

TeSeE SAP Combi Kit

Protocollo rapido

Σ 192

REF 3551186

Σ 384

REF 3551192

Σ 768

REF 3551191

KIT DI REAGENTI PER LA PURIFICAZIONE E LA RIVELAZIONE *IN VITRO* DELLA PrP^{Sc} NEI BOVINI, OVINI, CAPRINI E CERVIDI

Nell'Unione europea, questo test è approvato come test rapido per l'uso nei programmi di sorveglianza della BSE e dello scrapie nei bovini, ovini, e caprini, come sono definiti nell'allegato III, capitolo A del regolamento (CE) n° 999/2001.

Le attuali linee guida TSE EURL, per l'individuazione della CWD nei cervidi, suggeriscono l'uso di test rapidi TSE che sono stati sottoposti a validazione e hanno ricevuto l'approvazione USDA e / o CFIA per l'uso con questo tipo di tessuti. Per gli stati membri dell'UE che effettuano una sorveglianza mirata dei cervidi, si prega di fare riferimento alle linee guida EURL (Linee guida per i laboratori di riferimento UE per l'individuazione della malattia da deperimento cronico nei cervidi, <ftp://ftp.izsto.it/EURL%20TSE/RAPID%20TESTS/Test%20protocols/>).

Questo kit è stato sottoposto a validazione e ha ricevuto l'approvazione USDA e CFIA per l'uso con tessuto derivante da cervidi per la rilevazione della CWD nei cervidi.



2020/06

BIO-RAD

INDICE

1 - INFORMAZIONI GENERALI

2 - TeSeE SAP Combi Kit

2-1 Principio

2-2 Campioni

2-3 Composizione dei TeSeE SAP Combi Kits

2-4 Preparazione dei reagenti

2-5 Conservazione, validità

2-6 Procedura

2-7 Calcolo ed interpretazione dei risultati

2-8 Limiti del test

3 - MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

4 - PRECAUZIONI

5 - ISTRUZIONI DI IGIENE E SICUREZZA

6 - BIBLIOGRAFIA

1 - INFORMAZIONI GENERALI

Le encefalopatie spongiformi trasmissibili (EST) sono malattie degenerative a lento decorso del sistema nervoso centrale indotte da agenti trasmissibili non convenzionali (agenti EST) abitualmente noti con il nome di prioni.

Le EST vengono generalmente classificate in base alla loro eziologia come iatrogene, ereditarie e/o sporadiche. Nel 18° secolo è stata segnalata la scrapie ovina di cui è stata dimostrata la trasmissione (anche alle capre) anche se le modalità di contaminazione all'interno dei greggi rimangono comunque oscure. Le EST sono state anche osservate nei cervi e nelle alci (sindrome di dimagrimento cronico, CWD) e nelle mucche (encefalopatia spongiforme bovina, BSE).

Anche l'uomo è suscettibile di alcune forme di EST. Esistono prove convincenti secondo le quali l'encefalopatia spongiforme bovina (BSE) sia passata dal bestiame all'uomo, probabilmente attraverso il consumo di carne contaminata.

Oltre a questa variante della malattia di Creutzfeldt-Jakob, tra le altre forme negli umani ci sono il kuru e la malattia di Creutzfeldt-Jakob iatrogena.

Nell'uomo sono state, inoltre, dimostrate forme puramente ereditarie (come la sindrome di Gerstmann-Sträussler-Scheinker [GSS]) e/o la malattia di Creutzfeldt-Jakob sporadica, ma le rispettive incidenze sono piuttosto basse. Non sappiamo se esistono simili casi di EST sporadica negli animali.

Le principali caratteristiche di queste patologie sono :

- un decorso progressivo piuttosto lento ma sempre fatale,
- assenza di agenti infettivi convenzionali,
- accumulo progressivo nel sistema nervoso centrale di un'isoforma anormale della proteina prionica naturale (PrP) denominata PrP^{sc}. Tale isoforma è caratterizzata da particolari proprietà biochimiche e, in special modo, da un aumento della resistenza alle proteasi.

Il periodo di incubazione sorprendentemente lungo precedente ai sintomi neurologici suggerisce che eventi importanti della patogenesi delle EST possano aver luogo in siti extra nervosi e, in particolar modo, nei tessuti linfoidi periferici.

Malgrado le numerose incognite e/o incertezze, il rilevamento della PrP^{sc} anormale è ora riconosciuto quale il metodo di conferma della diagnosi di EST. Tale rilevamento viene principalmente condotto su tessuti nervosi autoptici.

PrP^{sc} anormali sono state anche rilevate in una serie di tessuti ed organi linfoidi : nei centri germinali della milza, nei linfonodi, tonsille, e/o tessuto linfoide associato alla mucosa (in fase di ricerca), nei modelli animali o in pecore affette da scrapie, cervi ed alci con CWD e pazienti con vCJD.

I reagenti progettati dal "Commissariat à l'Énergie Atomique - CEA" (Commissione dell'Energia Atomica Francese), sviluppati, prodotti e commercializzati da Bio-Rad, consentono il rilevamento delle PrP^{sc} su campioni di tessuti nervosi prelevati da animali.

Tale determinazione eseguita con i seguenti reagenti ed accessori:

- TeSeE SAP Combi Kit (192 tests)	Rif. : 3551186
- TeSeE SAP Combi Kit (384 tests)	Rif. : 3551192
- TeSeE SAP Combi Kit (768 tests)	Rif. : 3551191
- Tubi di frantumazione (384 tubi)	Rif. : 3551139
- Tubi di frantumazione (768 tubi)	Rif. : 3551137
- Siringa ed ago di calibrazione (x 200)	Rif. : 3551174
o TSE Calibrat Syringe + Needle VITA (x 200)	Rif. : 12007909
o Piastre di filtrazione (x 50)	Rif. : 3551179
- Piastre Deepwell (x 50)	Rif. : 3590132
- Medium beads (x 2000)	Rif. : 3551171*

* *Solamente per tessuti periferici.*

2 -TeSeE SAP Combi Kit

2-1 Principio

I reagenti del TeSeE SAP Combi Kit, consentono la purificazione, la concentrazione, la solubilizzazione e la rivelazione della PrP^{Sc} dai campioni di tessuto prelevati da animali infetti.

Il TeSeE SAP Test è una tecnica immunoenzimatica (formato sandwich) che impiega 2 anticorpi monoclonali per la rivelazione della proteina prione anormale, resistente alla proteinasi K, dai tessuti prelevati da animali infetti. Il kit contiene reagenti a sufficienza per 192 test (compreso i controlli).

La fase solida si compone di 12 strisce di pozzetti in polistirene rivestiti del primo anticorpo monoclonale. Il secondo anticorpo monoclonale è legato alla perossidasi.

2-2 Campioni

• **Bovini** : la purificazione della PrP^{Sc} si esegue sui campioni di Sistema Nervoso Centrale (SNC). Il cucchiaino di estrazione BSE (Rif. :3551130) può essere utilizzato per estrarre il tronco encefalico.

Poiché la distribuzione di PrP^{Sc} è eterogenea nel sistema nervoso centrale bisogna prelevare preferibilmente nell'area dell'obex del tronco encefalico per una rivelazione ottimale. L'apposita siringa (Rif. : 3551175) consente di prelevare dall'obex in modo facile, rapido e sicuro.

Si prega di far riferimento al protocollo di campionamento per le istruzioni dettagliate relative ad una buona procedura di campionamento.

• **Piccoli ruminanti i cervi** : la purificazione della PrP^{Sc} si esegue sui campioni di Sistema Nervoso Centrale (SNC) e/o* sui tessuti periferici (linfonodi, milza,...). Il cucchiaino di estrazione per gli piccoli ruminanti (Rif. :3551184) può essere utilizzato per estrarre sia il tronco encefalico che il cervelletto.

Poiché la distribuzione della PrP^{Sc} è eterogenea nel sistema nervoso centrale, bisogna prelevare preferibilmente nell'area dell'obex del tronco encefalico per una rivelazione ottimale.

I campioni vengono tagliati e pesati singolarmente.

Nota: altri tessuti (tonsille, ileo, palpebre...) possono essere utilizzati solo a scopo di ricerca.

I campioni vengono conservati ad una temperatura compresa tra 2-8 °C se la purificazione viene eseguita entro le 24 h, altrimenti possono essere congelati per diversi mesi. È possibile sottoporre i campioni solo a 3 cicli di congelamento/scongelamento. Se è necessario trasportare i campioni, bisognerà confezionarli secondo la normativa locale in vigore.

