

Rev From	Rev To	DADS #	Date	Appr.
1274	0703	1953-03		

Notes

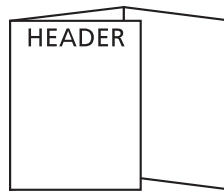
- BD Cat. No. 223091, 223101, 225851
- Blank (Sheet) Size : Length: 9" Width: 32
 Number of Pages: 16 Number of Sheets: 1
 Page Size: Length 9" Width 4" Final Folded Size: 2.25" x 4"
- Style (see illustrations below): #4



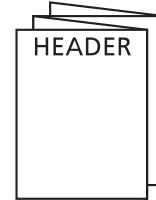
#1



#2



#3

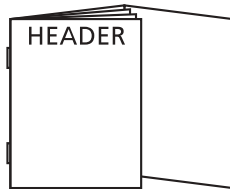


#4

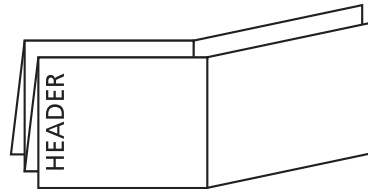
#5




#6



#7



- See Specification Control No. L0001620 for Material Information
- Ink Colors: Printed two sides Yes No
 No. of Colors: 1 PMS #2755 Blue
- Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level.

Label Design	Date	COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION	 Becton, Dickinson and Company 250 Schilling Circle Cockeysville, MD. 21030-0243 USA	
Proofer	Date			
Checked By	Date			
Part Number:	S1220	Category and Description Package Insert, Difco Bordetella Antiserum and Antigen	Sheet: 1 of 17 Scale:	A


BD Difco™ Bordetella Antisera
Difco™ Bordetella Antigens
S1220
2003/07

English: pages 1 - 3 **Italiano: pagine 10 - 12**
Français: pages 4 - 6 **Español: páginas 12 - 15**
Deutsch: Seiten 7 - 9

See symbol glossary at end of insert. / Se symbolglossaret i slutningen af indlægsedlen. / Voir le glossaire des symboles à la fin de la notice. / Siehe Symbol-Erklärungen am Ende der Packungsbeilage. / Vedere il glossario dei simboli alla fine del foglio illustrativo. / Consulte o glossário de símbolos no fim do folheto informativo. / Consulte el glosario de símbolos al final del prospecto. / Se symbolförteckningen vid slutet av bipacksedeln.

Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Kontakta lokal Becton Dickinson-representant för anvisningar.

INTENDED USE

Difco™ Bordetella Pertussis Antiserum and **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum are recommended for use in slide agglutination tests for the identification of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis*.

Difco Bordetella Pertussis Antigen is used to demonstrate a positive quality control test in the slide agglutination test.

SUMMARY AND EXPLANATION

B. pertussis and *B. parapertussis* are two species of *Bordetella* that have been isolated from humans. These organisms adhere to, multiply among and remain localized in the ciliated epithelial cells of the respiratory tract. *B. pertussis* is the major cause of whooping cough or pertussis. *B. parapertussis* is associated with a milder, less frequently occurring form of the disease.¹ Data from molecular genetic studies show that these two species may be insufficiently different to be classified as separate species. Toxin production remains the major distinction between *B. pertussis* and *B. parapertussis*.

Classic pertussis is described as a respiratory tract infection in which the patient develops a cough with a characteristic "whoop." The term "whooping cough" was abandoned when it was determined that not all patients with clinical pertussis developed this characteristic cough.

Bordetella species are tiny, gram-negative, strictly aerobic coccobacilli occurring singly or in pairs and may exhibit a bipolar appearance. While some species are motile, *B. pertussis* and *B. parapertussis* are nonmotile. They do not produce acid from carbohydrates. *B. pertussis* will not grow on common blood agar bases or chocolate agar, while *B. parapertussis* will grow on blood agar and sometimes on chocolate agar. Media for primary isolation must include starch, charcoal, ion-exchange resins or a high percentage of blood to inactivate inhibitory substances.² *B. pertussis* may be recovered from secretions collected from the posterior nasopharynx, bronchoalveolar lavage and transbronchial specimens.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

Identification of *Bordetella* species includes the isolation of the microorganism, biochemical identification and serological confirmation. Serological confirmation involves the reaction in which the microorganism (antigen) reacts with its corresponding antibody. The *in vitro* reaction produces macroscopic clumping called agglutination. The desired homologous reaction should be rapid, tightly binding (high affinity) and not dissociate (high avidity).

