

MAST® ASSURE ANTISERUM CAMPYLOBACTER

χρήση

Σταθερής μορφής υγροί αντιοροί για την οροτυποποίηση θερμοσταθερών αντιγόνων *Campylobacter jejuni* με τη διαδικασία της παθητικής αιμοσυγκόλλησης.

MAST® ASSURE ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΕΡΥΘΡΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ

Αντιδραστήρια για την εξαγωγή βακτηριακών αντιγόνων και για τη σύζευξή τους σε ερυθροκύτταρα κοτόπουλου. Για χρήση στην οροτυποποίηση του *Campylobacter jejuni* με τη διαδικασία της παθητικής αιμοσυγκόλλησης.

ΜΟΝΟ ΓΙΑ IN VITRO ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ

Περιεχόμενα: Βλ. ετικέτα.

Σύσταση

Οι αντιοροί MAST® ASSURE ANTISERUM παρασκευάζονται από κουνέλια υπερανοσοποιημένα με πρότυπα στελέχη θανατωμένων οργανισμών που έχουν γνωστούς ορότυπους ή αντιγόνα ειδικά στην ομάδα και περιέχουν 0.085% αζίδιο του νατρίου σαν συντηρητικό.

Τα MAST® ASSURE ANTISERUM ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΕΡΥΘΡΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ περιέχουν τα ακόλουθα συστατικά:

- Αραιωτικό δειγμάτων σταθεροποιημένων ερυθροκυττάρων κοτόπουλου, έτοιμο για χρήση. 1x 25ml. Περιέχει ερυθροκύτταρα κοτόπουλου σταθεροποιημένα με αλδεύδη, εναιωρημένα σε αλατούχο διάλυμα.
- Αντιδραστήριο εξαγωγής 1, έτοιμο για χρήση. 1x 13ml. Περιέχει διάλυμα οξικού οξέος.
- Αντιδραστήριο εξαγωγής 2, έτοιμο για χρήση. 1x 13ml. Περιέχει διάλυμα sodium nitrite.
- Αντιδραστήριο εξαγωγής 3, έτοιμο για χρήση. 1x 13ml. Περιέχει διάλυμα Tris buffer.
- Διάλυμα Buffer, έτοιμο για χρήση. 2x 50ml. Περιέχει phosphate buffered αλατούχο διάλυμα.

Τα συστατικά 1, 4 και 5 περιέχουν 0.085% sodium azide σαν συντηρητικό.

Σταθερότητα και αποθήκευση

Αποθηκεύστε όσο δεν έχει ανοιχτεί στους 2 να 8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα. Όταν ανοιχτούν, οι αντιοροί MAST ASSURE™ πρέπει να αποθηκεύονται στους 2 να 8°C και μπορούν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης στην ετικέτα. **Μην καταψύχετε τα αντιδραστήρια.**

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Μόνο για in vitro διαγνωστική χρήση. Τηρήστε τις προβλεπόμενες προφυλάξεις για βιολογικούς κινδύνους και ασηπτικές τεχνικές. Για χρήση μόνο από επαρκώς εκπαιδευμένο και πιστοποιημένο εργαστηριακό προσωπικό. Αποστειρώστε όλα τα βιολογικά επικίνδυνα απόβλητα πριν την απόρριψη. Το συντηρητικό αζιδίου του νατρίου μπορεί να είναι τοξικό αν καταποθεί και μπορεί να αντιδράσει με μολύβδινες και χάλκινες σωληνώσεις και να σχηματίσει άκρως εκρηκτικά άλατα. Πάντα να το απορρίπτετε μαζί με άφθονο νερό στην αποχέτευση. Αναφερθείτε στο Φύλλο Ασφάλειας Προϊόντος.