2-3 Composizione dei TeSeE SAP Combi Kits

ETICHETTA-TURA	TIPO DI REAGENTE	PRESENTAZIONE			CONSERVAZIONE
		3551186 (192 tests)	3551192 (384 tests)	3551191 (768 tests)	
Reagente A	Soluzione di denaturazione	1 fialone (55 ml)	1 fialone (120 ml)	1 fialone (240 ml)	2-8 °C
Reagente B	Tampone di precipitazione Colorante : blu bromofenolo	1 fialone (55 ml)	1 fialone (120 ml)	2 fialoni (120 ml)	2-8 °C
Reagente C	Tampone di solubilizzazione Colorante : verde malachite	1 fialone (7 ml)	1 fialone (14 ml)	1 fialone (28 ml)	2-8 °C
PK	Proteinasi K Colorante : rosso fenolo	1 fialone (0,5 ml)	2 fialoni (0,5 ml)	4 fialoni (0,5 ml)	2-8 °C
R1	Micropiastra : 12 strisce da 8 pozzetti rivestite di anticorpo monoclonale anti-PrP	2 piastre	4 piastre	8 piastre	2-8 °C
R2	Soluzione di lavaggio : 10 volte concentrato Tampone Tris-NaCl pH 7,4 Conservante : ProClin 300 (0,01%)	1 fialone (250 ml)	2 fialoni (250 ml)	4 fialoni (250 ml)	2-25 °C
R3	Controllo negativo : Tampone PBS pH 7,2 integrato con BSA Conservante : ProClin 300 (0,1%)	1 fialone (4 ml)	2 fialoni (4 ml)	4 fialoni (4 ml)	2-8 °C
R4	Controllo positivo : Tampone PBS pH 7,4 integrato con peptide sintetico non infettivo. Liofilizzato Conservante : ProClin 300 (0,1%)	1 fialone (qsp 4 ml)	2 fialoni (qsp 4 ml)	4 fialoni (qsp 4 ml)	2-8 °C
R6	Diluyente dei campioni : Tampone PBS pH 7,2 integrato con BSA e rosso fenolo Conservante : ProClin 300 (0,1%)	1 fialone (35 ml)	1 fialone (70 ml)	1 fialone (140 ml)	2-8 °C
R7	Coniugato : 10 volte concentrato anticorpo monoclonale anti-PrP marcato con perossidasi in tampone PBS pH 7,1 integrata con proteine bovine e colorata con rosso fenolo Conservante : ProClin 300 (0,1 %)	1 fialone (2,8 ml)	2 fialoni (2,8 ml)	4 fialoni (2,8 ml)	2-8 °C
R8	Tampone di substrato di perossidasi : Soluzione di acido citrico e sodio acetato pH 4,0 contenente H ₂ O ₂ 0,015% e etilsolfossido (DMSO) 4%	1 fialone (60 ml)	1 fialone (120 ml)	2 fialoni (120 ml)	2-8 °C
R9	Cromogeno : Soluzione di tetrametilbenzidina (TMB)	1 fialone (5 ml)	1 fialone (10 ml)	1 fialone (20 ml)	2-8 °C
R10	Soluzione di arresto : Acido solforico 1 N	1 fialone (28 ml)	1 fialone (56 ml)	1 fialone (112 ml)	2-8 °C
	Film adesivo	8	12	16	

I seguenti reagenti sono dei componenti generici: reagente A, reagente B, diluyente dei campioni (R6), soluzione di lavaggio (R2), tampone di substrato di perossidasi (R8), cromogeno (R9) e soluzione di arresto (R10). Possono essere usati con tutti i lotti dei TeSeE SAP Kits.

2-4 Preparazione dei reagenti

Prima dell'uso, lasciare che i reagenti dei TeSeE SAP Combi Kits raggiungano la temperatura ambiente (18-30 °C) per 30 min.

1 - Reagenti pronti per l'uso

Reagente A, B, C, Il controllo negativo (R3), la soluzione per la diluizione dei campioni (R6) e la soluzione di arresto (R10) sono pronti per l'uso.

Micropiastre (R1) :

Prima di aprire la busta, lasciare che la micropietra raggiunga la temperatura ambiente (18-30 °C) nella sua confezione protettiva con un dissecante per prevenire la condensa d'acqua all'interno dei pozzetti. Aprire al punto di saldatura e riporre immediatamente le file non utilizzate all'interno della bustina.

Chiudere bene la busta dopo aver espulso l'aria eventualmente presente, conservare ad una temperatura compresa tra 2-8 °C.

2 - Reagenti da ricostituire

Proteinasi K :

Il reagente A è il tampone di diluizione per la proteinasi K.

La soluzione va preparata nel modo seguente (4 µl di proteinasi K in 1 ml di reagente A) :

NUMERO DI CAMPIONI	REAGENTE A	PROTEINASI K
2	1 ml	4 µl
10	3 ml	12 µl
18	5 ml	20 µl
26	7 ml	28 µl
34	9 ml	36 µl
42	11 ml	44 µl
50	13 ml	52 µl
58	15 ml	60 µl
66	17 ml	68 µl
74	19 ml	76 µl
82	21 ml	84 µl
90	23 ml	92 µl

I volumi indicati devono essere pipettati esattamente. La punta che contiene la PK deve essere correttamente risciacquata con cicli successivi di aspirazione/distribuzione nel reagente A.

Dopo la ricostituzione, omogeneizzare la soluzione con inversioni consecutive fino ad ottenere una soluzione rossa omogenea.

Soluzione di lavaggio (R2) :

Diluire la soluzione di lavaggio R2 a 1/10 in acqua distillata o ultrapura (ad esempio 100 ml di reagente R2 in 900 ml di acqua distillata).

Controllo positivo (R4) :

Picchiettare con delicatezza il flacone del controllo positivo (R4) sul banco di laboratorio per far staccare eventuali sostanze adesive al tappo di gomma. Aprire il flacone e scioglierne il contenuto in 4 ml di diluente R6. Richiudere il flacone, e per favorire la dissoluzione, lasciarlo riposare per approssimativamente 1 minuto.

Coniugato (R7) :

Diluire il reagente R7 a 1/10 nella soluzione di lavaggio recentemente ricostituita (ad esempio: 0,1 ml di reagente R7 in 0,9 ml di soluzione di lavaggio ricostituita). Per 1 striscia è necessario e sufficiente 1 ml di coniugato pronto per l'uso. Omogeneizzare con delicatezza. Evitare l'impiego di un agitatore vortex.

Soluzione per lo sviluppo enzimatico (R8 + R9) :

Diluire il reagente R9 a 1/11 nel reagente R8 (ad esempio: 0,1 ml di reagente R9 in 1 ml di reagente R8) per 1 striscia è necessario e sufficiente 1,1 ml di soluzione per la rivelazione enzimatica. Omogeneizzare con delicatezza. Evitare l'impiego di un agitatore Vortex®.

2-5 Conservazione, validità

Conservare i TeSeE SAP Combi Kits ad una temperatura compresa tra 2-8 °C. Tutti i reagenti restano stabili a questa temperatura fino alla data di scadenza indicata sul kit (prima e dopo l'apertura dei flaconi).

Dopo la diluizione, la soluzione di proteinasi K ricostituita, se conservata a temperatura ambiente (18-30 °C) va usata entro 6 h.

La vita utile dei reagenti dopo la preparazione è la seguente :

ETICHETTATURA	REAGENTE	VITA UTILE
R1	Micropiastra in bustina chiusa ermeticamente	1 mese a 2-8 °C
R2	Soluzione di lavaggio ricostituita	24 h a temperatura ambiente (18-30 °C) 2 settimane a 2-8 °C
R4	Controllo positivo ricostituito	2 h a temperatura ambiente (18-30 °C) 4 h a 2-8 °C 6 mesi a -20°C Si raccomanda di dividere la soluzione ricostituita in aliquote da 0,5 ml e di conservarle immediatamente a -20°C. Si possono sottoporre a 3 cicli consecutivi di congelamento/scongelo.
R7	Conjugato ricostituito (nella soluzione di lavaggio diluita)	8 h a temperatura ambiente (18-30 °C)
R8 + R9	Soluzione di sviluppo	6 h a temperatura ambiente (18-30 °C), sempre a riparo dalla luce

2-6 Procedura

Per il processamento semiautomatico dei campioni durante il protocollo di purificazione, fare riferimento al manuale del sistema NSP TeSeE.

Protocollo manuale:

1. Campionamento :

- Per i campioni OBEX, prelevare una massa di 350 ± 40 mg di tessuto nervoso.
- Per i linfonodi retrofaringei aggiungere le medium beads (Ref.3551171) nel tubo di frantumazione, prima di aggiungere il campione. Prelevare una massa di 200 ± 20 mg di tessuto da 2-3 diverse aree della corteccia esterna del linfonodo. Tagliare il tessuto in 2-3 piccoli pezzi prima di depositarlo nel tubo di frantumazione.

Chiudere la provetta saldamente e procedere alla fase di macinazione in omogeneizzatore (Ribolyser o TeSeE Precess 24 systema o Precess 48 systema o Precellys Evolution systema).

Nota: a seguito delle conclusioni riportate in EFSA Scientific Opinion on chronic wasting disease (II), EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), EFSA Journal 2018; 16(1):5132, 59 pp., Le attuali linee guida EURL (Linee guida per i laboratori di riferimento UE per l'individuazione della malattia da deperimento cronico nei cervidi, [ftp://ftp.izsto.it/EURL%20TSE/IRAPID%20TESTS/Test%20protocols/](http://ftp.izsto.it/EURL%20TSE/IRAPID%20TESTS/Test%20protocols/)) supportano le raccomandazioni dell'EFSA per il test dei linfonodi retrofaringei e obex per il rilevamento della CWD nei cervidi, per massimizzare la sensibilità della sorveglianza. Per ulteriori informazioni, fare riferimento al laboratorio di riferimento nazionale.

** Si prega di notare che in Germania i test su tessuto cerebrale e linfonodale devono essere effettuati individualmente.*

2. Macinazione dei campioni :

Nota: Quando vengono utilizzate le medium beads per la macinazione del campione, il TeSeE Precess 24 non può essere utilizzato, in quanto possono verificarsi perdite dal tubo.

Inserire le provette nella corona dell'omogeneizzatore. Eseguire un ciclo di agitazione con i seguenti parametri dello strumento :

	Obex		Linfonodi	
	Ribolyser	TeSeE Precess 48 TeSeE Precess 24 Precellys Evolution	Ribolyser	TeSeE Precess 48 Precellys Evolution
Tempo (sec.)	45	-	45	-
Velocità	6.5	-	6.5	-
Numero di cicli	2	N/A	2	N/A
Programma	-	Programma 1 / TSE1	-	Programma 2 / TSE2

Aspettare 5 min tra ogni ciclo di agitazione per permettere allo strumento raffreddare.

Se la frantumazione è insufficiente, si possono aggiungere 1-2 cicli di frantumazione. Attendere che, la temperatura del tubo torni a temperatura ambiente (18-30 ° C) tra ogni ciclo. Ciò può essere realizzato immergendo i tubi in ghiaccio tritato.

3. Trasferimento del campione :

Rimuovere i tubi di triturazione dall'omogeneizzatore, risospendere l'omogenato per inversione prima di aprire i tubi.

Trasferire l'omogenato con uno dei seguenti metodi :

• Metodo con siringa di Calibrazione

Prelevare 250 µl con la siringa di calibrazione (Rif. : 3551174 o Rif. : 12007909) avendo cura di immergere l'ago di calibrazione nello strato di biglie per evitare di campionare frammenti di tessuto non ben omogenato.