Because a microorganism (antigen) may agglutinate with an antibody produced in response to some other species, heterologous reactions are possible. These are characterized as forming slowly and being weak, and such unexpected and perhaps unpredictable reactions may lead to some confusion in serological identification. A positive homologous agglutination reaction should support the morphological and biochemical identification of the microorganism.

REAGENTS

Difco Bordetella Pertussis Antiserum and **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum are lyophilized, polyclonal rabbit antisera containing approximately 0.04% thimerosal as a preservative.

Difco Bordetella Pertussis Antigen is a suspension of a selected strain of *B. pertussis* containing approximately 0.04% thimerosal as a preservative.

When rehydrated and used as described, each vial of **Difco** Bordetella Pertussis and **Difco** Bordetella Parapertussis antisera diluted 1:10 contains sufficient reagent for approximately 200 slide tests.

When used as described, each vial of **Difco** Bordetella Pertussis Antigen contains sufficient reagent for approximately 140 slide tests.

Warnings and Precautions:

For *in vitro* Diagnostic Use.

The packaging of this product contains dry natural rubber.

Observe aseptic techniques and established precautions against microbiological hazards throughout all procedures. After use, specimens, containers, slides, tubes and other contaminated material must be sterilized by autoclaving. Directions for use should be followed carefully.

Storage: Store lyophilized and rehydrated **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum and **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum at 2–8°C.

Store **Difco** Bordetella Pertussis Antigen at 2–8°C.

Prolonged exposure of reagents to temperatures other than those specified is detrimental to the products.

Product Deterioration: The expiration date applies to the product in its intact container when stored as directed. Do not use if the product is caked, discolored or shows other signs of deterioration.

Difco Bordetella Pertussis Antigen is stable through the expiration date on the label when stored as described. Exposure to temperatures below 2°C can result in autoagglutination. Antigens must be smooth uniform suspensions. Examine antigen vials for agglutination before use. Suspensions with agglutination are not usable and should be discarded.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Isolation of *Bordetella* requires the use of certain media, such as Bordet-Gengou Agar. For specific recommendations consult appropriate references.^{2,3} Determine that a pure culture of the microorganism has been obtained and that biochemical test reactions are consistent with the identification of the organism as *Bordetella* spp. After these criteria are met, serological identification can be performed.

The isolate for serological testing should be subcultured from selective media to a nonselective agar.

PROCEDURE

Materials Provided: **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum, **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum and **Difco** Bordetella Pertussis Antigen.

Materials Required But Not Provided: Agglutination slides with 1 inch squares, applicator sticks, sterile 0.85% saline, purified water and inoculating loops.

Reagent Preparation

Equilibrate all materials to room temperature before performing the tests. Ensure that all glassware and pipettes are clean and free of residues such as detergents.

To rehydrate **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum and **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum, add 1 mL distilled or deionized water and rotate gently to completely dissolve the contents. Dilute rehydrated antiserum 1:10 with sterile 0.85% saline. Dilute only enough for 1–2 days testing requirements.

Difco Bordetella Pertussis Antigen is ready for use.

Test Isolate for Autoagglutination

1. From the test culture on nonselective media, transfer a portion of a loopful of growth to a drop (approximately 35 µL) of sterile 0.85% saline on a clean slide and emulsify the organism.
2. Rotate the slide for one min, then observe for agglutination.
3. If agglutination (autoagglutination) occurs, the culture is rough and cannot be tested. Subculture to nonselective agar, incubate and test the organism again as described in steps 1 and 2.
4. If no agglutination occurs, proceed with testing the organism.

Test Procedure

1. On an agglutination slide dispense 2 separate drops (approximately 35 µL, each) of the **Difco** Bordetella Antiserum to be tested. The first square is to be used for the test isolate and the second for the positive control.
2. **Negative control** – Dispense 1 drop of sterile 0.85% saline.
3. **Test Isolate** – From a solid agar medium, transfer a portion of a loopful of an isolated colony to the first drop of antiserum and a second portion to the negative control (0.85% saline).
4. **Positive control** – Add 1 drop of **Difco** Bordetella Pertussis Antigen or a small amount of a known culture of *B. pertussis* or *B. parapertussis* to the second drop of antiserum.
5. Mix each test and control serum reaction area with an applicator stick and rock gently for 1 min. Read for agglutination.

