5	1:320
6	1:640
7	1:1280

## 3. Riferimenti di lettura

La seguente tabella dei Riferimenti di lettura sarà d'aiuto nel determinare l'aspetto della parte liquida del test in provetta in base ai vari gradi di agglutinazione. Valido solo per la parte liquida.

Antigene, mL	Soluzione fisiologica, mL	Lettura del liquido
0,5 mL	0,5 mL	Negativo
0,25 mL	0,75 mL	2+
0,125 mL	0,875 mL	3+

**N.B.:** In caso di sospetta auto-agglutinazione dell'antigene, preparare le miscele dei "Riferimenti di lettura" seguendo esattamente le indicazioni riportate sopra. La presenza di materiale agglutinato in una o più provette indica che l'antigene è instabile ed è necessario eliminarlo.

Come per altre prove di agglutinazione, non è possibile considerare diagnostici singoli test o determinazioni. Concorrono molte variabili (Vedere "Limitazioni della Procedura"). Tuttavia, un aumento di quattro volte del titolo dell'anticorpo dimostrabile in sieri di fase acuta e di convalescenza accoppiati, prelevati approssimativamente ad intervalli di cinque giorni fornisce un suggerimento molto attendibile per quanto riguarda la specifica diagnosi presuntiva. L'elenco riportato sotto offre un'indicazione approssimativa dell'interpretazione dei titoli del siero.<sup>2</sup>

Agglutinine del siero				
Disturbo	Antigene febbrile	Manifestazione	Massimo	Titolo ed interpretazione
Tularemia	Francisella tularensis	7 – 14 giorni	4 – 8 settimane	1:160 = molto indicativa

## LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Sono possibili reazioni di prozona. Se non sono visibili grumi a diluizioni inferiori, osservare con attenzione l'agglutinazione alle diluizioni superiori.

I pazienti talvolta non sviluppano le agglutinine del siero.

Tra gli antigeni e gli antisieri di Brucella e Francisella possono verificarsi reazioni incrociate. Con tali antigeni, sarà necessario svolgere test paralleli. In genere i titoli più alti si ottengono con l'antigene omologo.

Le reazioni incrociate, le vaccinazioni preventive, le reazioni anamnestiche<sup>7</sup>, la terapia antibiotica, altri disturbi conosciuti o non conosciuti, prozone ed autoagglutinazioni, insieme ad altri fattori, possono influenzare queste prove.

Considerare lo stadio della malattia al momento del prelievo del campione. È possibile che titoli di picco possano verificarsi solo durante la convalescenza.

Per informazioni più esaurienti, consultare le relative voci della bibliografia.<sup>8-10</sup>

Questi prodotti non sostituiscono la coltura. Sarà necessario effettuare un adeguato tentativo per rintracciare ed identificare l'organismo eziologico.

Usare solo i numeri di catalogo di prodotto riportati nel presente allegato. Non utilizzare con altri numeri di catalogo di prodotto.

## CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

1. L'antisiero di controllo positivo produrrà agglutinazione di 2+ o superiore a 1:80 nella prova su vetrino o in provetta, se testato con il corrispondente antigene omologo.

Antigene febbrile	Antisiero di controllo omologo
Francisella tularensis	Francisella tularensis

2. Il controllo negativo non evidenzierà alcuna agglutinazione con Francisella Antigen.

## DISPONIBILITÀ

**N. di cat.**    **Descrizione**

Antigene febbrile

241050    **BD** Francisella Tularensis Antigen, fiala da 5 mL.

Febbrile Control Antiserum

240939    **BD** Francisella Tularensis Antiserum, fiala da 5 mL.