Trasferire 250 µl di campione in tutti i tubi eppendorf da 2 ml o nella piastra deepwell (Rif. : 3590132).

• Metodo con piastra di filtrazione

Il trasferimento e la filtrazione sono eseguite separatamente utilizzando una piastra di filtrazione (Rif. : 3551179) ed una piastra deepwell (Rif. : 3590132), con una delle due seguenti tecniche di filtrazione.

- Tecnica con vuoto :

Posizionare la piastra deepwell (Rif. : 3590132) (la piastra master) sul fondo del collettore del vuoto, la guida del collettore e quindi la piastra di filtrazione (Rif. : 3551179). Prelevare almeno 400 µl (≤ 1000 µl) con un puntale da 1000 µl e trasferire in un pozzetto della piastra di filtrazione (Rif. : 3551179), con esclusione delle prime sei posizioni (da A1 a F1). Applicare un film plastico sopra la piastra di filtrazione. Posizionare la capacità di vuoto della pompa (Rif. : 3590350) a 25,4 cm Hg ($\pm 2.5\%$). Accendere la pompa e verificare la corretta capacità di vuoto, quindi aprire la valvola per 1 min \pm 6 s. chiudere la valvola, spegnere la pompa e rilasciare il vuoto dal collettore.

- Tecnica con centrifugazione :

Prelevare almeno 400 µl (≤ 1000 µl) con un puntale da 1000 µl e trasferire in un pozzetto della Deepwell (Rif. : 3551179) preventivamente sovrapposta ad una piastra Deepwell (Rif. : 3590132) (piastra master), con esclusione delle prime sei posizioni (da A1 a F1). Applicare un film plastico sopra la piastra di filtrazione.

Centrifugare il sistema completo (piastra di filtrazione e piastra Deepwell) per 1 min a 500 g. Assicurarsi che la piastra di filtrazione sia saldamente in posizione sulla piastra Deepwell.

Nota : La centrifuga deve essere equipaggiata con un rotore per Deepwell (Rif. : 3590136), per la centrifuga Eppendorf 5804R (Rif. : 3591396).

Per entrambe le tecniche scartare poi la piastra di filtrazione e trasferire 250 µl di campione filtrato in un'altra Deepwell (la piastra di purificazione) per il protocollo manuale oppure posizionare direttamente la piastra master sullo strumento NSP (fare riferimento al manuale dell'operatore del TeSeE NSP).

Nota : A questo stadio, i tubi di triturazione dopo omogenizzazione, le micro-provette e la piastra Deepwell dopo il trasferimento del campione possono essere conservati chiusi :

	A temperatura ambiente (18-30 °C) per 8 h	Da 2-8 °C (in ghiaccio od in frigorifero) per 15 h	A -20°C per 1 anno*
Tubi di triturazione e le micro-provette	Si	Si	Si
Piastra Deepwell	Si	Si	No

* I campioni congelati devono essere scongelati a temperatura ambiente (da 18-30 °C). I campioni possono essere congelati e scongelati per un massimo di tre volte. I campioni devono essere sempre omogenati per inversione prima dell'uso.

4. Trattamento della PK :

Distribuire 250 µl (± 10%) di soluzione di proteinasi K ricostituita [vedi paragrafo 2.4] in ogni micro-provetta o pozzetto di piastra di purificazione. Non superare i 5 min per la distribuzione della proteinasi K ricostituita tra il primo e l'ultimo campione. Omogenare immediatamente le micro-provette chiuse oppure le piastre Deepwell sigillate con film alluminio 10 volte per inversione. Non superare i 2 min tra l'omogenizzazione e l'incubazione a 37°C. Incubare a 37 ± 2 °C in un incubatore a blocchi riscaldanti per 10 ± 1 min.

Note : Utilizzando le Deepwell, il blocco riscaldante deve essere equipaggiato con un rack adattatore per Deepwell.

5. Precipitazione della PrP^{Sc} con il reagente B :

Rimuovere le micro-provette o le piastre Deepwell dall'incubatore a blocchi riscaldanti. Aprire le provette e distribuire 250 µl (± 10%) di reagente B in tutte le microprovette o nei pozzetti della Deepwell. Seguire lo stesso ordine di distribuzione come descritto nel passaggio 4. Non superare i 2 min dall'estrazione dall'incubatore alla omogenizzazione. L'omogenizzazione e' effettuata seguendo la stessa procedura del passaggio 4.

6. Concentrazione delle PrP^{Sc} (centrifugazione) :

Entro 30 min, dopo la distribuzione e la miscelazione del reagente B : centrifugare le micro-provette o le piastre di purificazione come di seguito :

Centrifugazione	Micro provette		Piastre Deepwell
Velocità (g)	20 000	15 000	2 000
Tempo (min)	5	7	10
Temperatura (°C)	20	20	4

Nota : Per la piastra Deepwell aspettare 5 min a 37°C o 10 min a temperature ambiente (da 18-30 °C) dopo la centrifugazione.

7. Chiarificazione del campione :

Scartare il sovrinatante capovolgendo le micro-provette in un apposito contenitore. Asciugare le micro-provette capovolgendole su carta assorbente per 5 min.

Oppure posizionare la piastra Deepwell nell'unità DW40 (Ref. : 3590137). Selezionare il programma 'TSE DW' e selezionare il numero di strip da processare. Alla fine del processo con il DW 40 la piastra Deepwell deve essere asciugata, capovolgendola per 5 min su carta assorbente.

Distribuire 25 µl (± 10%) di reagente C in tutte le micro-provette o nei pozzetti della Deepwell.

Non superare i 10 min tra la fine dell'eliminazione del liquido dalla piastra e la distribuzione del reagente C.

Incubare immediatamente per 5 ± 1 min a $100^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$. Non superare i 2 min tra la distribuzione del reagente C e l'inizio dell'incubazione. Non coprire la piastra Deepwell durante l'incubazione.

Note : Se si usa la Deepwell, il blocco riscaldante deve essere equipaggiato con un rack adattatore per blocco riscaldante.

Rimuovere le micro-provette o le Deepwell dall'incubatore, ed omogenare le provette con un vortex (5 ± 2 s).

I campioni in micro-provette o in Deepwell possono essere conservati per 5 h a $2-8^\circ\text{C}$ o congelati per 72 h a -20°C . I campioni congelati devono essere scongelati a temperatura ambiente (da $18-30^\circ\text{C}$) ed omogenati successivamente utilizzando un vortex (5 ± 2 s).

I campioni purificati vanno diluiti con $125\ \mu\text{l}$ ($\pm 10\%$) di reagente R6. Omogeneizzare i campioni diluiti con Vortex (5 ± 2 s) prima di distribuirli sulla piastra (R1).

1. Rimuovere il rack di micropiastre e il numero necessario di strisce (R1) dall'involucro protettivo. Riporre le strisce non utilizzate con la busta essicante nella bustina di micropiastre e chiuderla ermeticamente.
2. Preparare il controllo positivo (R4), come descritto nel capitolo 2.4.2.
3. Per ogni serie di test e per ogni piastra, distribuire $100\ \mu\text{l}$ ($\pm 10\%$) di controlli/campioni nei pozzetti nell'ordine seguente:
 - Pozzetti A1, B1, C1, D1 : controllo negativo (R3)
 - Pozzetti E1, F1 : controllo positivo (R4)
 - Pozzetti G1, H1, ecc... : campione diluito con reagente (R6)Ogni campione è depositato in soltanto un pozzetto.
4. Coprire con film adesivo ed incubare per 30 ± 2 min a $37 \pm 2^\circ\text{C}$.
5. Preparare soluzione di lavaggio (R2).
6. Preparare soluzione di coniugato (R7).
7. Rimuovere il film adesivo, eseguire 3 cicli di lavaggio. Le condizioni ottimali di lavaggio si ottengono con dispositivi di lavaggio per piastre PW40, PW41, o 1575 Bio-Rad con programma TSE 3.
Non lasciare la micropiastra per più di 5 min dall'ultimo ciclo di lavaggio. Asciugare capovolgendo su carta assorbente prima del passo successivo.
8. Distribuire $100\ \mu\text{l}$ ($\pm 10\%$) di soluzione di coniugato (R7) in ciascun pozzetto.
9. Coprire con film adesivo ed incubare a 30 ± 2 min a $2-8^\circ\text{C}$.
10. Preparare la soluzione per la rivelazione enzimatica (R8+R9).
11. Rimuovere il film adesivo, eseguire 5 cicli di lavaggio. Le condizioni ottimali di lavaggio si ottengono con dispositivi di lavaggio per piastre PW40, PW41, o 1575 Bio-Rad con programma TSE 5.
Non lasciare la micropiastra per più di 5 min dall'ultimo ciclo di lavaggio. Asciugare capovolgendo su carta assorbente prima del passo successivo.
12. Distribuire $100\ \mu\text{l}$ ($\pm 10\%$) di soluzione di rivelazione (R8+R9) in ciascun pozzetto ed incubare la piastra al buio e a temperatura ambiente ($18-30^\circ\text{C}$) per 30 ± 2 min.
Non usare il film adesivo durante l'incubazione.
13. Aggiungere $100\ \mu\text{l}$ ($\pm 10\%$) di soluzione di arresto (R10) in ciascun pozzetto secondo la stessa sequenza e seguendo lo stesso tasso di distribuzione usato per la soluzione di rivelazione.
14. Pulire accuratamente il fondo della piastra e stabilire la densità ottica in lettura bicromatica a $450\ \text{nm} - 620\ \text{nm}$ entro i 30 min dall'arresto della reazione (le strisce devono essere sempre protette dalla luce prima della lettura)

