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

Sieri di prova Anti-Coli

per test di agglutinazione su vetrino

INFORMAZIONI PER L'USO PROFESSIONALE

it

Uso previsto
I sieri di prova sono utilizzati per verificare la presenza di antigeni tipo-specifici in isolati di *Escherichia coli* di **maialini.** Tali sieri servono a dimostrare la presenza di antigeni sulla superficie cellulare dell'isolato di *E. coli* (antigene O, antigene K e antigene F) mediante agglutinazione su vetrino (sierotipizzazione).

Principio del test
Se il ceppo di *E. coli* possiede un antigene incluso nel campo d'azione del siero di prova, questo antigene si lega con l'anticorpo specifico all'atto della miscelazione. La reazione antigene-anticorpo dà luogo all'agglutinazione chiaramente visibile del ceppo.

Composizione
I sieri di prova sono sieri adsorbiti da conigli immunizzati. Conservante: azoturo di sodio (NaN_3) 0,9 mg/ml

Prodotti disponibili
Polispecifici: Anti-Coli P contiene anticorpi contro tutti i tipi di *E. coli* elencati come monospecifici e l'antigene fimbriale F4 (K 88).
Monospecifici: 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

Forma di somministrazione, periodo di validità e conservazione
I sieri di prova sono disponibili in forma liquida e pronti all'uso. Se conservati non aperti a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C, i sieri di prova possono essere utilizzati fino alla data indicata sull'etichetta. Dopo l'uso, il flacone deve essere opportunamente richiuso.
Talvolta i sieri di prova possono presentare una torbidità non di origine microbica. Tale torbidità non ne compromette l'efficacia e i sieri possono essere chiarificati mediante centrifugazione o filtrazione.
Prima dell'uso, i sieri di prova vanno portati a temperatura ambiente (18...26°C).

Avvertenze e precauzioni
I sieri di prova sono composti da materiale biologico (sieri di conigli) che va trattato come potenzialmente infetto e dunque deve essere maneggiato di conseguenza.
Poiché questo prodotto contiene azoturo di sodio, occorre evitare il contatto con la cute e con le membrane mucose. In caso di contatto, sciacquare con abbondante acqua.
Poiché l'esecuzione del test di agglutinazione su vetrino implica l'uso di materiali patogeni naturali, occorre adottare tutte le necessarie procedure di protezione durante il test (rischio d'infezione)!

Materiali e attrezzatura non in dotazione
Acqua distillata, soluzione salina fisiologica (NaCl), vetrini, bacchette per agitazione, contenitori per lo smaltimento di materiale infetto.

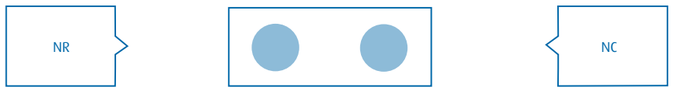
Materiale di prova e condizioni di coltura
Il materiale di prova viene steso su mezzi di coltura non selettivi, come l'Agar sangue Columbia, con l'aggiunta di sangue di pecora (50 ml /1 l) e viene incubato per 16-20 ore a 35-37 °C. **N.B.: L'antigene F 4 (K 88) viene rilevato di norma nei tipi emolitici.**
L'agglutinazione su vetrino può essere eseguita solo con colture pure (preferibilmente sottocolture).

Agglutinazione su vetrino (procedura)
Trasferire su un vetrino piccoli quantitativi di massa batterica di colonie sospette di E. coli e miscelare ciascun quantitativo con una goccia di siero di prova (circa 25 µl), in modo tale da ottenere una sospensione omogenea e lievemente lattiginosa. Accertarsi che il vetrino sia posizionato su una superficie scura.
Il risultato viene letto a occhio nudo tenendo il vetrino davanti a una fonte luminosa su uno sfondo nero e facendolo oscillare (inclinandolo in avanti e all'indietro).
Per verificare ed escludere eventuali agglutinazioni spontanee, è necessario eseguire un controllo negativo in parallelo utilizzando la soluzione NaCl allo 0,9 % al posto dei sieri di prova.

