sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 927 030-0 | F: +49 30 927 030-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Testseren Anti-Coli

für den Objektträgeragglutinationstest

INFORMATION ZUM GEBRAUCH DURCH FACHPERSONAL

de

Zweckbestimmung
Die Testseren dienen der Prüfung auf Vorhandensein typenspezifischer Antigene bei *Escherichia coli*-Isolaten von **Ferkeln.** Sie dienen zum Nachweis von Antigenen an der Zelloberfläche der *E. coli* Isolate (O-Antigene, K-Antigene und F-Antigene) mittels der Objektträgeragglutination (Serotypisierung).

Testprinzip
Besitzt der *E. coli*-Stamm ein dem Erfassungsbereich des Testserums entsprechendes Antigen bindet dieses beim Mischen den spezifischen Antikörper. Infolge der Antigen-Antikörper-Reaktion wird der Stamm deutlich sichtbar agglutiniert.

Zusammensetzung
Die Testseren sind absorbierte Immunseren von Kaninchen.
Konservierungsmittel: Natriumazid (NaN_3) 0,9 mg/ml

Verfügbare Produkte
Polyspezifisch: Anti-Coli P enthält Antikörper gegen alle unter mono-spezifisch genannten *E. coli*-Typen und das Fimbrienantigen F4 (K 88).
Monospezifisch: Anti-Coli F 4 (K 88); Anti-Coli O 8:K 87; Anti-Coli O 138:K 81; Anti-Coli O 139:K 82; Anti-Coli O 141:K 85; Anti-Coli O 147:K 89; Anti-Coli O 149:K 91

Darreichungsform, Haltbarkeit und Lagerungsbedingungen
Die Testseren liegen in flüssiger, gebrauchsfertiger Form vor.
Sie sind original verschlossen und nach erstmaligem Öffnen bei Lagerung bei 2...8 °C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Datum verwendbar. Nach Benutzung sind die Fläschchen wieder gut zu verschließen.
Gelegentlich können nicht mikrobiell verursachte Trübungen in den Testseren auftreten. Sie beeinträchtigen die Wirksamkeit des Serums nicht und können durch Zentrifugation oder Filtration beseitigt werden.
Vor Gebrauch müssen die Testseren auf Raumtemperatur (18...26 °C) temperiert werden.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen
Bei den Testseren handelt es sich um biologisches Material (Kaninchenserum); es sollte deshalb als potentiell infektiös angesehen und entsprechend gehandhabt werden.
Wegen des Gehalts an Natriumazid Kontakt mit Haut und Schleimhäuten vermeiden; gegebenenfalls mit reichlich Wasser spülen.
Da bei der Durchführung der Objektträgeragglutination mit nativem Erregermaterial gearbeitet wird, müssen die notwendigen Arbeitsschutzmaßnahmen eingehalten werden (Infektionsgefahr).

Nicht mitgelieferte Arbeitsmaterialien und Ausrüstungen
Aqua dest., physiologische Kochsalzlösung (NaCl), Glasobjektträger, Rührstäbchen, Abwurfbehälter für infektiöses Material.

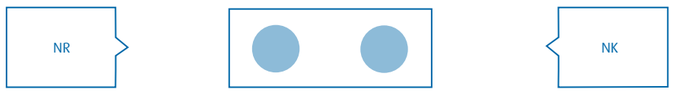
Untersuchungsmaterial und Anzuchtbedingungen
Das Untersuchungsmaterial wird auf nicht selektiven Nährböden unter Zusatz von Schafblut (50 ml /1 l) wie z.B. Columbia-Blut-Agar ausgestrichen und 16 - 20 Stunden bei 35...37 °C inkubiert. **Hinweis: Das F 4 (K 88) Antigen findet sich in der Regel bei hämolysierenden Typen.**
Die Objektträgeragglutination darf nur mit Reinkulturen (bevorzugt Subkulturen) vorgenommen werden.

Objektträgeragglutination (Durchführung)
Von verdächtigen *E. coli*-Kolonien, wird etwas Bakterienmasse auf einem Objektträger in je einen Tropfen Testserum (ca. 25 µl) zu einer homogenen, leicht milchigen Suspension eingerieben. Der Objektträger sollte sich auf einer dunklen Unterlage befinden.
Der Objektträger wird vor eine Lichtquelle gegen einen schwarzen Hintergrund gehalten, geschwenkt und das Ergebnis mit bloßem Auge abgelesen.
Zum Ausschluss von Spontanagglutinationen ist eine Negativkontrolle mit 0,9 %iger NaCl-Lösung anstelle des Testserums mitzuführen.