Microplate washer parameters

NAME: TSE 3

EDIT mode function	PLATE	Manifold	STRIPS	Met. (Method)	MODE	CROS SW ASP.	ASP. TIME	VOLUME	OVER FLOW	LIQUID	FLOW	BOT. WASH NUMBER	BOTTOM TIME	BOT. ASP. NUMBER	SHAKE TIME	N° OF CYCLES	SOAKING	MET. INTER	N° OF KITS	KIT INTER
Main parameter	Flat01 (PW40/PW41) Flat 03 (1579)	1"8 (PW40/1575) 2"8 (PW41)	1,2,3,4, 5,6,7,8,9, 10,11,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Method 1	-	-	-	WASH	Plate	Yes	0.3	800	2.5	W1	0 (PW40/1575) 5 (PW41)	-	-	-	-	3	30 (PW41) 45 (PW40/1575)	0	-	-
Method 2	-	-	-	BOTTOM ASP	Plate	Yes	0.3	-	-	-	-	-	-	1	-	1	0	-	-	-

NAME: TSE 5

EDIT mode function	PLATE	Manifold	STRIPS	Met. (Method)	MODE	CROS SW ASP.	ASP. TIME	VOLUME	OVER FLOW	LIQUID	FLOW	BOT. WASH NUMBER	BOTTOM TIME	BOT. ASP. NUMBER	SHAKE TIME	N° OF CYCLES	SOAKING	MET. INTER	N° OF KITS	KIT INTER	
Main parameter	Flat01 (PW40/PW41) Flat 03 (1579)	1"8 (PW40/1575) 2"8 (PW41)	1,2,3,4, 5,6,7,8,9, 10,11,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Method 1	-	-	-	WASH	Plate	Yes	0.3	800	2.5	W1	0 (PW40/1575) 5 (PW41)	-	-	-	-	5	30 (PW41) 45 (PW40/1575)	0	-	-	
Method 2	-	-	-	BOTTOM ASP	Plate	Yes	0.3	-	-	-	-	-	-	1	-	1	0	-	-	-	

PLATE NAME: FLAT 01 (PW40/PW41) - FLAT 03 (1575)

BOT. SHAPE	ASP. HOR. POS.	CENTERING	ASP. VERT. POS.	BOT. VERT. POS.	B.W. VERT. POS.	HORIZONTAL SPEED	VERTICAL SPEED	ASP. DOWNW. SPEED	DISP. UPW. SPEED	BOT. DOWNW. SPEED	BOT. UPWARD SPEED	SHAKING AMPLITUDE	SHAKING SPEED
Flat	1,4	0,3	13,5	9,5	9,5	6	8	6	9	6	9	1	9

2-7 Calcolo ed interpretazione dei risultati

1) Calcolo della densità ottica media (DO) del controllo negativo

$\overline{DO R3}$ = media delle quattro DO dei pozzetti R3

2) Calcolo del valore di soglia

1.1 Campioni di bovini e piccoli ruminanti

Il valore di cut-off pari a: $\overline{DO R3} + 0,210$

Esempio:

$$\overline{DO R3} = 0,020$$

valore di cut-off = $0,020 + 0,210 = 0,230$

1.2 Campioni di cervidi

Il valore di cut-off pari a: $\overline{DO R3} + 0,110$

Esempio:

$$\overline{DO R3} = 0,020$$

valore di cut-off = $0,020 + 0,110 = 0,130$

3) Condizione di validazione del test

• Controllo negativo (R3) :

a) Validazione dei valori individuali del controllo negativo :

La densità ottica di ciascun controllo negativo deve essere inferiore a 0,150.

È possibile eliminare un massimo di un singolo valore aberrante se la densità ottica è superiore o uguale a 0,150.

Se più di 1 valore del controllo negativo è superiore a questo limite, il test va ripetuto.

b) Omogeneità dei valori del controllo negativo :

Calcolare il valore medio delle densità ottiche dei controlli negativi sui valori individuali rimanenti.

I valori al di fuori del valore medio dei controlli negativi + 40 % ($\overline{DO R3} + 40\%$) devono essere eliminati.

- Se un valore del controllo negativo è eliminato in a), un solo altro valore può essere eliminato in b).

- Se nessun valore del controllo negativo è eliminato in a) è possibile eliminare un massimo di due valori in b).

Il test va ripetuto se più di due valori del controllo negativo sono eliminati [punti a)+b)].

• Controllo positivo (R4) :

La media delle densità ottiche dei controlli positivi (DO R4) deve essere superiore o uguale a 1,000 (DO).

Il test va ripetuto se la media delle densità ottiche dei controlli positivi (DO R4) è inferiore a questo limite.

4) Interpretazione dei risultati

I campioni con una densità ottica inferiore al valore di soglia sono considerati negativi secondo le istruzioni del TeSeE SAP Kit.

Tuttavia, i risultati che si trovano appena sotto il valore di soglia (valore di soglia -10%) vanno interpretati con cautela e i campioni riesaminati in duplicato, ripartendo dall'omogenato iniziale.

I campioni con una densità ottica maggiore o equivalente al valore di soglia sono considerati inizialmente reattivi le istruzioni del TeSeE SAP Kit e vanno riesaminati in duplicato, ripartendo dall'omogenato iniziale, prima dell'interpretazione finale.

Dopo aver ripetuto il test, il campione viene considerato positivo secondo le istruzioni del TeSeE SAP Kit quando almeno una delle 2 misurazioni è positiva (DO maggiore o equivalente al valore di soglia). Il campione è considerato negativo secondo le istruzioni del TeSeE SAP Kit quando questi due valori sono inferiori a quello di soglia.

I campioni riesaminati in duplicato e risultati negativi secondo le istruzioni del TeSeE SAP Kit ma per cui uno dei 2 valori si avvicina al valore di soglia (valore di soglia - 10%) vanno interpretati con cautela.

2-8 Limiti del test

Si possono incontrare difficoltà durante la fase di frantumazione se si usano campioni disidratati o tessuti periferici. Potrebbe dunque essere necessario ripetere diverse volte la fase di frantumazione (fase No.2 della procedura) per questo tipo di campione.

Un risultato negativo indica che il campione sottoposto al test non contiene PrP^{Sc} rilevabile dai TeSeE SAP Combi Kits. Comunque, dal momento che livelli bassissimi di PrP^{Sc} potrebbero non essere rilevati, un tale risultato negativo non esclude la possibilità d'infezione.

Ogni campione con un risultato positivo riproducibile secondo i criteri d'interpretazione del test va in conformità con il laboratorio nazionale di riferimento del paese per le EST o il laboratorio di riferimento della Comunità Europea nelle circostanze eccezionali.

3 - MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

- Acqua distillata o acqua ultrapura.
- Soluzione di ipoclorito di sodio 20 000 ppm (concentrazione finale) e di idrossido di sodio 1 M (concentrazione finale).
- Carta assorbente.
- Guanti monouso.
- Occhiali protettivi o mascherina con visiera.

Fase di purificazione :

- Micro-provette da analisi in polipropilene da 2 ml con relativo tappo e rack.
- Pipette regolabili automatiche o semiautomatiche capaci di distribuire volumi compresi tra 20 µl e 500 µl.
- Omogeneizzatore di tessuti : Ribolyser, TeSeE PRECESS 24 o TeSeE PRECESS 48 o Precellys Evolution*.
- Centrifuga* per microprovette da analisi.
- Un incubatore* per microprovette da analisi termostattizzato a 37 ± 2 °C ed un incubatore* per microprovette da analisi termostattizzato a 100 ± 5 °C.

Per la purificazione semiautomatica del campione : sistema TeSeE NSP.

Fase di rivelazione :

- Pipette regolabili o fisse, automatiche o semiautomatiche, capaci di distribuire volumi di 50 µl, 100 µl, 200 µl e 1000 µl.
- Provette da analisi graduate da 10 ml, 20 ml e 100 ml.
- Contenitori per rifiuti contaminati.
- Incubatore per micropiastre termostattizzato a 37 ± 2 °C.
- Camera refrigerata a temperatura compresa tra 2-8 °C.
- Sistema* di lavaggio per micropiastre automatico o semiautomatico.
- Apparecchio* di lettura delle micropiastre (dotato di filtri 450 nm e 620 nm).
- Sistema microplate* per l'automatizzazione delle fasi di protocollo di analisi. Le prestazioni del sistema devono essere conformi ai requisiti del protocollo del test.

* Contattare Bio-Rad per ottenere l'elenco degli strumenti disponibili.

4 - PRECAUZIONI

La qualità dei risultati dipende dal rispetto delle seguenti pratiche di laboratorio raccomandate :

- I reagenti vanno conservati a temperatura compresa tra 2-8 °C.
- Non usare reagenti scaduti.
- Non usare la proteinasi K ricostituita e conservata a temperatura ambiente (18-30 °C) per più di 6 h.
- Nell'ambito della stessa manipolazione, non mischiare reagenti derivanti dei TeSeE SAP Kits con numeri di lotto diversi, fatta eccezione per componenti generici : soluzione di lavaggio (R2), diluente dei campioni (R6), tampone di substrato di perossidasi (R8), cromogeno (R9), soluzione di arresto (R10), tubi di frantumazione, reagente A e reagente B.
- Soluzione di lavaggio (R2), diluente dei campioni (R6), tampone di substrato di perossidasi (R8), cromogeno (R9), soluzione di arresto (R10) e i tubi di frantumazione possono essere utilizzati con gli altri prodotti della gamma TeSeE (TeSeE, TeSeE SAP e TeSeE sheep/goat Tests).
- Prima dell'uso, lasciare che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente (18-30 °C) per 30 min.
- Ricostituire accuratamente i reagenti, evitando ogni contaminazione.
- Non eseguire il test in presenza di vapori reattivi (acidi, alcali, aldeidi) o polvere, che potrebbero alterare l'attività enzimatica del coniugato.
- Usare solo provette in polipropilene.
- Usare componenti in vetro perfettamente lavati, sciacquati in acqua distillata o preferibilmente materiale monouso.
- Non lasciare più di 5 min tra la fine del lavaggio della micropiastre e la distribuzione dei reagenti.
- La reazione enzimatica è molto sensibile a tutti i metalli o ioni metallici. Di conseguenza, non bisogna far entrare in contatto alcun elemento metallico con le varie soluzioni contenenti il coniugato o il substrato.
- La soluzione di rivelazione (tampone substrato + cromogeno) deve essere incolore. La comparsa di un colore pochi minuti dopo la ricostituzione indica che il reagente non può essere usato e va sostituito. La soluzione di rivelazione deve essere preparata preferibilmente con contenitori in plastica monouso e materiale di distribuzione o componenti in vetro precedentemente lavati in acido idroclorico 1 N, sciacquati in acqua distillata ed asciugati. Conservare la soluzione a riparo dalla luce.
- Usare un nuovo puntale di distribuzione per ciascun campione.
- Il lavaggio dei pozzetti costituisce un passo essenziale della procedura: rispettare il numero raccomandato di cicli di lavaggio ed assicurarsi che tutti i pozzetti siano riempiti completamente e, successivamente, svuotati completamente. Un lavaggio non adeguato può portare a risultati erronei.
- Non usare mai lo stesso contenitore e pipetta per distribuire il coniugato e la soluzione di rivelazione.