User Quality Control

At the time of use, test both positive and negative antigen controls to check performance of the antisera, techniques and methodology.

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent NCCLS guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

RESULTS

- Read and record results as follows:
 - 4+ 100% agglutination; background is clear to slightly hazy
 - 3+ 75% agglutination; background is slightly cloudy
 - 2+ 50% agglutination; background is moderately cloudy
 - 1+ 25% agglutination; background is cloudy
 - No agglutination.
- The positive control should show 3+ or greater agglutination.
- The negative control should show no agglutination.
- For the test isolates, a 3+ agglutination within 1 min is a positive result.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Correct interpretation of serological reactions depends upon culture purity, morphological characteristics and biochemical reactions that are consistent with identification of the microorganism as *Bordetella* species.
- Serological methods alone cannot identify the isolate as a *Bordetella* species.
- Excessive heat from external sources (hot bacteriological loop, burner flame, light source, etc) may prevent making a smooth suspension of the microorganism or cause evaporation or precipitation of the test mixture. False positive reactions may occur.
- Rough culture isolates do occur and will agglutinate spontaneously, causing agglutination of the negative control (autoagglutination). Smooth colonies must be selected and tested in serological procedures.
- Shake the **Difco** Bordetella Pertussis Antigen vial well before use to obtain a smooth, uniform suspension. Occasionally a *Bordetella* suspension may settle out during storage.
- Difco** Bordetella Pertussis Antigen will display irreversible autoagglutination if at any time during shipment or storage it is subjected to freezing temperatures. Do not allow to freeze.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity of **Difco** Bordetella Antisera is determined by demonstrating appropriate reactivity, as defined in the "Results" section, against a battery of well-characterized homologous *B. pertussis* and *B. parapertussis* cultures with known antigenic reactivity (refer to the table below). Specificity is determined by demonstrating non-reactivity against non-related (heterologous) *B. pertussis* and *B. parapertussis* cultures.

Catalog No.	Product	Homologous Cultures Tested
223091	Bordetella Pertussis Antiserum	<i>B. pertussis</i> 10536 MDH <i>B. pertussis</i> ATCC™ 12743 <i>B. pertussis</i> Malkiel NIH
223101	Bordetella Parapertussis Antiserum	<i>B. parapertussis</i> 32472 MDH <i>B. parapertussis</i> 170326 MDH <i>B. parapertussis</i> 17903 <i>B. parapertussis</i> Wolinski

AVAILABILITY**Cat. No. Description**

- 223091 **Difco™** Bordetella Pertussis Antiserum, 1 mL
 223101 **Difco™** Bordetella Parapertussis Antiserum, 1 mL
 225851 **Difco™** Bordetella Pertussis Antigen, 5 mL

REFERENCES

- Linneman, C.C., and E.B.Pery. 1977. *Bordetella parapertussis*: recent experience and a review of the literature. *Am J. Dis. Child.* 131:560-563.
- Loeffelholz, M.J. 2003. *Bordetella*, p. 780-788. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Pezzlo, M. 1992. Aerobic bacteriology, p. 1.0.1-1.20.47. In H.D. Isenberg (ed.), *Clinical microbiology procedures handbook*, vol.1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.



BD Difco Bordetella Antisera Difco Bordetella Antigens

Français

APPLICATION

Le **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum (sérum anti-Bordetella pertussis **Difco**) et le **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum (sérum anti-Bordetella parapertussis **Difco**) sont recommandés pour réaliser les tests d'agglutination sur lame servant à l'identification de *Bordetella pertussis* et de *Bordetella parapertussis*.

Le **Difco** Bordetella Pertussis Antigen (antigène de Bordetella pertussis **Difco**) s'utilise comme témoin positif de contrôle de qualité du test d'agglutination sur lame.

RESUME ET EXPLICATION

B. pertussis et *B. parapertussis* sont deux espèces de *Bordetella* isolées chez l'homme. Ces microorganismes adhèrent aux cellules épithéliales ciliées des voies respiratoires, s'y multiplient et y demeurent. *B. pertussis* est l'agent pathogène principal de la coqueluche. *B. parapertussis* est associé à une forme bénigne moins fréquente de la maladie.¹ Les données de la biologie moléculaire montrent que ces deux espèces seraient trop proches pour être qualifiées d'espèces distinctes. La production de toxine demeure la principale distinction entre *B. pertussis* et *B. parapertussis*.