Valutazione dei risultati
Il test può essere valutato solo se il controllo negativo (NC) resta lattiginoso opaco.
Risultato positivo: agglutinazione visibile dopo che il campione è stato inclinato in avanti e all'indietro meno di 20 volte. In caso di reazione fortemente positiva (PR), l'agglutinazione (di aspetto fioccoso grossolano o fine) compare appena viene inserita e miscelata la massa batterica. In caso di risultato debolmente positivo, l'agglutinazione appare solo dopo che il vetrino è stato inclinato in avanti e all'indietro da 10 a 20 volte.



Risultato negativo: se la sospensione resta lattiginosa opaca o la reazione inizia solo dopo che il vetrino è stato inclinato in avanti e all'indietro per più di 20 volte, il risultato è negativo (NR).



Procedura
Per prima cosa eseguire un'agglutinazione di rilevamento (screening) con il siero di prova polispecifico Anti-Coli P. Se la reazione con il siero di prova polispecifico è positiva, l'isolato deve poi essere tipizzato con i sieri di prova monospecifici.
Evidenza dell'antigene fimbriale: Anti-Coli F 4 (K 88):
Evidenza di possibili tipi 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
In linea di principio, gli isolati che reagiscono con l'antisiero polispecifico o con l'antisiero monospecifico Anti-Coli F 4 (K 88), ma che non reagiscono con alcun antisiero monospecifico O-K possono essere tipizzati, ma mostrano un profilo di antigene che si discosta da quelli standard e che dunque non è verificabile.

Garanzia di qualità nell'esecuzione delle prove
Ai fini del controllo della qualità della prova sierologica mediante agglutinazione su vetrino, è importante che i ceppi utilizzati esprimano bene i propri antigeni sulla superficie cellulare. Pertanto si consiglia di utilizzare per il controllo di qualità ceppi provenienti da Round Robin Test (prove interlaboratorio) oppure ceppi di campo caratterizzati esternamente di origine definita.

Limitazioni del metodo
I reagenti di prova reagiscono con i ceppi di *E. coli* che contengono antigeni aventi la specificità dichiarata.
In casi eccezionali, è possibile che si verifichino reazioni crociate con altri antigeni di *E. coli* o altre *Enterobacteriaceae* causate da antigeni correlati.

Spiegazione dei simboli utilizzati

LOT Codice del lotto
REF Numero catalogo
Utilizzare entro il AAAA-MM (MM = fine del mese)
Limite di temperatura
Rispettare le istruzioni per l'uso

Data di revisione: 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

Anti-Coli tesztszérumok

tárgylemez-agglutinációs próbához

PROFESSZIONÁLIS ALKALMAZÁSI TÁJÉKOZTATÓ

hu

Felhasználás
A tesztszérumok **malacokból** származó *Escherichia coli* izolátumok típusspecifikus antigénjeinek jelenlétnek ellenőrzésére használhatók. Az *E. coli* izolátumok sejtfelületi antigénjeinek (O antigén, K antigén és F antigén) meghatározására alkalmasak tárgylemez-agglutinációs módszerrel (szerotipizálás).

A próba elve
Ha az *E. coli* törzs rendelkezik a tesztszérumnak megfelelő antigénnel, akkor ez az antigén a specifikus antitesttel keverve megkötődik. Az antigén-antitest reakció eredménye a törzs jól látható agglutinációja.

Összetétel
A tesztszérumok immunizált nyúlból nyert kimerített szérumok. Tartósítószer: nátrium-azid (NaN_3), 0,9 mg/ml.