5 - ISTRUZIONI DI IGIENE E SICUREZZA

In generale : condizioni di igiene, di sicurezza e di buona pratica di laboratorio devono essere in accordo con le norme in vigore.

- Tutti i reagenti del kit sono progettati per l'uso nell'ambito della diagnosi "in vitro".
- Indossare guanti monouso per manipolare i reagenti e i campioni e lavarsi le mani accuratamente dopo averli manipolati.
- Non usare la pipetta con la bocca.
- Usare contenitori in polipropilene per evitare ferite da vetro rotto.
- Tutti i materiali a contatto diretto con i campioni e le soluzioni di lavaggio vanno considerate come contaminate.
- Evitare di schizzare i campioni o le soluzioni contenenti i campioni.
- Le superfici contaminate vanno pulite con una soluzione di ipoclorito di sodio 20 000 ppm 1 M. Se il liquido contaminante è un acido, le superfici contaminate vanno prima neutralizzate con idrossido di sodio prima di usare ipoclorito di sodio. Le superfici vanno sciacquate con acqua distillata, asciugate con etanolo e strofinate con carta assorbente. Il materiale usato per la pulizia va smaltito in uno speciale contenitore per rifiuti contaminati.
- I campioni, il materiale e i prodotti contaminati vanno eliminati dopo la decontaminazione :

- immergendo in idrossido di sodio 1 M (concentrazione finale) per 1 h a temperatura ambiente (18-30 °C).
- immergendo in soluzione di ipoclorito di sodio 20 000 ppm per 1 h a temperatura ambiente (18-30 °C).
- sterilizzando in autoclave a minimo 134°C per almeno 18 min, a 3 bar di pressione.

Nota : mai mettere in autoclave soluzioni contenenti ipoclorito di sodio o reagente B.

- Tutte le operazioni previste per i test di screening per Encefalopatia Spongiforme Trasmissibile (EST) sono soggette a delle normative e vanno eseguite in un laboratorio ad accesso isolato, limitato e controllato dedicato esclusivamente a questa attività. Un camice da laboratorio, soprascarpe, guanti, mascherina con visiera o semplice con occhiali protettivi sono necessari per garantire la sicurezza dell'operatore.
- Gli operatori devono ricevere una formazione specifica in merito ai rischi relativi agli agenti EST o ai prioni e ai modi di contaminazione riconosciuti per gli agenti non convenzionali. Le misure di biosicurezza devono essere in accordo con le raccomandazioni delle autorità regolatorie del paese.
- Evitare che cute e mucose vengano a contatto con il tampone di substrato, il cromogeno e la soluzione di arresto.
- Neutralizzare e/o sterilizzare in autoclave tutte le soluzioni di lavaggio o i rifiuti del lavaggio oppure eventuali liquidi contenenti campioni biologici prima della loro eliminazione.
- Per le raccomandazioni su precauzioni e rischi correlati ad alcuni componenti chimici del presente kit, consultare i simboli riportati sulle etichette e le informazioni fornite alla fine delle istruzioni per l'uso. La Scheda di Sicurezza è disponibile su www.bio-rad.com.

6 - BIBLIOGRAFIA

1. J. GRASSI, E. COMOY, S. SIMON, C. CREMINON, Y. FROBERT, S. TRAPMANN, H. SCHIMMEL, S.A.C. HAWKINS, J. MOYNAGH, JP DESLYS, G.A.H. WELLS (2001)
Rapid Test for the preclinical postmortem diagnosis of BSE in central nervous system tissue. *The Veterinary Record* (149) 577-582.
2. JP. DESLYS, E. COMOY, S. HAWKINS, S. SIMON, H. SCHIMMEL, G. WELLS, J. GRASSI, J. MOYNAGH (2001)
Screening slaughtered cattle for BSE - *Nature* (409) 476-477.
3. E. COMOY (2000)
Contribution au développement d'un test de diagnostic post mortem des bovins atteints d'Encephalopathie Spongiforme Bovine.
Thèse de doctorat vétérinaire (Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort).
4. EUROPEAN COMMISSION
Directorate General DG XXIV (1999).
Preliminary Report : The evaluation of tests for the diagnosis of transmissible Spongiform Encephalopathy in bovines.
5. JP. DESLYS (1999)
Prevention du risque d'Encephalopathie Spongiforme Subaiguë Trans-missible.
La Revue du Praticien (49) 966-970.
6. R. KNIGHT (1999)
The relationship between new variant Creutzfeldt-Jakob Disease and Bovine Spongiform Encephalopathy - *Vox sanguinis* (76) 203-208.
7. D. DORMONT (1997)
Les Agents Transmissibles Non Conventionnels ou prions - *Virologie* (1) 11-22

8. F. HILLA, M. DESBRULAIS, S. JOINER, KCL SIDLE, I. GOWLAND, J. COLLINGE, LJ. DOEY, P. LANTOS (1997)
The same prion strain causes CJ disease and BSE - Nature (389) 448-450.
9. CI. LASMEZAS, JP. DESLYS, O. ROBAIN, D. DORMONT (1997)
L'agent secret des maladies à prions - La Recherche 46-53.
10. AM. HAYWOOD (1997)
Transmissible Spongiform Encephalopathies.
The New England Journal of Medecine (337-25) 1821-1828.
11. J. COLLINGE, KC. SIDLE, J. MEADS, J. IRONside, AF. HILL (1996)
Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of «new variant» CJD.
Nature (383) 685-690.
12. RG. WILL, J. IRONside, M. ZEIDLER, SN. COUSENS, K. ESTIBEIRO, A. ALPEROVITCH, S. POSER, M. POCCHIARI, A. HOFMAN, PG. SMITH (1996)
A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the U.K. - Lancet (347) 911-925.
13. SB. PRUSINER & AL (1993)
Immunologic and molecular biologic studies of prion protein in Bovine Spongiform Encephalopathy.
The Journal of Infectious Diseases (167) 602-613

Siringa per campioni

REF 3551175

METODO DI CAMPIONAMENTO PER LE ANALISI Bio-Rad
DI RIVELAZIONE DELLA TSE

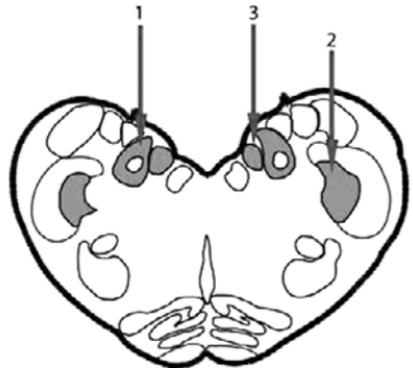
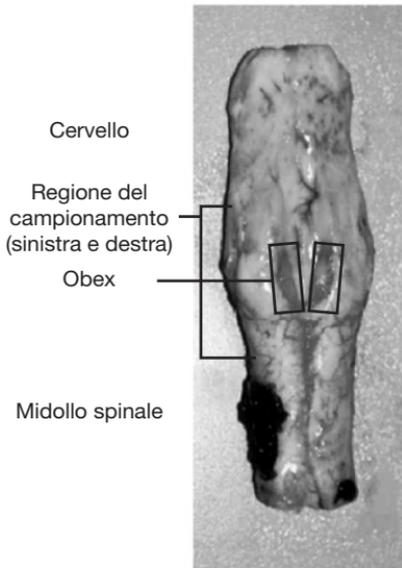
BIO-RAD

INDICE

- 1 - INFORMAZIONI GENERALI
 - 1-1 Raccolta di campioni al mattatoio
 - 1-2 Procedura di campionamento in laboratorio
- 2 - SIRINGA Bio-Rad PER IL PRELIEVO DEI CAMPIONI
- 3 - MASSA DI CAMPIONE NECESSARIA PER IL TEST
- 4 - PROCEDURA OPERATIVA
- 5 - PRECAUZIONI/AVERTENZE
- 6 - PROCEDURE PER L'IGIENE E LA SICUREZZA

1 - INFORMAZIONI GENERALI

I saggi Bio-Rad per la rivelazione della TSE vengono eseguiti su un campione di 350 ± 40 mg di tessuto nervoso centrale (SNC). La regione anatomica più idonea per l'individuazione della PrP^{sc} negli animali infetti è il tronco encefalico, più precisamente nella zona del nucleo del nervo vago, nella regione dell'obex. Questa è la zona del tronco encefalico in cui la PrP^{sc} è maggiormente concentrata.



Sezione trasversale del tronco encefalico a livello dell'obex, che identifica il sito principale per la diagnosi mediante istopatologia e immunostochimica nella BSE (nucleo del tratto solitario [1] e nucleo del tratto V del trigemino [2]) e nella scrapie (nucleo dorsale del vago [3])

(Fonte: OIE- Manuale di Test Diagnostici e Vaccini per Animali Terrestri)

1-1 Raccolta dei campioni al mattatoio

Il tronco encefalico può essere prelevato rapidamente e con facilità con uno strumento adeguato o con un cucchiaino per la raccolta di campioni, attraverso il forame occipitale, senza aprire la cavità cranica.