**BIBLIOGRAFIA:** Vedere "References" nel testo inglese.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD.

# **BD Francisella Tularensis Antigen y Antiserum para pruebas de aglutinación con antígenos febriles**

Español

## USO PREVISTO

Los antígenos febriles se utilizan en pruebas de aglutinación para favorecer el diagnóstico de determinadas enfermedades febriles tales como tularemia. Se analiza de forma directa la presencia de anticuerpos homólogos en el suero del paciente mediante la prueba de aglutinación en portaobjetos o en tubos. Dichas pruebas son cualitativas y semi-cuantitativas. El análisis rápido en portaobjetos se utiliza principalmente como procedimiento de detección y es especialmente útil cuando se deben analizar grandes cantidades de sueros. La prueba en tubo debe utilizarse para confirmar resultados positivos obtenidos mediante la prueba en portaobjetos.

Francisella Tularensis Control Antiserum (antisuero de control) se utiliza en pruebas de aglutinación conjuntamente con Febbrile Antigen (antígeno febril) como control positivo.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El diagnóstico serológico de los pacientes posiblemente infectados con enfermedades infecciosas caracterizadas por una fiebre persistente depende de la demostración de la reacción de aglutinación entre el antígeno correspondiente y el suero del paciente.

La respuesta natural a la invasión por parte de organismos patógenos es la producción de anticuerpos. Esta respuesta inmune es característica de cada individuo y, aparte del estado fisiológico del anfitrión y de sus capacidades genéticas, existe una multitud de factores que también participan en la producción de anticuerpos para un estímulo en particular. Estos incluyen la antigenicidad del organismo, la cantidad total introducida en el anfitrión y la vía de introducción, además de si el anfitrión ha tenido una exposición anterior al organismo. Estos factores determinarán la velocidad de formación de anticuerpos, la cantidad de anticuerpos producidos y su persistencia en el sistema circulatorio.

## PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Cuando el cuerpo humano es invadido por un agente microbiológico patógeno, se forman diversos anticuerpos. Entre ellos se encuentran las aglutininas. El suero con aglutininas específicas en combinación con antígenos homólogos en condiciones adecuadamente controladas, es capaz de causar una aglutinación visible. El grado en que ocurre la aglutinación depende de la concentración del antígeno, el número de anticuerpos presentes, la composición de la solución salina y la temperatura<sup>1</sup>.

Los sueros de pacientes normales pueden mostrar una aglutinación positiva con los antígenos febriles debido a una inmunización previa, una infección en el pasado o la presencia de anticuerpos a antígenos relacionados. En general, la titulación encontrada en estas instancias será menor y permanecerá en un nivel constante. Las titulaciones detectadas como resultado de la infección activa o inmunización reciente con un organismo con antígenos homólogos habitualmente serán más elevadas y tenderán a aumentar con el paso del tiempo.

Por lo tanto es necesario evaluar dos o más muestras de suero extraídas a intervalos de 3 a 5 días después del comienzo de la enfermedad. Un aumento progresivo en la titulación es la evidencia principal de una infección o inmunización recientes<sup>2</sup>.

## REACTIVOS

Francisella Tularensis Antigen es una suspensión de células bacterianas no viables con formaldehído al 0,5%.

Francisella Tularensis Control Antiserum es un antisuero de conejo policlonal que contiene 30% – 50% de glicerina como conservante.

## Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Este producto contiene goma natural seca.

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"<sup>3-6</sup> y las directrices del centro. Antes de desecharlos, esterilizar en autoclave los recipientes para muestras y cualquier otro material contaminado.

**Nº de cat.**    **Descripción**

Antígeno febril

241050    **BD** Francisella Tularensis Antigen, un frasco de 5 mL.

## ATENCIÓN



**H317** Puede provocar una reacción alérgica en la piel. **H351** Se sospecha que provoca cáncer. **P261** Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. **P302 + P352** EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. **P405** Guardar bajo llave. **P501** Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.

**Instrucciones de almacenamiento:** A su recepción, conservar a 2 – 8 °C. Francisella Tularensis Antigen y Francisella Tularensis Control Antiserum se suministran listos para su uso. No abrir hasta que se vayan a utilizar. Proteger de la evaporación y la contaminación. La fecha de caducidad de cada frasco se aplica al producto conservado en su envase intacto de la forma indicada.