Rendelkezésre álló termékek
Polispecifikus: Az Anti-Coli P tartalmazza valamennyi felsorolt *E. coli* típus elleni monospecifikus és az F4 fimbriális antigénnel (K88) szembeni antitesteket.
Monospecifikus: 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

Kiszerelési forma, eltarthatóság és tárolás
A tesztszérumok folyékony, használatra kész formájúak. Felbontatlanul, 2-8 °C-on tárolva a tesztszérumok a címkén megadott dátumig tarthatók el. Használat után a palackot megfelelően le kell zárni.
A tesztszérumokban esetenként nem mikrobiális eredetű zavarosság mutatkozhat. Ez a zavarosság nem rontja a szérumok hatékonyságát, és centrifugálással vagy szűréssel megszüntethető.
Használat előtt a tesztreagenst szobahőmérsékletre (18...26 °C) kell temperálni.

Figyelmeztetések és óvintézkedések
A tesztszérumok biológiai eredetű anyagok (nyúlszérumok), amelyek potenciálisan fertőzőnek tekintendők, és ennek megfelelően kezelendők.
Tekintve, hogy a termék nátrium-azidot tartalmaz, a bőrrel és nyálkahártyával való érintkezését kerülni kell. Ha mégis a bőrre vagy nyálkahártyára kerül, bő vízzel kell lemosni.
Mivel a tárgylemez-agglutinációs próba élő patogén anyagokkal végzett tevékenységet is tartalmaz, minden szükséges munkavédelmi eljárást be kell tartani (fertőzésveszély)!

Nem szállított anyagok és eszközök
Desztillált víz, fiziológiás sóoldat (NaCl), üveg tárgylemez, keverőpálca, fertőző anyag kezelésére szolgáló tárolóedény.

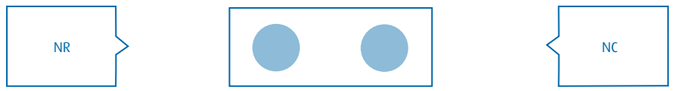
Vizsgálati anyag és tenyésztési feltételek
A vizsgálati anyagot nem szelektív táptalajra, például birkavért tartalmazó (50 ml /1 l) Columbia véres agarra szélesztjük, és 16-20 óráig inkubáljuk 35-37 °C-on. **Megjegyzés: Az F 4 (K 88) antigén általában a hemolitikus típusokban fordul elő. A tárgylemez-agglutináció csak színtenyészeteken végezhető (lehetőleg szubkultúrában).**

Tárgylemez-agglutináció (eljárás)
Vigyünk át kis mennyiségű baktériumtömeget a gyanús *E. coli* telepekből egy tárgylemezre, és mindegyiket keverjük össze egy csepp tesztszérummal (kb. 25 µl) úgy, hogy homogén, kissé tejszerű szuszpenziót kapjunk. A tárgylemezt feltétlenül helyezzük sötét felületre.
Az eredmény leolvasása szabad szemmel történik úgy, hogy a tárgylemezt fekete háttérben fényforrás felé tartjuk, és előre-hátra döntve mozgatjuk.
A spontán agglutináció kiszűrésére negatív kontroll vizsgálatot is kell végezni a tesztszérumok helyett 0,9 %-os NaCl oldattal.

Az eredmények kiértékelése
A próba csak akkor értékelhető, ha a negatív kontroll (NC) tejszerűen áttetsző marad.
Pozitív: szemmel látható agglutináció, ha a mintát kevesebb, mint 20 alkalommal előre-hátra billentjük. Kifejezett pozitív reakció (PR) esetén az agglutináció (durva vagy finom pelyhesedés) azonnal megjelenik, amikor a baktériumtömeget bekeverjük. Gyenge pozitív reakció esetén az agglutináció csak akkor jelentkezik, ha a tárgylemezt 10-20-szor előre-hátra billentjük.



Negatív: ha a szuszpenzió tejszerűen áttetsző marad, vagy a reakció csak azután kezd fellépni, ha már több mint 20 alkalommal előre-hátra billentettük a tárgylemezt, az eredmény negatív (NR).