Raccolta del campione con il cucchiaino per campioni Bio-Rad

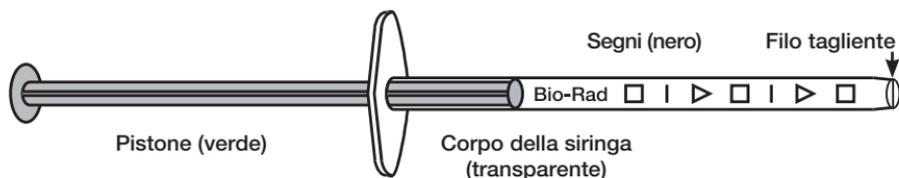
1-2 Procedura di campionamento in laboratorio

L'intero campione di tronco encefalico viene inviato al laboratorio dove si effettuerà il test, accertandosi che siano rispettate le misure di sicurezza biologica raccomandate dalle autorità regolatrici del paese in questione. In laboratorio, la quantità adeguata di materia celebrale viene escissa (lama del bisturi, ecc.) dalla regione dell'obex o prelevata con una **siringa per campioni Bio-Rad (Rif.: 3551175)** che consente di prelevare dalla zona appropriata la quantità di campione necessaria in modo rapido e sicuro, senza rischi di ferite da taglio.

Di seguito viene descritta la procedura per prelevare in modo efficace il campione dalla regione dell'obex utilizzando la siringa Bio-Rad per il prelievo di campioni senza danneggiare il tessuto.

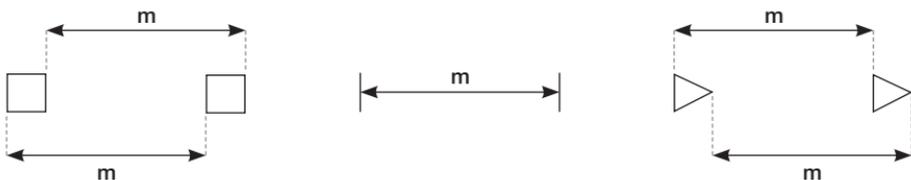
2 - SIRINGA Bio-Rad PER IL PRELIEVO DEI CAMPIONI

La siringa Bio-Rad per il prelievo dei campioni consiste in un pistone verde e un corpo trasparente. Il corpo della siringa è etichettato con una serie di forme geometriche. (□ ▷ |)



3 - MASSA DI CAMPIONE NECESSARIA PER IL TEST

La massa di campione dovrebbe occupare lo spazio compreso tra due simboli della stessa forma che corrisponde a una massa (m) di 350 +/- 40 mg.



4 - PROCEDURA OPERATIVA

- Prendere una siringa per campioni ed estrarre il pistone verde fino a 1 cm circa dal fondo poi spingerlo di nuovo verso il fondo.
- Afferrare saldamente il tronco encefalico con una mano servendosi di un involucro monouso (busta di plastica, guanto, ecc.) al fine di evitare un'eventuale contaminazione crociata tra campioni. L'estremità del tronco encefalico dovrebbe rimanere accessibile.
- Con l'altra mano posizionare l'estremità aperta della siringa per campioni sul lato destro o sinistro della base del tronco encefalico.

Nota: è necessario che un'emissione completa del tronco encefalico con una regione dell'obex intatta rimangono disponibili dopo la raccolta del campione per i test di conferma.



- Inserire gradualmente il corpo della siringa nel tronco encefalico sempre tenendo il pistone verde nella sua posizione (relativamente al tronco encefalico).

Nota: Nel prelevare il campione dalla regione dell'obex, controllare che il corpo della siringa rimanga all'interno del lato selezionato del tronco encefalico.



- Interrompere il movimento quando l'estremità del corpo della siringa raggiunge il limite superiore della zona di campionamento.
- Tagliare la parte interna del campione ruotando il corpo della siringa di un giro completo.
- Rimuovere lentamente la siringa per campioni dal tronco encefalico, facendo attenzione a non danneggiare i tessuti circostanti. Il rimanente tronco encefalico può essere riposto nel suo contenitore per campioni originale.
- Controllare l'eventuale presenza di vuoti d'aria nella parte di campione prelevata. Se necessario, comprimere il campione prelevato chiudendo l'estremità del corpo della siringa e spingendo il pistone verde fino a completa eliminazione dei vuoti d'aria; assicurarsi inoltre che il tessuto più vicino all'apertura del corpo della siringa non fuoriesca.
- Tenendo ferma la parte superiore del corpo della siringa, muovere il pistone verde verso il simbolo più vicino.
- Controllare che il campione copra almeno una zona corrispondente alla "m", come descritto nella sezione precedente del presente documento (Massa di campione necessaria per il test).
- Prendere un tubo di frantumazione e rimuovere il tappo, con la siringa per campioni spingere deprimere con cautela il pistone verde fino al successivo simbolo identico al fine di assicurare che la massa esatta di tessuto ("m") venga dispensata nel tubo di frantumazione. È opportuno ricordare che il pistone deve essere spostato fino alla corrispondente posizione del simbolo successivo come indicato nella sezione "Massa di campione necessaria per il test".
- Tagliare il campione prelevato appoggiando l'estremità della siringa per campioni contro il margine interno del tubo di frantumazione.
- La parte non utilizzata del campione prelevato può essere conservata riponendo la siringa per campioni con la parte rimanente del tronco encefalico nel suo contenitore originale.

5 - PRECAUZIONI/AVVERTENZE

Come per qualunque dispositivo di pipettaggio, Bio-Rad raccomanda che gli operatori che impiegano la siringa per campioni siano sottoposti a monitoraggi periodici, per una popolazione statisticamente rappresentativa di campioni prelevati, in modo da assicurare che i pesi campionati rientrino nell' intervallo richiesto.

Le siringhe per campioni devono essere utilizzate una sola volta e poi eliminate al fine di evitare eventuali contaminazioni crociate tra i diversi campioni.

Il campione deve essere prelevato con tutte le dovute precauzioni al fine di assicurare che il rischio di contaminazione per gli operatori sia ridotto al minimo.

Le siringhe utilizzate devono essere eliminate dopo essere state decontaminate (vedere le istruzioni per l'Igiene e la Sicurezza).

Se la parte di campione prelevata non riempie tutto il corpo della siringa nonostante la procedura sia stata eseguita correttamente, si consiglia di pesare il campione.

6 - PROCEDURE PER L'IGIENE E LA SICUREZZA

Le condizioni di igiene, di sicurezza e di buona pratica di laboratorio devono essere in accordo con le norme in vigore delle autorità regolatrici del paese.

L'uso della siringa per campioni è destinato esclusivamente alle procedure diagnostiche "in vitro".

Indossare guanti monouso durante la manipolazione dei reagenti e dei campioni e lavarsi a fondo le mani dopo la loro manipolazioni.

Qualunque strumentazione che sia venuta in contatto diretto con i campioni deve essere considerata come contaminata.

Le superfici contaminate devono essere pulite con 20.000 ppm di soluzione di ipocloruro di sodio. Se il liquido contaminante è un acido, le superfici contaminate devono essere neutralizzate preventivamente con idrossido di sodio prima di utilizzare l'ipocloruro di sodio. Le superfici devono essere sciacquate con acqua distillata, asciugate con etanolo e ripassate con carta assorbente. Il materiale usato per pulire deve essere eliminato in un contenitore specifico per residui contaminati.

I campioni, la strumentazione e i prodotti contaminati devono essere eliminati dopo la decontaminazione mediante uno dei seguenti metodi:

- immergendo in 1 M di idrossido di sodio (concentrazione finale) per 1 h a temperatura ambiente (18-30 °C).
 - immergendo in una soluzione clorometrica 20 000 ppm di ipocloruro di sodio per 1 h a temperatura ambiente (18-30 °C).
 - mediante autoclavaggio a una temperatura di almeno 134 °C per un minimo di 18 min, a una pressione di 3 bar.
- Nota: non introdurre mai nell'autoclave soluzioni contenenti candeggina.**

Tutte le operazioni necessarie per i test di rivelazione dell'Encefalopatia Spongiforme Trasmissibile (TSE) sono soggette alle norme di sicurezza locali e devono essere eseguite in un laboratorio isolato e ad accesso limitato e controllato destinato unicamente a questa attività. Al fine di salvaguardare la sicurezza dell'Operatore è necessario che questi indossi un camice da laboratorio o altro indumento protettivo, soprascarpe, guanti (due paia), maschera con visiera o maschera semplice con vetri di sicurezza.

Gli operatori devono ricevere una formazione specifica relativa ai rischi collegati con gli agenti e i prioni della TSE, e circa i metodi convalidati per la decontaminazione degli agenti non convenzionali. Le misure di sicurezza biologica devono essere in accordo con le raccomandazioni delle autorità regolatrici del paese interessato.