La coqueluche classique se caractérise par une infection des voies respiratoires, qui provoque des quintes de toux spasmodiques. Cependant, tous les patients coquelucheux ne présentent pas ces quintes de toux caractéristiques.

Les espèces de *Bordetella* sont de minuscules coccobacilles aérobies strictes, à Gram négatif, seuls ou appariés, et pouvant présenter un aspect bipolaire. Certaines espèces de *Bordetella* sont motiles, mais *B. pertussis* et *B. parapertussis* ne le sont pas. Ils ne produisent pas d'acide à partir des hydrates de carbone. *B. pertussis* ne se développe pas sur les milieux habituels à base de gélose au sang ou de gélose au chocolat alors que *B. parapertussis* se développe sur gélose au sang, voire sur gélose au chocolat. Les milieux d'isolement primaire doivent comporter de l'amidon, du charbon actif, des résines échangeuses d'ions ou une teneur de sang élevée pour inactiver les inhibiteurs.² *B. pertussis* peut être isolé à partir d'échantillons trans-bronchiques et de sécrétions recueillies par lavage broncho-alvéolaire ou prélevées au niveau du rhinopharynx postérieur.

PRINCIPES DE LA METHODE

L'identification des espèces de *Bordetella* comprend l'isolement du microorganisme, son identification biochimique et sa confirmation sérologique. La confirmation sérologique implique une réaction dans laquelle un antigène du microorganisme réagit avec l'anticorps correspondant. Cette réaction *in vitro* entraîne une formation d'agrégats macroscopiques appelée agglutination. La réaction homologue souhaitée doit être rapide et créer une liaison forte (affinité élevée) présentant une réversibilité faible (avidité élevée).

Comme l'antigène du microorganisme peut agglutiner un anticorps produit en réponse à une infection par d'autres espèces bactériennes, des réactions hétérologues sont possibles. Ces réactions se caractérisent par leur lenteur et une affinité faible. De telles réactions inattendues voire imprévisibles peuvent entacher d'incertitude l'identification sérologique. Une réaction d'agglutination homologue positive doit concorder avec l'identification du microorganisme sur la base de ses caractéristiques biochimiques et morphologiques.

RÉACTIFS

Le **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum et le **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum sont des antisérums de lapin polyclonaux stables, lyophilisés, contenant environ 0,04 % de thimérosal (agent conservateur).

Le **Difco** Bordetella Pertussis Antigen est une suspension d'une souche de *B. pertussis* sélectionnée, contenant environ 0,04 % de thimérosal (agent conservateur).

Convenablement réhydraté et utilisé conformément aux instructions, un flacon de **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum ou de **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum dilué au 1/10 permet de réaliser environ 200 tests sur lame.

Utilisé conformément aux instructions, un flacon de **Difco** Bordetella Pertussis Antigen permet de réaliser environ 140 tests sur lame.

Avertissement et précautions :

Réservé au diagnostic *in vitro*.

L'emballage de ce produit contient du caoutchouc naturel sec.

Respecter les techniques d'asepsie et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les échantillons, les récipients, les lames, les tubes et les autres matériels contaminés. Respecter scrupuleusement le mode d'emploi.

Conservation : Conserver le **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum et le **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum lyophilisés et réhydratés à une température comprise entre 2 et 8 °C.

Conserver le **Difco** Bordetella Pertussis Antigen à une température comprise entre 2 et 8 °C.

L'exposition prolongée des réactifs à des températures autres que les températures spécifiées a un effet adverse sur ceux-ci.

Détérioration du produit : La date de péremption s'applique au produit contenu dans son emballage intact et conservé conformément aux instructions. Ne pas utiliser le produit s'il présente un aspect agglutiné ou décoloré, ou d'autres signes de détérioration.