Bewertung der Ergebnisse
Eine Auswertung ist nur möglich, wenn die Negativkontrolle (NK) milchig trüb bleibt.
Positiv: Sichtbare Agglutination nach 1 bis 20 Schwenkungen. Bei stark positiver Reaktion (PR) tritt eine Agglutination (grob- oder feinflockig) bereits beim Einreiben der Bakterienmasse auf, bei schwach positivem Ergebnis erst nach 10 bis 20 Schwenkungen.



Negativ: Eine milchig-trüb bleibende Suspension oder eine nach mehr als 20 Schwenkungen auftretende Reaktion ist negativ (NR).



Ablauf der Prüfung:
Zunächst erfolgt eine Screening-Agglutination mit dem polyspezifischen Testserum Anti-Coli P. Fällt die Reaktion mit dem polyspezifischen Testserum positiv aus, muss das Isolat mit den monospezifischen Testseren weitertypisiert werden.
Fimbriennachweis: Anti-Coli F 4 (K 88);
Nachweis möglicher O:K-Typen: Anti-Coli O 8:K 87; Anti-Coli O 138:K 81; Anti-Coli O 139:K 82; Anti-Coli O 141:K 85, Anti-Coli O 147:K 89, Anti-Coli O 149:K 91
Isolate, die mit dem polyspezifischen Antiserum, gegebenfalls mit dem monospezifischen Antiserum Anti-Coli F 4 (K 88), aber mit keinem der monospezifischen O:K-Antiseren reagieren, sind grundsätzlich zwar typisierbar, zeigen aber eine Antigenausprägung, die von den geläufigen abweicht und damit nicht nachweisbar ist.

Qualitätssicherung bei der Testdurchführung
Für die Qualitätskontrolle des serologischen Nachweises mittels Objektträgeragglutination ist es wichtig, dass die dazu verwendeten Stämme ihre Antigene an der Zelloberfläche gut exprimieren. Es empfiehlt sich daher, Stämme aus Ringversuchen oder extern charakterisierte Feldstämme definierter Herkunft zur Qualitätskontrolle einzusetzen.

Grenzen der Methode
Die Testseren reagieren mit *E. coli*-Stämmen, die Antigene der deklarierten Spezifität enthalten.
Aufgrund von Antigenverwandtschaften können Kreuzreaktionen mit anderen *E. coli*-Antigenen und anderen *Enterobacteriaceae* auftreten.

Erklärung der benutzten Symbole

LOT Chargennummer (Chargenbezeichnung)
REF Bestellnummer
Verwendbar bis JJJJ-MM (MM = Monatsende)
Temperaturbegrenzung
Gebrauchsanweisung beachten

Datum der Fassung: 01/11/2017

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 927 030-0 | F: +49 30 927 030-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Sérums d'essai Anti-Coli

pour le test d'agglutination sur lame

INFORMATION À L'USAGE DES PROFESSIONNELS

fr

Usage prévu
Les sérums d'essai servent à contrôler la présence d'antigènes de types spécifiques dans des isolats d'Escherichia coli de **porcelets**. Ils servent à la détection d'antigènes sur la surface cellulaire des isolats d'E. coli (antigènes **O**, antigènes K et antigènes F) au moyen de l'agglutination sur lame (sérotypage).

Principe de l'essai
Si la souche d'E. coli possède un antigène correspondant à la plage de détection du sérum d'essai, celui-ci se lie à l'anticorps spécifique lors du mélange. En conséquence de la réaction de l'antigène et de l'anticorps, on constate que la souche est nettement agglutinée.

Composition
Les sérums d'essai sont des immunosérums absorbés de lapins.
Conservateur : azoture de sodium (NaN_3) 0,9 mg/ml

Produits disponibles
Polyspécifiques : Anti-Coli P contient des anticorps contre tous les types d'E. coli monospécifiques cités et l'antigène fimbrial F 4 (K 88).
Monospécifiques : Anti-Coli F 4 (K 88); Anti-Coli O 8:K 87; Anti-Coli O 138:K 81; Anti-Coli O 139:K 82; Anti-Coli O 141:K 85; Anti-Coli O 147:K 89; Anti-Coli O 149:K 91

Présentation, conservation et conditions de stockage
Les sérums d'essai se présentent sous forme liquide, prête à l'emploi. S'ils sont conservés dans leur emballage d'origine puis une fois ouverts, conservés à une température de 2... 8 °C, ils peuvent être utilisés jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette. Après utilisation, les flacons doivent être bien refermés.
Des turbidités d'origine non microbienne peuvent apparaître occasionnellement dans les sérums d'essai. Elles n'affectent pas l'efficacité du sérum et peuvent être éliminées par centrifugation ou filtration.
Avant l'emploi, le sérum d'essai doit être amené à la tempéra-ture ambiante (18...26°C).