- (BG)** • Този продукт съдържа човешки или животински компоненти. Бъдете внимателни при работа с него.
- (CN)** • 本产品包含人/动物成分，请小心处理。
- (CN)** ^{Traditional} • 本产品包含人/动物成分，请小心处理。
- (CZ)** • Tento výrobek obsahuje lidské nebo zvířecí komponenty. Zacházejte s ním opatrně.
- (DE)** • Dieses Produkt enthält Bestandteile menschlichen oder tierischen Ursprungs. Vorsichtig handhaben.
- (DK)** • Dette produkt indeholder humane og animalske komponenter. Skal behandles med forsigtighed.
- (EE)** • Käesolev toode sisaldab inim-või loomseid komponente. Käsitseta ettevaatlikult.
- (EN)** • This product contains human or animal components. Handle with care.
- (ES)** • Este producto contiene componentes humanos o animales. Manejar con cuidado.
- (FI)** • Tässä tuotteessa on ihmisestä tai eläimestä peräisin olevia osia. Käsittele varovasti.
- (FR)** • Ce produit contient des composants d'origine humaine ou animale. Manipuler avec précaution.
- (GR)** • Αυτό το προϊόν περιέχει ανθρώπινα ή ζωικά στοιχεία. Χειριστείτε το με προσοχή.
- (HR)** • Ovaj proizvod sadrži ljudske ili životinjske sastojke. Pažljivo rukovati.
- (HU)** • A készítmény emberi vagy állati eredetű összetevőket tartalmaz. Óvatosan kezelendő.
- (IT)** • Questo prodotto contiene componenti umane o animali. Maneggiare con cura.
- (JP)** • 本製品にはヒトまたは動物由来の構成成分が含まれます。取り扱いにご注意下さい。
- (KR)** • 본 제품은 사람 또는 동물유래의 성분이 포함되어 있습니다. 취급에 주의하시기 바랍니다.
- (LT)** • Šiame produkte yra žmogiškiosios arba gyvūninės kilmės sudėtinųjų dalių. Elgtis atsargiai.
- (MT)** • Dan il-prodott fih komponenti umani jew tal-animali. Uża b'attenzjoni.
- (NL)** • Dit product bevat menselijke of dierlijke bestanddelen. Breekbaar.
- (NO)** • Dette produktet inneholder humane eller animalske komponenter. Håndteres med forsiktighet.
- (PL)** • Niniejszy produkt zawiera składniki pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego. Należy obchodzić się z nim ostrożnie.
- (PT)** • Este medicamento contém componentes de origem humana ou animal. Manuseie com cuidado.
- (RO)** • Acest produs conține materiale de origine umană sau animală. Manevrați-l cu grijă.
- (SE)** • Denna produkt innehåller beståndsdelar från människa eller djur. Hantera produkten varsamt.
- (SI)** • Izdelek vsebuje človeške ali živalske sestavine. Rokujte previdno.
- (SK)** • Tento výrobok obsahuje ľudské alebo zvieracie zložky. Narábajte s ním opatrne.



H226 - H314 - H317 - H334 - H412
P210 - P261 - P280
P305+P351+P338 - P302+P352
P333+P313 - P273 - P501

(BG)
опасно

Запалими течност и пари. Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите. Може да причини алергична кожна реакция. Може да причини алергични или астматични симптоми или затруднения в дишането при вдишване. Вреден за водните организми, с дълготраен ефект. Да се пази от топлина. Тютюнопушенето е забранено. Избягвайте вдишване на прах/пушек/газ/дим/изпарения/аерозоли. Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице. ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: Промийте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължавайте да промивате. ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА: Измийте обилно със сапун и вода. При поява на кожно дразнене или обрив на кожата: Потърсете медицински съвет/помощ. Да се избягва изпускане в околната среда. Изхвърлете съдържанието/контейнера в съответствие с местните/регионалните/националните/международните разпоредби.

(CN)
危险

易燃液体和蒸气, 引起严重的皮肤灼伤和眼睛损伤, 可能引起皮肤过敏反应。吸入可能引起过敏或哮喘症状或呼吸困难。对水生生物有害并且有长期持续影响。远离热源/火花/明火/热表面。- 禁止吸烟。- 避免吸入粉尘/烟/气体/烟雾/蒸气/喷雾。戴防护手套/穿防护服/戴防护眼罩/戴防护面具。·如进入眼睛: 用水小心冲洗几分钟。如戴隐形眼镜并可方便地取出, 取出隐形眼镜。继续冲洗。如皮肤沾染: 用大量肥皂和水清洗。·如发生皮肤刺激或皮疹: 求医/就诊。·避免释放到环境中。·按照本地/地区/国家/国际惯例处理内含物/容器。

(CN) Traditional
危險

易燃液體和蒸氣, 引起嚴重的皮膚灼傷和眼睛損傷, 可能引起皮膚過敏性反應。吸入可能引起過敏或哮喘症狀或呼吸困難。對水生生物有害並且有長期持續影響。遠離熱源/火花/明火/熱表面。- 禁止吸煙。- 避免吸入粉塵/煙/氣體/煙霧/蒸氣/噴霧。·戴防護手套/穿防護服/戴防護眼罩/戴防護面具。·如進入眼睛: 用水小心沖洗幾分鐘。·如戴隱形眼鏡並可方便地取出, 取出隱形眼鏡。繼續沖洗。如皮膚沾染: 用大量肥皂和水清洗。·如發生皮膚刺激或皮疹: 求醫/就診。·避免釋放到環境中。·按照本地/地區/國家/國際規例處理內含物/容器。

(CZ)
Nebezpečí

Hořlavá kapalina a páry. Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Může vyvolat alergickou kožní reakci. Při vdechování může vyvolat příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže. Skodlivý pro vodní organismy, s

délhodobými účinky.

Chraňte před teplem/jiskrami/otevřeným plamenem/horkými povrchy. Zákaz kouření. Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdla. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. Zabráňte uvolnění do životního prostředí. Obsah/nádobu likvidujte v souladu s místními/regionálními/národními/mezinárodními předpisy.

(DE)
Gefahr

Flüssigkeit und Dampf entzündbar. Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen. Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Von Hitze/Funken/offener Flamme/heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen. Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Entsorgung des Inhalts / des Behälters gemäß den örtlichen / regionalen / nationalen/ internationalen Vorschriften.

(DK)
Fare

Brandfarlig væske og damp. Forårsager svære forbrændinger af huden og øjenskader. Kan forårsage allergisk hudreaktion. Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding. Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. Holdes væk fra varme/gnister/åben ild/varme overflader. Rygning forbudt. Undgå indånding af pulver/rog/gas/tåge/damp/spray. Bær beskyttelsehandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. VED KONTAKT MED HUDEN: Vask med rigeligt sæbe og vand. Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. Undgå udledning til miljøet. Bortskaffelse af indholdet/beholderen i henhold til de lokale/regionale/nationale/internationale forskrifter.

(EE)
Ettevaatus

Tuleohtlik vedelik ja aur. Põhjustab rasket nahasõõvitust ja silmakahjustusi. Võib põhjustada allergilist nahareaktsiooni. Sissehingamisel võib põhjustada allergia- või astma sümptomeid või hingamisraskusi. Ohtlik veorganismidele, pikaajaline toime. Hoida eemal soojusallikast/sädemetest/leekidest/kuumadest pindadest. Mitte suitsetada. Vältida tolmu/suitsu/gaasi/udu/auru/pihustatud aine sissehingamist. Kanda kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski. SILMA SATTUMISE KORRAL: loputada mitte min jooksul ettevaatlikult veega. Eemaldada kontaktläätsed, kui neid kasutatatakse ja kui neid on kerge eemaldada. Loputada veel kord. NAHALE SATTUMISE KORRAL: pesta rohke vee ja seebiga.

Nahaärituse või _obe korral: pöörduda arsti poole. Vältida sattumist keskkonda. Sisu/konteineri kätlus vastavuses kohalike/regionalsete/rahvuslike/rahvusvaheliste nõuetega.

(EN)

Danger

Flammable liquid and vapour. Causes severe skin burns and eye damage. May cause an allergic skin reaction. May cause allergy or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled. Harmful to aquatic life with long lasting effects. Keep away from heat/sparks/open flames/hot surfaces. No smoking. Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/spray. Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. Avoid release to the environment. Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

(ES)

Peligro

Líquidos y vapores inflamables. Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Mantener alejado de fuentes de calor/chispas/lama abierta/superficies calientes. No fumar. Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. Llevar guantes que aislen del frío/gafas/máscara. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. Evitar su liberación al medio ambiente. Eliminar el contenido o el recipiente conforme a la reglamentación local/regional/nacional/internacional.

(FI)

Vaara

Syttävä neste ja höyry. Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa. Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion. Voi aiheuttaa hengitettynä allergia- tai astmaoireita tai hengitysvaikeuksia. Haitallista vesiliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.

Suojaa lämmöltä/kipinöiltä/avotulelta/kuumilta pinnoilta. Tupakointi kielletty. Vältä pölyn/savun/kaasun/sumun/höyryn/suihkeen hengittämistä. Käytä suojakäsineitä/suojavaateetusta/silmiensuojainta/kasvu suojaainta. JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhdo huolellisesti vedellä usein minuutin ajan. Poista piilolinssit, _edical voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista. JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOLLE: Pese runsaalla vedellä ja saippualla. Jos ilmenee ihoärsytystä tai ihottumaa: Hakeudu lääkäriin. Vältettävä päästämistä ympäristöön. Säilytä säiliö(t) noudattaen paikallisia/alueellisia/kansallisia/kansainvälisiä määräyksiä.

(FR)

Danger

Liquide et vapeurs inflammables. Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Peut provoquer une allergie cutanée. Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation. Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

Tenir à l'écart de la chaleur/des étincelles/des flammes nues/

des surfaces chaudes. Ne pas fumer. Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: laver abondamment à l'eau et au savon. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin. Éviter le rejet dans l'environnement. Éliminer le contenu/récipient conformément à la réglementation locale/régionale/nationale/internationale.

(GR)

Κίνδυνος

Υγρό και ατμοί εύφλεκτα. Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργία ή συμπτώματα άσθματος ή δύσπνοια σε περίπτωση εισπνοής. Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.

Μακριά από θερμότητα/σπινθήρες/γυμνές φλόγες/θερμές επιφάνειες. Μην καπνίζετε. Αποφεύγετε να αναπνέετε σκόνη/αναθυμιάσεις/αέρια/σταγονίδια/ατμούς/εκνεφώματα. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για ταμάτια/πρόσωπο. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλύνετε. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ: Πλύνετε με άφθονο νερό και σαπούνι. Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος ή εμφανιστεί εξάνθημα: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε/επιχειρήστε. Να αποφεύγετε τη λευκόχρωση στο περιβάλλον. Απορρίψτε τα περιεχόμενα/δοχείο σύμφωνα με τους τοπικούς/εθνικούς/διεθνείς κανονισμούς.

(HR)

Opasnost

Zapaljiva tekućina i para. Uzrokuje teške opekline koje i ozljeđe oka. Može izazvati alergijsku reakciju na koži. Ako se udiše može izazvati simptome alergije ili astme ili poteškoće s disanjem Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima. Čuvati odvojeno od topline/iskrre/otvorenog plamena/vrućih površina. – Ne pušiti. Izbjegavati udisanje prašine/dima/plina/magle/pare/aerosola. Nositi zaštitne rukavice/zaštitnu odjevu/zaštitu za oči/zaštitu za lice. U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: operite ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ukoliko ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispiranje. U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM: oprati velikom količinom sapuna i vode. U slučaju nadražaja ili osipa na koži: zatražite savjet/pomoć liječnika. Izbjegavati ispuštanje u okoliš. Odložite sadržaje /spremnike u skladu s lokalnim/regionalnim/nacionalni/međunarodnim odredbama.

