



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 STAPHYLOKOKKEN KOAGULASE TYPISIERUNGS ANTISEREN

Verwendungszweck

Flüssige, stabile Antiseren zur Bestimmung von *Staphylococcus* Koagulasetypen

NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

Packungsinhalt: siehe Packungsetikett

Zusammensetzung

MAST® ASSURE ANTISEREN 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

Ungeöffnet bei 2-8°C bis zum auf dem Packungsetikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Einmal geöffnet müssen die Antiseren bei 2-8°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 Impfösen, Röhrrchen, Pipetten, Impfstäbchen, Laborröhrrchen, Schüttler, Tupfer, MAST Kulturmedien, Bunsenbrenner, Brutschränke, etc. sowie folgendes Arbeitsmaterial:

- Sterile 0,85% Kochsalzlösung
- Autoklav, der bei 121°C arbeitet oder ein Gerät, dass bakterielle Suspensionen auf 100°C aufheizt
- Zentrifuge mit einer Drehzahl von 3000 Upm
- Kaninchenplasma
- Normales Kaninchenserum
- Verdünnungsmittel für Kaninchenserum und -plasma. Es wird empfohlen, eine Lösung 2% w/v Pepton und 1% w/v Natrium Citrat zu benutzen

Testdurchführung

A. Herstellung der Antigenlösung

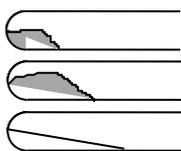
1. Eine Kolonie des zu testenden Organismus in 5mL Mast Hirn-Herz-Dextrose Bouillon (DM106) in einem 30mL Laborröhrrchen einrühren und bei 37°C über Nacht inkubieren, um das Enzym Koagulase zu produzieren.
2. Nach der Inkubation die Flüssigkultur bei 3000 UPM für 30 Minuten zentrifugieren, den Überstand dekantieren und als Antigenlösung weiterverwenden.

B. Serotypisierung

1. In 9 nummerierte, kleine Laborröhrrchen je 0,1mL Antigenlösung geben.
2. Geben Sie 0,1mL Typ 1 Antiserum in Röhrrchen 1 und in die folgenden Röhrrchen 2 bis 8 auch je 0,1mL des Antiserums der entsprechenden Nummer. In Röhrrchen 9 kommt 0,1mL 20-fach verdünntes, normales Kaninchenserum.
3. Jedes Röhrrchen auf einem Schüttler mischen und für 1 Stunde bei 37°C inkubieren.
4. Röhrrchen aus dem Brutschrank nehmen, 0,2mL 10-fach verdünntes Kaninchenplasma zugeben. Auf dem Schüttler mischen und wieder und für 1 Stunde bei 37°C inkubieren.
5. Koagulation in den Röhrrchen nach 1 Stunde ablesen. Bei unklaren Resultaten nach 2; 4; 24 und 48 Stunden Inkubation nochmals ablesen.

Interpretation der Ergebnisse

1. Zum Ablesen der Ergebnisse halten Sie das Röhrrchen waagrecht:



++ Plasma Koagulation

+ Produktion unlöslicher Materials

- keine Koagulation

2. Überprüfen sie die Koagulation im Kontrollröhrrchen. Ist dort keine Koagulation zu erkennen, verlängern Sie die Inkubationszeit wie in Abschnitt B. Punkt 5 beschrieben.
3. Wenn Koagulation in allen Röhrrchen außer einem beobachtet wird, entspricht der Serotyp des getesteten Organismus diesem Antiserum, in dem die Koagulase inhibiert wurde. Wird die Inhibition in zwei oder mehreren Röhrrchen beobachtet, sollte die Inkubationszeit verlängert werden und das Ergebnis dokumentiert werden, wenn nur ein Röhrrchen Inhibition zeigt.
4. Ist nach 48 Stunden Inhibition im Kontrollröhrrchen sichtbar und mehr als ein Teströhrrchen zeigt Inhibition, hat der Organismus mehr als eine Koagulasespezifität.

Grenzen

Es sollte nur von den Kulturen, die bereits anhand ihrer morphologischen und biochemischen Charakteristika als *Staphylococcus aureus* identifiziert wurden, der Serotyp mit diesem Produkt bestimmt werden.

