



Mast Group Ltd. Mast House, Derby Road, Bootle, Merseyside, L20 1EA United Kingdom

Tel: + 44 (0) 151 472 1444 Fax: + 44 (0) 151 944 1332 email: sales@mast-group.com Web: www.mast-group.com



Mast Diagnostica GmbH Feldstrasse 20 DE-23858 Reinfeld

Tel: + 49 (0) 4533 2007 0 Fax: + 49 (0) 4533 2007 68 email: mast@mast-diagnostica.de Web: www.mast-group.com

Germany

Mast Diagnostic

12 rue Jean-Jacques Mention CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1 France

Tél: + 33 (0) 3 22 80 80 67 Fax: + 33 (0) 3 22 80 99 22 email: info@mast-diagnostic.fr Web: www.mast-group.com



MAST® ASSURE ANTISERUM PATHOGENIC ESCHERICHIA COLI 'O'

Uso previsto

Antisieri stabili liquidi per la determinazione degli antigeni O per l'identificazione sierologica dei ceppi patogeni di *Escherichia coli.*

ESCLUSIVAMENTE PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

Contenuto

Cfr. etichetta della confezione.

Formulazione

MAST® ASSURE ANTISERUM sono preparati da conigli iperimmunizzati con ceppi standard di microrganismi uccisi che possiedono sierotipi noti o antigeni gruppo-specifici. Contengono sodio azide allo 0,085% come conservante.

Conservazione e validità

Conservare la confezione originale, ben sigillata, a 2 a 8°C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione. Dopo l'apertura, MAST® ASSURE ANTISERUM deve essere conservato a 2 a 8°C e può essere utilizzato fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

Non congelare i reagenti.

Avvertenze e Precauzioni

Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*. Rispettare le precauzioni di sicurezza ed impiegare tecniche asettiche. Deve essere utilizzato solo da personale di laboratorio opportunamente qualificato. Prima dell'eliminazione, sterilizzare tutti i materiali biologici pericolosi. Il conservante sodio azide può essere tossico per ingestione e può reagire con le tubazioni di piombo e rame formando sali altamente esplosivi. Smaltire irrorando sempre con abbondante acqua. Consultare la scheda di sicurezza del prodotto.

Materiali richiesti ma non forniti

Attrezzature e prodotti per analisi microbiologiche di base, per esempio: anse, stick applicatori, vetrini puliti per microscopia o tamponi per provette in vetro, terreni di coltura MAST[®], tamponi, inceneritori, termostati, ecc., come pure reagenti e additivi come soluzione fisiologica sterile 0,85%.

Procedimento

Agglutinazione su vetrino di microrganismi trattati termicamente

- 1. Preparare una sospensione densa prelevando 3 a 5 colonie del microrganismo in esame di aspetto simile da una coltura pura su Nutrient Agar DM179 MAST®, o terreno equivalente, e stemperarle in 3 ml di soluzione fisiologica 0,85%. Riscaldare la sospensione a 100°C per 60 minuti o sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Centrifugare quindi a 900g per 20 minuti. Rimuovere il sovranatante e rispospendere il precipitato con 0,5 ml di soluzione fisiologica 0,85%. Mescolare la sospensione fino a ottenere una sospensione omogenea che deve essere utilizzata per la determinazione del gruppo antigenico O.
- 2. Dispensare due ansate o gocce (5 a 10 μl) della sospensione antigenica su un vetrino per microscopio accuratamente pulito. Il vetrino può essere suddiviso in più parti con una matita di porcellana.

- Aggiungere una goccia di antisiero polivalente su una goccia e una goccia di soluzione fisiologica sull'altra, come controllo. Nota: Evitare con cura la contaminazione del flacone contagocce dell'antisiero con la sospensione batterica
- Miscelare i reagenti oscillando avanti e indietro il vetrino per 60 secondi ed osservare sotto luce indiretta contro fondo scuro.
- La distinta agglutinazione o coagulazione entro questo periodo, senza contemporanea agglutinazione del controllo con soluzione fisiologica (auto-agglutinazione) deve essere considerata come risultato positivo. Una debole agglutinazione deve essere considerata negativa.

Interpretazione dei risultati

Gli isolamenti che producono una evidente reazione positiva con un siero polivalente sono considerati *E. coli* che possiedono uno o più fattori antigenici O rappresentati da quell'antisiero. Sul ceppo isolato devono essere eseguite ulteriori analisi utilizzando antisieri monovalenti, come descritto ai punti 1 a 3.

Limitazioni

Con questo prodotto dovrebbero essere sierotipizzate solo le colture dei microrganismi identificati come *E. coli* per le caratteristiche morfologiche e biochimiche.

I terreni di isolamento selettivi non dovrebbero essere utilizzati per coltivare i campioni da sottoporre al test di Oagglutinazione perché la produzione di antigene può risultare insufficiente o può verificarsi un'auto-agglutinazione. Sottoporre a questo test solo microrganismi trattati termicamente. Il trattamento termico consente l'identificazione del tipo antigenico O, rispetto all'antigene termolabile K. Gli antisieri polivalenti e monovalenti sono indicati esclusivamente per i test di agglutinazione rapida su vetrino. I risultati positivi possono essere confermati con test di agglutinazione in provetta.

Il sierotipo di un ceppo di *E. coli* è espresso come combinazione degli antigeni di gruppo O e tipo H. Per l'identificazione dell'antigene H consultare l'idoneo procedura. Gli antigeni del gruppo O non sono identificati in modo definitivo dall'agglutinazione su vetrino: l'identificazione definitiva richiede il confronto del titolo di agglutinina con un ceppo di riferimento mediante agglutinazione quantitativa. Se più di un antisiero monovalente di gruppo O dovesse risultare positivo, il ceppo in esame deve essere confermato mediante test di agglutinazione con metodo qualitativo.

Controllo qualità

Il controllo di qualità deve essere eseguito impiegando almeno un microrganismo che mostri una reazione positiva ed almeno un microrganismo che mostri una reazione negativa. Non utilizzare il prodotto se le reazioni con i microrganismi di controllo non sono corrette. Verificare se sono presenti segni di deterioramento. Non utilizzare il prodotto se contaminato o torbido.

Bibliografia

La pertinente bibliografia è disponibile su richiesta.