(HU)

Veszély

Tűzveszélyes folyadék és gőz. Smarkiai nudegina odaj pažeidžia akis. Allergiás bőreakcióit válthat ki. Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légezőt okozhat. Ártalmas a vízi élővilágra, hosszant tartó károsodást okoz. Hőtől/szikrától/nyílt lángtól/forró felületektől távol tartandó. Tilos a dohányzás. Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/ permet belélegzését. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező. SZEMBE KERÜLÉS esetén: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható.

Az öblítés folytatása. HA BŐRRE KERÜL: Lemosás bő szappanos vízzel. Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijuttatását. Az edény tartalmát / a tartályt a helyi/regionális/nemzeti/nemzetközi szabályozásoknak megfelelően kell hulladékként elhelyezni.

(IT)

Pericolo

Liquido e vapori infiammabili. Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. Può provocare una reazione allergica cutanea. Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato. Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

Tenere lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici riscaldate. Non fumare. Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi min. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. Non disperdere nell'ambiente. Smaltire il prodotto/recipiente in conformità con le disposizioni locali / regionali / nazionali / internazionali.

(JP)

危険

引火性液体及び蒸気。重篤な皮膚の薬傷及び眼の損傷。アレルギー性皮膚反応を起こすおそれ。吸入するとアレルギー。ぜん。ぜん(喘)息又は呼吸困難を起こすおそれ。長期継続的影響によって水生生物に有害。

熱/火花/裸火/高温のもののような着火源から遠ざけること。一禁煙。粉じん/煙/ガス/ミスト/蒸気/スプレーの吸入を避けること。保護手袋/保護衣/保護眼鏡/顔保護面の着用。眼に入った場合: 水で数分間注意深く洗うこと。次にコンタクトレンズを着用していて容易に外せる場合は外すこと。その後もしっかり洗う。皮膚に付着した場合は: 多量の水と石けん(鹸)で洗うこと。皮膚刺激又は発しん(疹)が生じた場合: 医師の診断/手当てを受けること。環境への放出を避けること。現地/地域/国/国際規定に従い内容物/容器の露出。

(KR)

위험

인화성 액체 및 증기. 피부에 심한 화상과 눈에 손상을 일으킬 알레르기성 피부 반응을 일으킬 수 있음. 흡입시 알레르기성 반응, 천식 또는 호흡 곤란을 일으킬 수 있음. 장기적인 영향에 의해 수생생물에 유해함.

열·火花·화염·고열로부터 멀리하십시오 - 금연. (분진·흡가스·미스트·증기·스프레이)의 흡입을 피하십시오. (보호장갑·보호의·보안경·안면보호구)를(을) 착용하십시오. 눈에 묻으면 몇 분간 물로 조심해서 씻으십시오. 가능하면 콘택트렌즈를 제거하십시오. 계속 씻으십시오. 피부에 묻으면 다량의 비누와 물로 씻으십시오. 피부 자극성 또는 홍반이 나타나면 의학적인 조치·조언을 구하십시오. 환경으로 배출하지 마십시오. 현지/지역/국가/국제규정에 따라서 내용물/용기 노출.

(LT)

Pavojinga

Degūs skystis ir garai. Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. Gali sukelti alerginę odos reakciją. Įkvėpus gali sukelti alerginę reakciją, astmos simptomus arba apsunskinti kvėpavimą. Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių/žiežirbų/atviros liepsnos/ karštų paviršių. Nerūkyti. Stengtis neįkvėpti dulkių/dūmų/dujų/rūko/garų/aerozolio. Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos

priemonės. PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. PATEKUS ANT ODO: Nuplauti dideliu kiekiu muilo ir vandens. Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. Saugoti, kad nepatektų į aplinką. Turini/talpa išplinti (išmesti) - šalinti pagal vietines / regionines / nacionalines / tarptautines taisykles.

(NL)

Gevaar

Ontvanger vloeistof en damp. Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel. Kan een allergische huidreactie veroorzaken. Kan bij inademing allergie- of astmasymptomen of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken. Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. Verwijder houden van warmte/vonken/open vuur/hete oppervlakken. Niet roken. Inademing van stof/rook/gas/nevel/damp/sputnevel vermijden. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen. BIJ CONTACT MET DE OGEN: voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten; contactlenzen verwijderen, indien mogelijk; blijven spoelen. BIJ CONTACT MET DE HUID: met veel water en zeep wassen. Bij huidirritatie of uitslag: een arts raadplegen. Voorkom lozing in het milieu. De inhoud en de verpakking verwerken volgens de plaatselijke/regionale/nationale/internationale voorschriften.

(NO)

Fare

Brennbar væske og damp. Forårsaker alvorlige hudforbrenninger og øyeskader. Kan forårsake allergiske hudreaksjoner. Kan forårsake allergi, astmalignende symptomer eller pusteprobemer ved innånding. Skadelig for vannlevende organismer, langtidsvirkning

Holdes adskilt fra varme. Ikke røyk. Unngå innånding av stov/royk/gass/sproydetåke/damp/aerosol. Bruk vernehansker/vermekler/vevbriller/ansiktsskjerm. VED KONTAKT MED ØYNE: Skyll forsiktig med vann i opptil flere minutter. Fjern evt. kontaktlinser såfremt dette er lett mulig. Fortsett skylkingen. VED HUDKONTAKT: Vask med store mengder vann og såpe. Ved hudirritasjon eller -utslett: Kontakt / tilkall lege. Unngå utslipp til miljøet. Innholdet / emballasjen skal avhendes i henhold til de lokale / regionale / nasjonale / internasjonale forskrifter.

(PL)

Niebezpieczeństwo

Łatwopalna ciecz i pary. Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. Może powodować reakcję alergiczną skóry. Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania. Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

Przechowywać z dala od źródeł ciepła/iskrzenia/otwartego ognia/gorących powierzchni. Palenie wzbronione. Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody z mydłem. W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. Unikać uwolnienia do środowiska. Zawartość / pojemnik usuwać zgodnie z przepisami miejscowymi / regionalnymi / narodowymi / międzynarodowymi.

(PT)**Perigo**

Líquido e vapor inflamáveis. Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. Pode provocar uma reacção alérgica cutânea. Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

Manter afastado do calor/da fumaça/da chama aberta/das superfícies quentes. Não fumar. Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial. SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. Evitar a libertação para o ambiente. Eliminar o conteúdo/recipiente de acordo com a legislação local/regional/nacional/internacional.

(RO)**Pericol**

Lichid și vapori inflamabili. Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor. Poate provoca o reacție alergică a pielii. Poate provoca simptome de alergii sau astm sau dificultăți de respirație în caz de inhalare. Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.

A se păstra departe de surse de căldură/scântei/flăcări deschise/suprafețe încinse. Fumatul interzis. Evitați să inspirați praful/fumul/gazul/ceața/vaporii/spray-ul. Purtați mănuși de protecție/imbrăcămintă de protecție/echipament de protecție a ochilor/ chipament de protecție a feței. ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți. ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA: spălați cu multă apă și săpun. În caz de iritare a pielii sau de erupție cutanată: consultați medicul. Evitați dispersarea în mediu. Aruncați conținutul/containerul în acord cu regulamentele locale/regionale/naționale/internaționale.

(SE)**Fara**

Brandfarlig vätska och ånga. Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. Kan orsaka allergisk hudreaktion. Kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andningssvårigheter vid inandning. Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.

Får inte utsättas för värme/gnistor/öppen låga/heta ytor. Rökning förbjuden. Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket tvål och vatten. Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. Undvik utsläpp till miljön. Innehållet / behållaren avfallshanteras enligt lokala / regionala / nationella / internationella föreskrifter.

(S)**Nevarno**

Vnetljivo tekočina in hlapi. Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči. Lahko povzročijo alergijski odziv kože. Lahko povzročijo simptome alergije ali astme ali težave z dihanjem pri vdihavanju. Škodljivo za vodne organizme, z dolgotrajnimi učinki.

Hraniti ločeno od vročine/isker/odprtega ognja/vročih površin. Kajenje prepovedano. Ne vdihavati prahu/dima/plina/meglvice/hlapov/razpršila. Nositi zaščitne rokavice/

zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz. PRI STIKU Z OČMI: previdno izpirajte z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem. PRI STIKU S KOŽO: umiti z veliko mila in vode. Če nastopi draženje kože ali se pojavi izpuščaj: poiščite zdravniško pomoč/oskrbo. Preprečiti sproščanje v okolje. Vsebinsko/vsebnik odstranite v skladu z lokalnimi/regionalnimi/narodnimi/mednarodnimi predpisi.

(SK)**Nebezpečnostvo**

Horľavá kvapalina a pary. Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor. Může vyvolať alergickou kožnou reakci. Při vdýchnutí může vyvolat alergiu alebo príznaky astmy, alebo dýchacie ťažkosti. Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

Uchovávať mimo dosahu tepla/iskier/otvoreného ohňa/horúcich povrchov. Nefajčite. Zabraňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmlu/pár/aerosólov. Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekolko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. PRI KONTAKTE S POKOŽKOU: Umyte veľkým množstvom vody a mydlá. Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa vytvoria vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. Zabraňte uvoľneniu do životného prostredia. Zneškodnenie obsahu/obalu v súlade s miestnymi/oblastnými/národnými/medzinárodnými nariadeniami.

BIO-RAD è un marchio di Bio-Rad Laboratories, Inc.
TESEE, PRECESS 24 and PRECESS 48 sono marchi di Bio-Rad Europe, GmbH in alcune giurisdizioni.
Tutti i marchi qui utilizzati sono di proprietà del rispettivo proprietario.

Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette - France

Tel.: +33 (0)1 47 95 60 00

Fax: +33 (0)1 47 41 91 33

www.bio-rad.com



2020/06