## RECOGIDA DE MUESTRAS

Mediante técnicas asépticas, recoger 5 – 10 mL de sangre en un tubo de sangre sin anticoagulante (es decir, **BD Vacutainer** Brand Glass Evacuated Tube). Este tipo de tubo es el recomendado porque la recogida, coagulación y centrifugación de la muestra pueden realizarse sin tener que transferir la sangre. Dejar que la sangre se coagule durante 20 – 30 min. Aflojar el coágulo del lado del recipiente con una varilla de vidrio transparente o aplicador, tapar el tubo y centrifugar. Extraer el suero y refrigerar a 2 – 8 °C hasta el momento del análisis o congelar inmediatamente el suero a -15 °C o a una temperatura inferior si el análisis se demora más de 4 horas.

## PROCEDIMIENTO

**Materiales suministrados:** Francisella Tularensis Antigen y Francisella Tularensis Control Antiserum

**Materiales necesarios pero no suministrados:**

1. Portaobjetos de vidrio de 7,5 x 15 cm (con círculos)
2. Pipetas
3. Mondadientes, varillas de vidrio u otros aplicadores
4. Solución salina al 0,85%
5. Baño María (37 °C)
6. Tubos



## Procedimiento de análisis

**NOTA: TODOS LOS MATERIALES Y EQUIPOS DEBEN ENCONTRARSE A TEMPERATURA AMBIENTE EN EL MOMENTO DE REALIZAR LA PRUEBA.**

Es necesario seguir al pie de la letra las instrucciones de uso.

### Prueba en portaobjetos

- Usando un portaobjetos de 7,5 x 15 cm con círculos (los círculos se pueden crear usando un lápiz de cera), dispensar el suero (de paciente o de control) en el portaobjetos. Dispensar muestras de suero en círculos diferentes de la manera siguiente:

Círculo	Suero
1	0,08 mL
2	0,04 mL
3	0,02 mL
4	0,01 mL
5	0,005 mL

- Control negativo: en un círculo distinto, dispensar 1 gota de solución salina estéril al 0,85% en el portaobjetos de 7,5 x 15 cm.
- Invertir el frasco varias veces para mezclar el antígeno.
- Añadir una gota de antígeno a cada círculo utilizando el dropper suministrado con el frasco.
- Con un mondadientes o aplicador nuevo para cada círculo, mezclar el contenido del círculo a conciencia.
- Mover suavemente el portaobjetos durante 1 min cerca de una fuente de luz y observar si se produce aglutinación.

### Prueba en tubo

- Preparar las diluciones de los sueros de paciente y de control.

Sueros de paciente

- Añadir 0,5 mL de solución salina al 0,85% a cada uno de los 8 tubos.
- Colocar 0,8 mL de solución salina en un tubo diferente y añadir 0,2 mL de suero. Mezclar bien con una pipeta diferente y añadir 0,5 mL de este tubo al primer tubo de los 8 preparados en el paso "a".
- Con una pipeta limpia para cada suero de paciente, mezclar y transferir 0,5 mL del tubo 1 al tubo 2 y realizar una dilución en serie hasta el tubo 7. Descartar 0,5 mL del tubo 7. El tubo 8 es el control de antígeno.

**Nota:** Las referencias de lectura se pueden definir según se describe en el paso 3 de RESULTADOS, "Referencias de lectura".

Suero de control

Preparar diluciones en serie del suero de control en cantidades de 0,5 mL en tubos de la siguiente manera:

- Colocar los 8 tubos en una gradilla.
- Pipetear 0,9 mL de solución salina al 0,85% en el primer tubo y 0,5 mL en cada uno de los tubos restantes.
- Añadir 0,1 mL del suero al primer tubo con 0,9 mL de solución salina.
- Mezclar bien con una pipeta y transferir 0,5 mL del primer tubo al segundo. Mezclar bien.
- Continuar colocando 0,5 mL de la dilución de suero hasta el tubo 7. Descartar 0,5 mL del tubo 7 después de mezclar bien. El tubo 8 es el tubo de control de antígeno.