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Κοινά μικροβιολογικά αναλώσιμα και εξοπλισμός όπως loops, stick εφαρμογής, καθαρά γυάλινα slide μικροσκοπίου ή στείλει σε γυάλινα σωληνάρια, θρεπτικά υλικά MAST, αποτεφρωτήρες και επωαστήρες, κλπ, όπως επίσης αντιδραστήρια και πρόσθετα όπως:

- στείρο αλατούχο διάλυμα 0.85%
- Φυγόκεντρος για 7000 rpm
- Μικροπλάκες βοθρία με πάτο σχήματος V
- Θάλαμος υγρασίας
- Οι αντιοροί MAST® ASSURE ANTISERUM CAMPYLOBACTER είναι σχεδιασμένοι για χρήση σε συνδυασμό με τα MAST® ASSURE REAGENTS FOR PREPARATION OF SENSITISED RED BLOOD CELLS. Αυτό το αντιδραστήριο έχει κωδικό M42201.
- Τα MAST® ASSURE ANTISERUM REAGENTS FOR PREPARATION OF SENSITISED RED BLOOD CELLS παρέχονται για χρήση με τους αντιορούς MAST ASSURE CAMPYLOBACTER.

Διαδικασία

A. Εξαγωγή των βακτηριακών αντιγόνων.

- Διανείμετε 0.25ml στείρου αλατούχου διαλύματος σε σωλήνα φυγοκέντρησης 1.5ml
- Με ένα βακτηριολογικό κρικοφόρο, γαλακτωματοποιήστε τα βακτηριακά κύτταρα της καλλιέργειας στο αλατούχο διάλυμα (ποσότητα περίπου στο μέγεθος κεφαλής σπύριου).
- Προσθέστε στο διάλυμα 0.25ml από κάθε Αντιδραστήριο Εξαγωγής 1 και 2 στη σειρά. Κλείστε τους σωλήνες, αναμίξτε το διάλυμα με vortex mixer και επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.
- Μετά από 10 λεπτά προσθέστε 0.25ml Αντιδραστήριο Εξαγωγής 3 και αναμίξτε καλά.
- Φυγοκεντρίστε για 5 λεπτά στις 7000rpm και χρησιμοποιήστε το υπερκείμενο σαν βακτηριακό διάλυμα αντιγόνων για την ευαισθητοποίηση των ερυθροκυττάρων κοτόπουλου.

B. Προετοιμασία των Ερυθρών αιμοσφαιρίων κοτόπουλου.

- Βεβαιωθείτε ότι τα σταθεροποιημένα ερυθροκύτταρα κοτόπουλου είναι πλήρως διαλυμένα και διανείμετε 0.5ml σε όσους δοκιμαστικούς σωλήνες απαιτούνται.
- Προσθέστε 0.5ml διαλύματος Buffer και φυγοκεντρίστε το μίγμα στις 3000rpm για 10 λεπτά.
- Απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο και ξανα-διαλύστε το ίζημα σε 0.5ml buffer.

C. Προετοιμασία των ευαισθητοποιημένων ερυθροκυττάρων κοτόπουλου.

- Σε έναν σωλήνα φυγοκέντρησης του 1.5ml διανείμετε 0.5ml διαλύματος βακτηριακού αντιγόνου για ευαισθητοποίηση και στη συνέχεια 0.5ml των προετοιμασμένων σταθερών ερυθροκυττάρων κοτόπουλου. Κλείστε το σωλήνα, ανακινήστε καλά και επώαστε στους 37°C για 30 λεπτά. Κατά την επώαση αναδεύστε το σωλήνα σε τακτά διαστήματα.
Σημείωση: Βεβαιωθείτε ότι τα σταθεροποιημένα ερυθροκύτταρα κοτόπουλου είναι πλήρως διαλυμένα πριν τη χρήση.
- Μετά από 30 λεπτά επώασης, φυγοκεντρίστε το σωλήνα στις 6000rpm για 30 δευτερόλεπτα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο.
- Προσθέστε 1.0ml buffer και ξανα-διαλύστε το ίζημα με vortex mixer. Αυτό θα πρέπει πλέον να θεωρείται ως το διάλυμα ευαισθητοποιημένων κυττάρων.

D. Διαδικασία παθητικής αιμοσυγκόλλησης.

- Διανείμετε 1 σταγόνα από κάθε αντιορό σε ξεχωριστά βοθρία με πάτο σχήματος V σε μικροπλάκα, σύμφωνα με το προκαθορισμένο πλάνο. Επίσης διανείμετε 1 σταγόνα του αντιορού αναφοράς σε επιπλέον βοθρίο, σαν control.
- Διανείμετε 25μl του διαλύματος ευαισθητοποιημένων κυττάρων σε κάθε βοθρίο. Αφήστε το διάλυμα να πέσει ελεύθερα στο βοθρίο για να μην το επιμολύνει με αντιορό.
- Απαλά αναμίξτε τα περιεχόμενα των βοθρίων με mixer μικροπλάκων ή με το χέρι, τοποθετήστε σε θάλαμο υγρασίας και επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου για 30 - 60 λεπτά.
- Μετά από 30 να 60 λεπτά ελέγξτε κάθε βοθρίο για συγκόλληση και ερμηνεύστε τα αποτελέσματα σύμφωνα με τα παρακάτω κριτήρια.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

