

MAST® ASSURE ANTISERUM PATHOGENE ESCHERICHIA COLI 'H'

Verwendungszweck

Flüssige, stabile Antiseren zur Identifizierung von H-Antigenen zur serologischen Identifizierung von pathogenen *Escherichia coli*.

NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

Packungsinhalt

Siehe Packungsetikett

Zusammensetzung

MAST® ASSURE ANTISERUM werden aus Kaninchen gewonnen, die mit standardisierten Stämmen von abgetöteten Mikroorganismen mit bekannten Serotypen oder gruppenspezifischen Antigenen hyperimmunisiert wurden, und enthalten 0,085 % Natriumazid als Konservierungsmittel.

Lagerung und Haltbarkeit

Alle Behälter fest verschlossen und trocken bei höchstens 2 bis 8°C bis zum auf dem Packungsetikett angegebenen Verfallsdatum lagern. Einmal geöffnet müssen die Antiseren bei 2 bis 8°C gelagert werden und können bis zum Verfallsdatum verwendet werden.

Die Reagenzien nicht einfrieren.

Vorsichtsmaßnahmen

Nur zur *In-vitro*-Diagnostik. Die Schutzmaßnahmen für den Umgang mit potenziell infektiösem Material beachten und nur unter sterilen Bedingungen arbeiten. Nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Den Abfall des potenziell infektiösen Materials vor der Entsorgung autoklavieren. Natriumazid (Konservierungsmittel) kann bei Einnahme toxisch sein und mit Blei- oder Kupferwasserleitung unter Bildung von hoch explosiven Salzen reagieren. Es sollte daher zusammen mit viel Wasser in den Abfluss entsorgt werden. Bitte das Sicherheitsdatenblatt beachten.

Zusätzlich benötigte Materialien

Mikrobiologische Instrumente wie Impfösen, MAST® Selektivsupplemente, Pinzetten, Glasobjektträger, MAST® Kulturmedien, Autoklaven und Brutschränke sowie Reagenzien und Zusätze wie z.B. sterile 0,85 %-ige Salzlösung.

Testdurchführung

a. Erhöhung der Kulturbeweglichkeit

Vor der Testung den Organismus durch 3 bis 5maliges Überimpfen in Craigie-Röhrchen mit halbfestem Medium kultivieren. Danach den Testorganismus in ein geeignetes Flüssigmedium animpfen und 18 bis 24 Stunden bei 37°C inkubieren.

b. Herstellung der Antigensuspension

Nach der Inkubation durch Zugabe von 0,85 %-iger Saline, welche 1 % (v/v) Formalin enthält, in gleichen Teilen zu dem Testorganismus eine 1 : 2 Verdünnung herstellen. Diese wird als Antigensuspension zur H-Antigen-Serotypisierung verwendet.

c. Röhrchen-Agglutinationstest

1. Für jeden zu testenden H-Serotyp je 3 Tropfen des benötigten typspezifischen H-Antiserums in ein kleines Reaktionsgefäß geben und 0,5 mL der vorbereiteten Antigensuspension hinzugeben. Als Referenz in ein zweites Röhrchen 100 µL 0,85 %-ige Salzlösung und 0,5 mL der Antigensuspension geben.
2. Die Röhrchen gut schütteln und 1 Stunde bei 50 bis 52°C in einem Wasserbad inkubieren.
3. Spontane und eindeutige Agglutination (Auftreten von Baumwoll ähnlichen Verklumpungen) in den Röhrchen mit dem bloßen Auge beobachten. Nicht schütteln, da dies den Agglutinationsprozess stören könnte. Ein Isolat, das im Teströhrchen eine positive Reaktion zeigt, im Referenzröhrchen mit Saline jedoch keine Agglutination zu beobachten ist, gilt als positives Ergebnis. Eine homogene Suspension sollte als negatives Ergebnis interpretiert werden.

Interpretation der Ergebnisse

Isolate, die mit einem polyvalenten Antiserum eine klar positive Reaktion zeigen, gelten als *E. coli* mit einem bzw. mehreren der H-Antigenfaktoren, die dieses Antiserum beinhaltet. Weitere Untersuchungen des Isolats sollten mit monovalenten Antiseren nach den oben stehenden Schritten 1 bis 3 durchgeführt werden.

Grenzen

Es sollte nur von den Kulturen, die bereits anhand ihrer morphologischen und biochemischen Charakteristika als *E. coli* identifiziert wurden, der Serotyp mit diesem Produkt bestimmt werden. Zur Bestimmung des H-Typs sollten freibewegliche Stämme verwendet werden und das Bewegungs-vermögen des Keimes wie oben beschrieben durch Kultivierungen in halbfestem Medium erhöht werden. Freibewegliche Stämme, die unter falschen Bedingungen kultiviert wurden, besitzen möglicherweise für eine H-Typ-Serotypisierung nicht ausreichend viele Flagellen. Polyvalente und monovalente Antiseren sollten nur für Objektträger-Agglutinations-Schnelltests verwendet werden.

Wenn ein Keim mit mehr als einem H-Antiserum ein positives Ergebnis liefert, handelt es sich wahrscheinlich um eine Mischkultur. In diesem Fall sollte der Test mit den aus der Mischkultur erhaltenen Reinkulturen wiederholt werden. Der Serotyp eines *E. coli*-Stammes wird als eine Kombination von O-Gruppen- und H-Antigenen angegeben. Zur Identifizierung der O-Gruppe bitte die entsprechende Gebrauchsanleitung verwenden.

Qualitätskontrolle

Qualitätskontrolle durch den Anwender: Das Haltbarkeitsdatum beachten. Die Qualitätskontrolle muss mit mindestens einem positiv reagierenden und einem negativ reagierenden Organismus durchgeführt werden. Wenn die Kontrollreaktion fehlerhaft ist, das Produkt nicht einsetzen. Das Produkt auf Anzeichen von Verfall überprüfen. Wenn die Reagenzien kontaminiert oder trüb sind, das Produkt nicht einsetzen.

Referenz

Bibliographie auf Anfrage erhältlich.