



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

**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  
Group**

## MAST® ASSURE ANTISERUM CAMPYLOBACTER

### Verwendungszweck

Flüssige, stabile Antiseren zur Serotypisierung der hitzebeständigen Antigene von *Campylobacter jejuni* durch passive Haemagglutination.

## MAST® ASSURE REAGENZIEN ZUR HERSTELLUNG SENSIBILISierter ERYTHROZyTEN

Reagenzien zur Extraktion bakterieller Antigene und deren Bindung an Hühner-Erythrozyten. Zur Verwendung bei der Serotypisierung von *Campylobacter jejuni* durch passive Haemagglutination.

NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

**Inhalt:** Siehe Packungsetikett.

### Zusammensetzung

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

MAST® ASSURE REAGENZIEN ZUR HERSTELLUNG SENSIBILISierter ERYTHROZyTEN enthalten folgende Komponenten:

1. Verdünnte Hühner-Erythrozyten („Fixed Chick Red Blood Cells Sample Diluent“), gebrauchsfertig. 1x 25ml. Enthält aldehyd-fixierte Hühner-Erythrozyten in Kochsalzlösung.
2. Extraktionsreagenz 1, gebrauchsfertig. 1x 13ml. Enthält Essigsäure.
3. Extraktionsreagenz 2, gebrauchsfertig. 1x 13ml. Enthält Natriumnitrit.
4. Extraktionsreagenz 3, gebrauchsfertig. 1x 13ml. Enthält Tris-Puffer.
5. Pufferlösung, gebrauchsfertig. 2x 50ml. Enthält Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung.

Die Komponenten 1, 4 and 5 enthalten 0.085% Natriumazid zur Konservierung.

### Haltbarkeit und Lagerung

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 Kupferwasserleitungen unter Bildung von hoch explosiven Salzen reagieren. Es sollte daher zusammen mit viel Wasser in den Abfluss entsorgt werden. Bitte das Sicherheitsdatenblatt beachten.

### Zusätzlich benötigtes Material

Mikrobiologische Instrumente wie Impföfen, Röhrchen, Pipetten, Tupfer, MAST® Kulturmedien, Bunsenbrenner, Brutschränke, etc., sowie folgendes

Arbeitsmaterial:

- Sterile 0.85% Kochsalzlösung
- Zentrifuge mit einer Drehzahl von 7000 Upm.
- V-Boden Mikrotiterplatten
- Feuchte Kammer
- MAST® ASSURE CAMPYLOBACTER ANTISERUM wurden entwickelt zur Verwendung mit MAST® ASSURE REAGENZIEN ZUR HERSTELLUNG SENSIBILISierter ERYTHROZyTEN. Diese Reagenzien können einzeln unter der Nummer M42201 bestellt werden
- MAST® ASSURE REAGENZIEN ZUR HERSTELLUNG SENSIBILISierter ERYTHROZyTEN liegen den MAST® ASSURE CAMPYLOBACTER ANTISEREN bei.

### Testdurchführung

#### A. Extraktion der bakteriellen Antigene

1. 0.25ml sterile Kochsalzlösung in ein 1.5ml Zentrifugenröhrchen pipettieren.
2. Per Impföse eine etwa Streichholzkopf-große Menge der Bakterienkultur in die Kochsalzlösung einrühren.
3. Zur Suspension nacheinander je 0.25ml Extraktionsreagenz 1 und 2 geben. Röhrchen verschließen, im Schüttler mischen und bei Raumtemperatur 10 min inkubieren.
4. Nach 10 Minuten 0.25ml of Extraktionsreagenz 3 zugeben und gründlich mischen.
5. 5 min bei 7000 Upm zentrifugieren und Überstand als Antigen-Lösung weiterverwenden.

#### B. Vorbereitung der Hühner-Erythrozyten.

1. Homogenisieren und je 0.5ml in die gewünschte Anzahl Zentrifugenröhrchen pipettieren.
2. Je 0.5ml Pufferlösung zugeben und bei 3000 UPM 10 Minuten lang zentrifugieren.
3. Überstand sorgfältig abgießen und Pellet in 0,5 ml auflösen.

#### C. Herstellung von sensibilisierten Hühner-Erythrozyten.

1. 0,5 ml der bakteriellen Antigen Lösung in einem 1,5 ml Zentrifugenröhrchen mit 0,5 ml der Hühner-Erythrozyten Lösung mischen. Röhrchen schließen und bei 37°C für 30 Minuten inkubieren. Während der Inkubation in regelmäßigen Abständen schütteln.  
**Anmerkung:** Vor Weiterverwendung müssen die Hühner- Erythrozyten homogen resuspendiert sein.
2. Nach 30 Minuten Inkubation wird das Röhrchen bei 6000 UPM für 30 Sekunden zentrifugiert und der Überstand sorgfältig abgegossen.
3. Nach Zugabe von 1,0 ml Puffer schütteln mittels Mixer ist die Suspension aus sensibilisierten Zellen fertig.

#### D. Passive Haemagglutination

1. Je 1 Tropfen jeden Antiserums in einzelne Vertiefungen einer V-Boden Mikrotiterplatte geben. Als Kontrolle 1 Tropfen Referenzserum in eine weitere Vertiefung geben.
2. In jede Vertiefung 25 µl der sensibilisierten Zellen geben. Dabei mittig ins Gefäß pipettieren, um Reaktion mit Antiserum an der Gefäßwand zu vermeiden.
3. Vorsichtig per Hand oder mit einem Mikrotiterplatten-Mixer mischen, danach bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer für 30 bis 60 Minuten inkubieren.
4. Jede Vertiefung auf Agglutination überprüfen und nach unten stehenden Kriterien auswerten.

### Interpretation der Ergebnisse

1. Die Kontrolle mit dem Referenzserum sollte negativ sein, die Erythrozyten sollten einen klaren Punkt in der Mitte der Vertiefung bilden. Wenn das Referenzserum keine negative Reaktion zeigt, sollte es nochmals getestet oder die Extraktion des bakteriellen Antigens wiederholt werden.
2. Die Resultate der einzelnen Antiseren sollten nach folgender Tabelle interpretiert werden.

Resultat	Muster	Interpretation
Erythrozyten sedimentieren in der Mitte zu einem klaren Punkt.		-
Erythrozyten zeigen etwas Agglutination, aber bedecken den Gefäßboden nicht.		+
Erythrozyten agglutinieren auf den gesamten Gefäßboden, bilden im der Mitte aber noch einen Punkt aus.		++
Volle Agglutination der Erythrozyten ohne Punkt in der Mitte der Vertiefung.		+++

3. Ein bakterielles Isolat mit einer klaren positiven Reaktion (+, ++ oder +++) mit einem spezifizierten Antiserum wird als *Campylobacter jejuni* mit Antigenen des jeweiligen Antiserums angesehen. Erzeugt das Isolat positive Reaktionen mit mehreren Antiseren, wird es als komplexer Stamm angesehen.

Die Antiseren sind nach Penners Gruppierung und Nummerierung wie folgt gekennzeichnet:

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

### Grenzen des Verfahrens

Nur mit konventionellen Methoden isolierte und durch morphologische und biochemische Tests bestätigte Kulturen von *Campylobacter jejuni* können mit dieser Methode serotypisiert werden. Alle *C. jejuni* isolate sollten zuvor auf Blutagarplatten bei 42°C für 48 Stunden unter microaerophoben Bedingungen gewachsen sein.

### Qualitätskontrolle

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, diese nicht mehr verwenden.

### Referenz

Bibliographie auf Anfrage erhältlich.