- Το βοθρίο control που περιέχει τον ορό αναφοράς θα πρέπει να εμφανίζει αρνητική συγκόλληση, δηλαδή τα ερυθροκύτταρα θα πρέπει να σχηματίζουν μια σαφή κουκίδα στο κέντρο του βοθρίου. Αν ο ορός αναφοράς δεν δώσει αρνητική αντίδραση θα πρέπει να επανεξεταστεί ή να επαναληφθεί η εξαγωγή του βακτηριακού αντιγόνου.
- Τα αποτελέσματα θα πρέπει να ερμηνεύονται σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα.

Αποτέλεσμα	Εικόνα	Ερμηνεία
Το ίζημα των ερυθροκυττάρων σχηματίζει μια σαφή κουκίδα στο κέντρο του βοθρίου.		-
Τα ερυθροκύτταρα εμφανίζουν μερική συγκόλληση αλλά δεν καλύπτουν την επιφάνεια του βοθρίου.		+
Τα ερυθροκύτταρα συγκολλούνται και καλύπτουν όλη την επιφάνεια του βοθρίου, αλλά υπάρχει ακόμα μια κουκίδα κυττάρων στο κέντρο του βοθρίου.		++
Πλήρης συγκόλληση των ερυθροκυττάρων χωρίς ορατή κουκίδα στο κέντρο του βοθρίου.		+++

- Μια βακτηριακή απομόνωση που παράγει καθαρά θετική αντίδραση (+, ++, +++) με συγκεκριμένο αντιορό θεωρείται ως στέλεχος *Campylobacter jejuni* που φέρει αντιγονικούς παράγοντες που αντιπροσωπεύονται από εκείνη την ομάδα αντιορών. Αν η βακτηριακή απομόνωση δώσει θετική αντίδραση με περισσότερους από έναν αντιορούς, θα πρέπει να θεωρείται ως στέλεχος περιπλόκου τύπου.

Οι αντιοροί ταυτοποιούνται σύμφωνα με την κατηγοριοποίηση του Penner και το σύστημα αρίθμησης ως εξής:

Group A: 1, 44	Group K: 12	Group Y: 37
Group B: 2	Group L: 15	Group Z: 38
Group C: 3	Group N: 18	Group Z: 41
Group D: 4, 13, 16, 43, 50	Group O: 19	Group Z: 45
Group E: 5	Group P: 21	Group Z: 52
Group F: 6, 7	Group R: 23, 36, 53	Group Z: 55
Group G: 8	Group S: 27	Group Z: 57
Group I: 10	Group U: 31	Reference
Group J: 11	Group V: 32	

Περιορισμοί Χρήσης

Μόνο καλλιέργειες οργανισμών που απομονώθηκαν με συμβατικές μεθόδους και επιβεβαιώθηκαν σαν *Campylobacter jejuni* με μορφολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά μπορούν να οροτυποποιηθούν με αυτή τη διαδικασία. Όλες οι απομονώσεις *C. jejuni* πρέπει να έχουν αναπτυχθεί σε τρυβλία blood agar στους 42°C για 48 ώρες, σε μικρο-αεροφοβικές συνθήκες πριν από την έναρξη της διαδικασίας.

Ποιοτικός Έλεγχος

Προτείνεται ο ποιοτικός έλεγχος να γίνεται με τουλάχιστον έναν οργανισμό για απόδειξη θετικής αντίδρασης και τουλάχιστον έναν οργανισμό για απόδειξη αρνητικής αντίδρασης. Μην χρησιμοποιείτε το προϊόν αν οι αντιδράσεις με τους οργανισμούς ελέγχου είναι λανθασμένες. Ελέγξτε για σημάδια φθοράς. Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια αν επιμολύνθηκαν ή είναι θολά.

Αναφορές

Παρέχεται βιβλιογραφία κατόπιν αίτησης.