Vizsgálati eljárás
Először végezzünk szűrő agglutinációs próbát a polispecifikus Anti-Coli P tesztszérummal. Ha a polispecifikus tesztszérum reakciója pozitív, az izolátumot tipizálni kell a monospecifikus tesztszérumokkal.
Fimbriális antigén kimutatása: Anti-coli F 4 (K 88);
Lehetséges O-K típusok kimutatása: 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
Azok az izolátumok, amelyek reakciót adnak a polispecifikus antiszérummal vagy a monospecifikus Anti-Coli F4 (K88) antiszérummal, de egyik monospecifikus O:K antiszérummal sem, elvileg tipizálhatók, de a gyakran előforduló antigén-profiltól eltérő profilt mutatnak, ezért nem meghatározhatóak.

Minőségbiztosítás a teszt elvégzésekor
A szerológiai kimutatás tárgylemezes agglutináció útján történő minőségellenőrzéséhez fontos, hogy az ehhez alkalmazott törzsek antigénjei a sejtfelületen jól expresszálódjanak. Ezért ajánlatos körvizsgálatokból származó törzseket vagy extern jellemzett, meghatározott eredetű környezeti törzseket alkalmazni a minőségellenőrzéshez.

A módszer korlátai
A tesztszérumok olyan *E. coli* törzsekkel lépnek reakcióba, amelyek a nyilatkozatban megnevezett specificitású antigéneket tartalmazzák.
Az antigénrokonság miatt lehetséges keresztreakció más *E. coli* antigénekkel vagy más *Enterobacter* törzsekkel is.

Az alkalmazott jelek magyarázata

LOT Sarzsszám
REF Rendelési szám
Felhasználható -ig éééé-hh (hh = hónap vége)
Hőmérséklettartomány
Tartsa be a Használati utasítást

A verzió dátuma: 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

Тест-сыворотки Anti-Coli

для реакции агглютинации на предметном стекле

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

ru

Назначение
Тест-сыворотки предназначены для обнаружения типо-специфических антигенов в изолятах *Escherichia coli,* полученных от **поросят**. Они применяются для под-тверждения присутствия антигенов клеточной стенки *E. coli* (О-антиген, К-антиген и F-антиген) в изоляте ме-тодом агглютинации на предметном стекле.

Принципы исследования
При наличии у штамма *E. coli* антигена, способного вступать в реакцию с тест-сывороткой, происходит связывание этого антигена со специфическим антителом при их смешивании. В результате реакции антиген-антитело наблюдается четко видимая агглютинация микроорганизмов.

Состав
Данные тест-сыворотки представляют собой абсорби-рованные сыворотки, полученные от иммунизированных кроликов. Консервант: натрия азид (NaN_3) 0,9 мг/мл

Выпускаемые продукты
Полиспецифические: Anti-Coli P содержит антитела против всех типов *E. coli,* перечисленных в пункте для моноспецифических продуктов, и фимбриального антигена F4 (K88).
Моноспецифические: 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

Форма выпуска, срок годности и хранение
Тест-сыворотки находятся в жидкой форме и готовы к применению. При хранении в запечатанном виде при температуре 2...8 °C тест-сыворотки можно использо-вать до даты, указанной на этикетке. После применения следует надлежащим образом закрывать флакон.
Иногда в тест-сыворотках можно обнаружить помутне-ние, не связанное с микробным загрязнением. Помутнение не влияет на эффективность, и для отделения от примесей сыворотки можно центрифугировать или отфильтровать. Перед применением тест-сыворотки следует привести к комнатной температуре (18...26 °C).

Предупреждения и меры предосторожности
Тест-сыворотки являются биологическим материалом (сыворотки кроликов), и с ними следует обращаться надлежащим образом как с потенциально инфекцион-ным материалом.
В связи с содержанием азида натрия следует избегать контакта тест-сыворотки с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта промойте пораженные области большим количеством воды.
Так как проведение реакции агглютинации на предмет-ном стекле сопряжено с использованием нативного па-тогенного материала, следует соблюдать все необхо-димые правила техники безопасности на рабочем месте (риск инфицирования)!