- Preparar la dilución de antígeno

- Diluir el antígeno de Francisella a una parte de antígeno en cuarenta y nueve partes de solución salina al 0,85% (1:50), por ejemplo 0,25 mL de antígeno y 12,25 mL de solución salina. Mezclar bien.

- Mezclar el antígeno y el suero

Añadir 0,5 mL de antígeno diluido a cada tubo con sueros de paciente o suero de control además del tubo de control de antígeno. Agitar los tubos durante 10 segundos. Las diluciones resultantes son de 1:20 a 1:1280, respectivamente.

- Incubar todos los tubos en baño María a 37 °C durante 20 horas.

### Control de calidad del usuario

En el momento del uso, aplicar controles de antígenos tanto positivos como negativos para comprobar el rendimiento del antígeno, las técnicas y la metodología.

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

## RESULTADOS

### Prueba en portaobjetos

- Registrar aglutinación

Grado de aglutinación		
100%	fondo transparente a ligeramente lechoso	4+
75%	fondo ligeramente turbio	3+
50%	fondo moderadamente turbio	2+
25%	fondo muy turbio	1+
Ninguno		Negativo

- Determinación de titulación de anticuerpo

La titulación es el recíproco de la dilución más alta que produce una aglutinación de 2+, como mínimo.

Suero, mL	Dilución de correlación
0,08	1:20
0,04	1:40
0,02	1:80
0,01	1:160
0,005	1:320

### Prueba en tubo

- Registrar aglutinación

Agitar muy suavemente cada tubo y registrar la aglutinación de la manera siguiente:

100%	Líquido transparente sobre aglutininas	4+
75%	Ligeramente turbio	3+
50%	Moderadamente turbio	2+
25%	Muy turbio	1+
Negativo	Muy turbio sin aglutininas	

- Medir la titulación

La titulación es el recíproco de la dilución final más alta que produce una aglutinación de 2+, como mínimo.

Número de tubo	Dilución
1	1:20
2	1:40
3	1:80
4	1:160
5	1:320
6	1:640
7	1:1280

- Referencias de lectura

La siguiente tabla de referencias de lectura le ayudará a determinar cómo la porción de líquido del tubo de ensayo debe aparecer según los diferentes grados de aglutinación. Esto se aplica solamente a la porción líquida.

Antígeno, mL	Solución salina, mL	Lectura del líquido
0,5 mL	0,5 mL	Negativo
0,25 mL	0,75 mL	2+
0,125 mL	0,875 mL	3+

**NOTA:** Si se sospecha autoaglutinación del antígeno, preparar las mezclas de "Referencias de lectura" tal como se indica anteriormente. El material aglutinado en cualquiera o todos los tubos indica que el antígeno no es estable y debe descartarse.

El diagnóstico definitivo no debe fundamentarse en los resultados de un único análisis. Están involucradas muchas variables (véase "Limitaciones del procedimiento"). Sin embargo, un incremento de cuatro veces en la titulación de anticuerpos demostrable en sueros de fase aguda y convaleciente asociados recogidos a intervalos de cinco días aproximadamente, es una indicación muy evidente de un diagnóstico presuntivo específico. En la tabla inferior se muestran indicaciones aproximadas de la importancia de las titulaciones de suero<sup>2</sup>.

Aglutininas de suero				
Enfermedad	Antígeno febril	Aparece	Máximo	Titulación e importancia
Tularemia	Francisella tularensis	7 a 14 días	4 a 8 semanas	1:160 = muy indicativo

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Son posibles las reacciones prozona. Se debe tener cuidado de observar la aglutinación en las diluciones más elevadas si no se observa aglutinación en diluciones menores.

Los pacientes de vez en cuando no desarrollan aglutininas en suero.

Pueden ocurrir reacciones cruzadas entre los antígenos y antisueros de Brucella y Francisella. Por consiguiente, se deben ejecutar pruebas en paralelo con dichos antígenos. Por lo general se obtiene una titulación más alta con el antígeno homólogo.