Mises en garde et précautions d'emploi
Les sérums d'essai constituent un matériau biologique (sérum de lapin); c'est pourquoi il devrait être considéré comme potentiellement infectieux et être manipulé en conséquence.
A cause de la teneur en azoture de sodium, il faut éviter le contact avec la peau et les muqueuses et le cas échéant, rincer abondamment à l'eau.
Puisque l'on travaille avec des matériaux pathogènes natifs lors de la réalisation de l'agglutination sur lame, il faut respecter les mesures de sécurité au travail (risque d'infection).

Matériaux de travail et équipements non fournis
Eau distillée, solution physiologique de sel de cuisine (NaCl), lame de verre, agitateur, collecteur de déchets pour les matériaux infectieux.

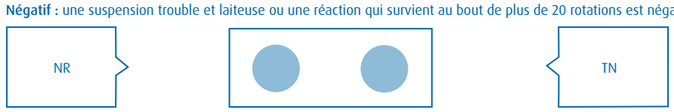
Matériau d'essai et conditions de culture
On étale le matériau d'essai sur des milieux de culture non sélectifs en ajoutant du sang de mouton (50 ml/1 l) comme par ex. la gélose au sang Columbia et on le laisse incuber durant 16 à 20 heures à 35...37 °C. **Remarque : l'antigène F 4 (K 88) se trouve en règle générale dans les types hémolytiques.**
L'agglutination sur lame ne peut être effectuée qu'avec des cultures pures (de préférence des sous-cultures).

Agglutination sur lame (réalisation)
On enduit un peu de substance bactérienne issue des colonies suspectées d'être des E. coli sur une lame dans respectivement une goutte de sérum d'essai (environ 25 µl) de manière à obtenir une suspension homogène, légèrement laiteuse. La lame devrait se trouver sur une base sombre.
On maintient la lame devant une source de lumière, contre un fond noir, on la fait tourner et on lit le résultat à l'œil nu.
Pour exclure des agglutinations spontanées, il faut réaliser un témoin négatif avec une solution de NaCl à 0,9 % au lieu du sérum d'essai.

Evaluation des résultats
Une évaluation n'est possible que si le témoin négatif (TN) reste trouble et laiteux.
Positif : agglutination visible au bout de 1 à 20 rotations. En cas de réaction fortement positive (RP), on constate une agglutination (de flocons grossiers ou fins) dès la substance bactérienne enduite, en cas de résultat faiblement positif, uniquement au bout de 10 à 20 rotations.



Négatif : une suspension trouble et laiteuse ou une réaction qui survient au bout de plus de 20 rotations est négative (RN).



Déroulement du contrôle
On réalise d'abord une agglutination de dépistage avec le sérum d'essai polyspécifique Anti-Coli P. S'il n'y a pas de réaction positive avec le sérum d'essai polyspécifique, l'isolat doit être encore typé avec les sérums d'essai monospécifiques.
Détection de l'antigène fimbrial: Anti-Coli F 4 (K 88);
Détection d'éventuels types O:K: Anti-Coli O 8:K 87; Anti-Coli O 138:K 81; Anti-Coli O 139:K 82; Anti-Coli O 141:K 85, Anti-Coli O 147:K 89, Anti-Coli O 149:K 91
Les isolats qui réagissent avec l'antisérum polyspécifique, éventuellement avec l'antisérum monospécifique Anti-Coli F 4 (K 88) mais avec aucun des antisérums monospécifiques O:K peuvent en principe être typés mais ils montrent un profil d'antigène qui se distingue des profils courants et qui n'est donc pas détectable.

Assurance qualité lors de la réalisation du test
Pour le contrôle qualité de la détection sérologique à l'aide de l'agglutination sur lame, il est important que les souches utilisées expriment bien leurs antigènes à la surface de la cellule. Pour effectuer le contrôle qualité, il est donc recommandé d'utiliser des souches issues de tests interlaboratoires ou des souches sauvages d'origine définie entièrement caractérisées en externe.

Limite de la méthode
Les sérums d'essai réagissent avec des souches d'*E. coli* qui contiennent des antigènes de la spécificité déclarée.
En raison d'antigènes apparentés, des réactions croisées peuvent apparaître avec d'autres antigènes d'*E. coli* et d'autres *Enterobacteriaceae*.

Explication des symboles utilisés

LOT Code du lot
REF Référence du catalogue
Utiliser jusque AAAA-MM (MM = fin du mois)
Limites de température
Consulter les instructions d'utilisation

Date de la présente version: 01/11/2017

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | www.sifin.de

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 927 030-0 | F: +49 30 927 030-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Test sera Anti-Coli

for the slide agglutination test

INFORMATION FOR PROFESSIONAL USE

en

Intended use
The test sera are used to test for the presence of typespecific antigens with *Escherichia* coli isolates from **piglets.** They are used as evidence of antigens to the cell surface of the *E. coli* isolate (O antigen, K antigen and F antigen) using slide agglutination (serotyping).