Материалы и оборудование, не входящие в ком-плект поставки
Дистиллированная вода, физиологический раствор (NaCl), предметные стекла, палочки для перемешива-ния, контейнеры для сбора отходов для инфекционного материала.

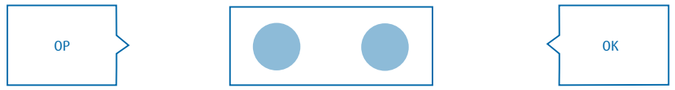
Исследуемый материал и условия культивирования
Выполняют посев штрихом исследуемого материала на неселективные питательные среды, такие как колумбийский кровяной агар с добавлением овечьей крови (50 мл/1 л) и инкубируют его в течение 16—20 часов при температуре 35...37 °C. **Примечание: антиген F 4 (K 88) обычно обнаруживается у типов бактерий с гемолитической активностью.**
Реакцию агглютинации на предметном стекле можно выполнять только с чистыми культурами (жела-тельно субкультурами).

Реакция агглютинации на предметном стекле (техника выполнения)
Перенесите небольшое количество бактериальной мас-сы из колоний, подозрительных на *E. coli,* на предмет-ное стекло, и смешайте материал каждой колонии с од-ной каплей тест-сыворотки (около 25 мкл) до образова-ния гомогенной, слегка «молочной» суспензии. Пред-метное стекло должно находиться на темной поверхно-сти. Результат оценивается невооруженным глазом, путем удерживания предметного стекла перед источником света на черном фоне и покачивания предметного стек-ла (вперед-назад).
Для исключения спонтанной агглютинации необходимо параллельно поставить отрицательный контроль, ис-пользуя 0,9 % раствор NaCl вместо тест-сывороток.

Интерпретация результатов
Оценка результатов исследования допускается, только если отрицательный контроль (ОК) остается молочно-мутным.
Положительная реакция: видимая агглютинация после покачивания пробы вперед-назад менее 20 раз. В случае выраженной положительной реакции (ПР) агглютинация (крупные или мелкие хлопья) происходит сразу же после перемешивания с бактериальной массой. Если результат слабоположительный, агглютинация про-исходит только после покачивания предметного стекла вперед-назад 10—20 раз.



Отрицательная реакция: если суспензия остается молочно-мутной, или если реакция начинается только после покачивания предметного стекла вперед-назад более 20 раз, резуль-тат является отрицательным (ОР).



Процедура исследования
В первую очередь следует поставить скрининговую ре-акцию агглютинации с полиспецифической тест-сывороткой Anti-Coli P. В случае положительной реак-ции необходимо выполнить типирование изолята с мо-носпецифическими тест-сыворотками.
Для подтверждения присутствия фимбриального анти-гена: Anti-Coli F 4 (K 88);
Для подтверждения возможного присутствия антигенов типов 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
Изоляты, давшие реакцию с полиспецифической ан-тисывороткой или с моноспецифической антисыворот-кой Anti-Coli F 4 (K 88), но с отсутствием реакции с какой-либо из моноспецифических антисывороток O:K, также, в принципе, можно типировать, однако их анти-генный профиль отклоняется от стандартного и поэтому не может быть подтвержден.

Обеспечение качества при выполнении теста
Для контроля качества серологической идентификации путем агглютинации на предметном стекле важно, чтобы используемые для этого штаммы хорошо экспрессировали свои антигены на поверхности клетки. Поэтому для контроля качества рекомендуется использовать штаммы из межлабораторных испытаний или полностью охарактеризованные в независимой лаборатории полевые штаммы уточненного генеза.

Ограничения метода
Данные реагенты дают реакцию со штаммами *E. coli,* содержащими заявленные антигены.
В исключительных случаях возможна перекрестная ре-активность с другими антигенами *E. coli* или другими представителями семейства *Enterobacteriaceae* в связи с наличием родственных антигенов.

Разъяснение используемых символов

LOT Код партии (серии)
REF Номер по каталогу
Использовать до ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)
Верхний температурный предел
См. инструкцию по применению

Дата редакции: 01/11/2017