Hinweis: Einige Stämme produzieren wenig Koagulase, was zu einer schwierigen Ergebnisinterpretation führt. Falls die Positivkontrolle mit Kaninchenserum nach 24 Stunden keine Agglutination zeigt, empfehlen wir, mit einer der folgenden Methoden die Koagulaseproduktion anzuregen, bevor der Stamm wiederum getestet wird:

Anregung der Koagulaseproduktion

a) Schüttelkultur

1. Füllen Sie Schüttlerflaschen zu 1/10 oder 1/15 ihres Volumens mit Hirn-Herz-Dextrose Bouillon (DM106).
2. Mit dem Testorganismus animpfen und aerob bei 37°C für 10 bis 12 Stunden bei 120 UPM inkubieren.
3. Bei 3000 UPM für 30 Minuten zentrifugieren, Überstand dekantieren und als Antigenlösung im Test verwenden.

b) Bouillon mit Kaninchenplasma Zusatz

1. MAST Hirn-Herz-Dextrose Bouillon (DM106) steril herstellen und durch einen Sterilfilter (0,22µm Porengröße) Kaninchenplasma in einer Konzentration von 10% v/v zugeben. 3 mL dieser Mischung in ein steriles Röhrrchen (Volumen ca. 10 mL) geben.
2. Medium mit einer Kolonie beimpfen und aerob über Nacht bei 37°C bebrüten.
3. Koaguliertes und flüssiges Medium durch mehrmaliges hin- und herpipettieren homogenisieren. Flüssigen Teil dieser Kultur als Antigenlösung verwenden.

c) Agarplatte mit Kaninchenplasma zur Anzucht Koagulase positiver Kolonien

1. MAST Nähragar (DM179) steril herstellen und im Wasserbad auf 50°C bringen. Durch einen Sterilfilter (0,22µm Porengröße) Kaninchenplasma in einer Konzentration von 10% v/v zugeben und gründlich mischen. In sterile Schalen gießen und fest werden lassen.
2. Platten beimpfen und aerob über Nacht bei 37°C bebrüten.
3. Platten von unten beleuchten, Koagulaseproduktion wird durch einen weißen Ring um die Kolonie angezeigt. Die Menge der Koagulase ist dem Ringdurchmesser proportional. Die Kolonie mit dem größten Ring wählen und wie in Abschnitt B beschrieben in Flüssigmedium anzüchten.

Hinweis: Einige Stämme stellen sehr viel Koagulase her, was zu Schwierigkeiten bei der Ergebnisinterpretation führt. Falls alle Röhrrchen nach 1 Stunde Inkubation Koagulation zeigen, sollte eine Verdünnung nach der folgenden Methode durchgeführt werden, bevor erneut getestet wird.

1. Mit dem Verdünnungsmittel eine Verdünnungsreihe der Antigenlösung von 1:2 bis 1:16 herstellen.
2. 0,1mL der Antigenlösung aus jeder Verdünnungsstufe in je ein kleines Röhrrchen geben. Dazu 0,1mL des 1:20 verdünnten Kaninchenserums geben, mischen und bei 37°C für 1 Stunde inkubieren.
3. 0,2mL des 10-fach verdünnten Kaninchenplasmas in jedes Röhrrchen geben, maschinell mischen, bei 37°C für 1 Stunde inkubieren und ablesen.
4. Antigenlösung im Röhrrchen mit der höchsten Verdünnung und Koagulaseaktivität nach 1 Stunde für den Test (Abschnitt B) verwenden.

Hinweis: Einige Stämme von *S. aureus* produzieren das Enzym Fibrinolyse, welches koaguliertes Plasma wieder lysiert. Wenn der Koagulase-Test mit solch einem Stamm durchgeführt wird, kann koaguliertes Plasma wieder aufgelöst werden. Daher ist es wichtig, die Ergebnisse genau zu beobachten.

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. Keine kontaminierten oder trüben Reagenzien verwenden.

Referenz

Bibliographie auf Anfrage erhältlich.