Las reacciones cruzadas, las vacunaciones anteriores, respuestas anamnésicas<sup>7</sup>, antibioterapia, otras enfermedades conocidas o desconocidas, prozonas, autoaglutinaciones y otros factores pueden afectar a dichas pruebas.

Tomar en cuenta la etapa de la enfermedad cuando se recoja la muestra. Es posible que se produzcan titulaciones máximas solo durante la convalecencia.

Para obtener información más completa, consultar las referencias correspondientes<sup>8-10</sup>.

Estos productos no están diseñados como sustituto de un cultivo. Se deben realizar los procedimientos pertinentes para recuperar e identificar el organismo etiológico.

Solo los números de referencia de producto enumerados en este folleto deben utilizarse conjuntamente. No utilizar con otros números de referencia de producto.

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

- El antisuero de control debe producir una aglutinación de 2+ o más en una dilución 1:80 en la prueba en portaobjetos o en tubo cuando se analiza con el antígeno febril homólogo correspondiente.

Antígeno febril	Antisuero de control homólogo
Francisella tularensis	Francisella tularensis

- El control negativo no debe mostrar aglutinación con el antígeno Francisella Antigen.

### DISPONIBILIDAD

#### Nº de cat. Descripción

Antígeno febril

241050 **BD** Francisella Tularensis Antigen, un frasco de 5 mL.

Antisuero de control febril

240939 **BD** Francisella Tularensis Antiserum, un frasco de 5 mL.

**REFERENCIAS:** Ver "Referencias" en el texto en inglés.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD.



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabricante / Atқарушы / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производител / Výrobca / Proizvođač / Tillverkare / Üretici / Виробник



Use by / Използвайте до / Spotfejulte do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / Uputrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейін пайдалануға / Naudokite iki / Izljetot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Исползовать до / Použite do / Uputrebiti do / Använd före / Son kullanna tarihi / Використати до/line  
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)  
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)  
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned)  
 JJJ-MM-TT / JJJ-MM (MM = Monatsende)  
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)  
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)  
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)  
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)  
 ÉÉÉÉ-ΗΗ-ΝΝ / ÉÉÉÉ-ΗΗ (ΗΗ = hónap utolsó napja)  
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)  
 ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА / (АА = айдың соңы)  
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mēnesio pabaiga)  
 GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigās)  
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = sluten av måneden)  
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)  
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii)  
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)  
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)  
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutet av månaden)  
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)  
 PPPP-MM-ДД / PPPP-MM (MM = кінець місяця)



Catalog number / Каталоген номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Katalooginumbr / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Каталог нөмірі / Katalogo numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталогу / Katalógové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом



Authorized Representative in the European Community / Оторизиран представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret repræsentant i De Europæiske Fællesskaber / Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizuirani predstavnik u Evropskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Représentante autorizado na Comunidade Europeia / Rezentantul autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavništvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Автура Топлулуğu Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС



In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska romagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жүргізетін медициналық диагностика аспабы / In vitro diagnostikos prietaisas / Medicinas ieršces, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk mediskins utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Medicinska romčka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Diyagnostik Tibbi Cihaz / Медичний пристрій для діагностики in vitro



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



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



Contains sufficient for <n> tests / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkelig til <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις / Contenido suficiente para <n> pruebas / Kūlīaldane <n> testide jaoks / Contenu suffisant pour <n> tests / Sadržaj za <n> testova / <n> teszthez elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / <n> тесттері үшін жеткілікті / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor "n" testen / Inholder tilstrækkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conteúdo suficiente para <n> testes / Conținut suficient pentru <n> teste / Достаточно для <n> тестов(а) / Obsah vystačí na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test için yeterli maldeme içerir / Вистачить для аналізів: <n>



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



Control / Контролно / Kontrola / Kontrol / Kontrolle / Μάρτυρας / Kontroll / Contrôle / Controllo / Бақылау / Kontrolé / Kontrolle / Controle / Controllo / Контроль / Kontroll / Kontrolle



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



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