Principle of the test
If the *E. coli* strain possesses an antigen covered by the test serum, this antigen becomes bound when mixed with the specific antibody. The antigen-antibody reaction results in clearly visible agglutination of the strain.

Composition
The test sera are absorbed sera from immunised rabbits.
Preservative: Sodium azide (NaN_3) 0.9 mg/ml

Available products
Polyspecific: Anti-Coli P contains antibodies directed against all *E. coli* types listed as monospecific and the fimbrial antigen F4 (K 88).
Monospecific: Anti-Coli F 4 (K 88); Anti-Coli O 8:K 87; Anti-Coli O 138:K 81; Anti-Coli O 139:K 82; Anti-Coli O 141:K 85; Anti-Coli O 147:K 89; Anti-Coli O 149:K 91

Form in which product is supplied, shelf life and storage
The test reagents are provided in liquid form ready to use. If stored unopened at 2...8°C, the test sera may be used up to the date given on the label. After use, the bottle must be properly closed.
The test reagents may sometimes show turbidity not caused by microbes. Such turbidity does not impair effectivity and the sera can be clarified by centrifugation or filtration.
Prior to use, the test reagents must be warmed up to room tem-perature (18...26 °C).

Warnings and precautions
The test sera are biological materials (rabbit sera) which should be treated as potentially infectious and handled accordingly. As this product contains sodium azide, contact with the skin and mucous membranes must be avoided. In case of contact, rinse with plenty of water.
Since the performance of the slide agglutination test involves working with native pathogenic materials, all necessary work protection procedures must be adhered to (risk of infection)!

Materials and equipment not supplied
Distilled water, physiological saline (NaCl), glass slides, stirring rods, disposal containers for infectious material.

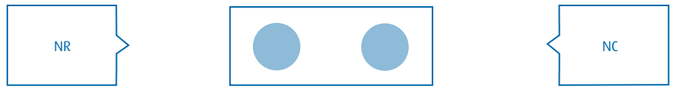
Test material and culture conditions
The test material is streaked onto non-selective culture media, such as Columbia Blood Agar, with the addition of sheep blood (50 ml /1 l) and is incubated for 16 - 20 hours at 35...37 °C. **Note: The F 4 (K 88) antigen is normally found in haemolytic types.**
The slide agglutination may only be performed with pure cultures (subcultures preferred).

Slide agglutination (procedure)
Transfer small amounts of bacterial mass from suspicious *E. coli* colonies onto a slide and mix each with one drop of the test serum (ca. 25 µl) so that a homogenous, slightly milky suspension results. Ensure that the slide is positioned on a dark surface.
The result is read with the naked eye by holding the slide in front of a light source against a black background and rocking it (tilting it back and forth).
To control for spontaneous agglutination, a negative control must be performed in parallel using 0.9 % NaCl solution in place of the test sera.

Interpretation of the results
The test can only be evaluated if the negative control (NC) remains milky-opaque.
Positive: visible agglutination after the sample has been tilted back and forth less than 20 times. In a strongly positive reaction (PR), agglutination (coarsely or finely flocculent) appears as soon as the bacterial mass is mixed in. In a weakly positive result, agglutination only appears after the slide has been tilted back and forth 10-20 times.



Negative: if the suspension remains milky-opaque or the reaction begins to occur only after the slide has been tilted back and forth more than 20 times, the result is negative (NR).



Test procedure
First carry out a screening agglutination with the polyspecific test serum Anti-Coli P. If the reaction with the polyspecific test serum is positive, the isolate must then be typed with the monospecific test sera.
Evidence of fimbrial antigen: Anti-Coli F 4 (K 88);
Evidence of possible O-K types: Anti-Coli O 8:K 87; Anti-Coli O 138:K 81; Anti-Coli O 139:K 82; Anti-Coli O 141:K 85, Anti-Coli O 147:K 89, Anti-Coli O 149:K 91
Isolates that react with the polyspecific antiserum or with the monospecific antiserum Anti-Coli F 4 (K 88) but not with any of the monospecific O:K antisera can in principle by typed but display an antigen profile that deviates from the standard and which cannot therefore be verified.

Quality assurance during the testing procedure
For the quality control of serological determination by slide agglutination test, the good expression of the strain's cellsurface antigen is important. The use of strains from interlaboratory tests, or field strains of defined origin that have been characterised by an external laboratory, is therefore recommended for quality control.

Limitations of the method
The test reagents react with *E. coli* strains, which contain antigens of the specificity named in the declaration.
In exceptional cases, there is the possibility of crossreactions with other *E. coli* antigens or other *Enterobacteriaceae* due to related antigens.

Explanation of the symbols used

LOT Batch code (Lot)
REF Catalogue number
Use by YYYY-MM (MM = end of month)
Temperature limitation
Consult instructions for use

Date of revision: 01/11/2017

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | www.sifin.de