Conservé conformément aux instructions, le **Difco** Bordetella Pertussis Antigen reste stable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette. Une exposition à des températures inférieures à 2 °C peut provoquer une autoagglutination. Les suspensions d'antigènes doivent être fluides et homogènes. S'assurer qu'aucune agglutination ne s'est produite dans les flacons d'antigène. Eliminer systématiquement ceux qui présentent une agglutination.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

L'isolement de *Bordetella* nécessite l'utilisation de certains milieux comme la gélose de Bordet-Gengou. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations.^{2,3} Vérifier la pureté de la culture et s'assurer que les résultats des tests biochimiques concordent avec l'identification du microorganisme comme *Bordetella* spp. Si ces conditions sont remplies, l'identification sérologique peut être effectuée.

L'isolat destiné au test sérologique doit être repiqué à partir d'un milieu sélectif sur une gélose non sélective.

MODE OPERATOIRE

Matériaux fournis : **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum, **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum et **Difco** Bordetella Pertussis Antigen.

Matériaux requis mais non fournis : Lames à agglutination (zones réactionnelles de 2,5 cm de côté), écouvillons, sérum physiologique stérile à 0,85 %, eau distillée ou désionisée, et ensemenceurs à anse.

Préparation des réactifs

Laisser le matériel s'équilibrer à température ambiante avant d'effectuer les tests. S'assurer que la verrerie et les pipettes utilisées sont propres et exemptes de résidus, comme des traces de détergent.

Pour réhydrater le **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum et le **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum, ajouter 1 mL d'eau distillée ou désionisée et faire tourner doucement jusqu'à dissolution complète du contenu. Diluer l'antisérum réhydraté au 1/10 avec du sérum physiologique stérile à 0,85 %. Préparer une solution diluée en quantité suffisante pour couvrir les besoins pendant 1 à 2 jours seulement.

Le **Difco** Bordetella Pertussis Antigen est prêt à l'emploi.

Test d'autoagglutination de l'isolat

1. A l'aide d'un ensemenceur, prélever une portion d'une pleine anse de la culture à analyser sur une boîte de milieu non sélectif, transférer le contenu dans une goutte (environ 35 µL) de sérum physiologique stérile à 0,85 % déposé sur une lame propre et mettre en suspension les microorganismes.
2. Agiter pendant une minute par un mouvement de rotation de la lame, puis observer s'il se produit une réaction d'agglutination.
3. Si une agglutination se produit (autoagglutination), la culture n'est pas pure et ne peut pas être testée. Répliquer sur gélose non sélective, incuber et tester de nouveau le microorganisme comme expliqué aux étapes 1 et 2.
4. En l'absence d'agglutination, procéder au test du microorganisme.

Mode opératoire du test

1. Distribuer 2 gouttes (environ 35 µL chacune) de **Difco** Bordetella Antiserum à tester sur une lame à agglutination. Utiliser la première zone réactionnelle pour l'isolat à tester et la deuxième pour le contrôle positif.
2. **Contrôle négatif** - Déposer 1 goutte de sérum physiologique stérile à 0,85 %.
3. **Isolat à tester** - A l'aide d'un ensemenceur, prélever une portion d'une pleine anse d'une colonie isolée sur le milieu gélosé et la transférer dans la première goutte d'antisérum, puis prélever une autre portion et la transférer dans le contrôle négatif (sérum physiologique à 0,85 %).
4. **Contrôle positif** - Ajouter 1 goutte de **Difco** Bordetella Pertussis Antigen ou une petite quantité d'une culture connue de *B. pertussis* ou de *B. parapertussis* à la deuxième goutte d'antisérum.
5. Mélanger chaque zone réactionnelle (sérum à tester et contrôle) à l'aide d'un écouvillon, puis agiter doucement pendant 1 min. Observer s'il se produit une réaction d'agglutination.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Tester dans la même série des antigènes de contrôles positif et négatif pour contrôler les performances de l'antisérum, des techniques et de la méthodologie.

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives NCCLS et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

RESULTATS

1. Lire et reporter les résultats comme suit :
 - 4+ 100 % d'agglutination ; fond clair à légèrement voilé
 - 3+ 75 % d'agglutination ; fond légèrement trouble
 - 2+ 50 % d'agglutination ; fond moyennement trouble
 - 1+ 25 % d'agglutination ; fond trouble
 - Absence d'agglutination.
2. Le contrôle positif doit provoquer une agglutination de niveau 3+ ou supérieur.
3. Le contrôle négatif ne doit présenter aucune agglutination.
4. S'agissant des isolats à tester, une agglutination de niveau 3+ en moins d'une minute constitue un résultat positif.

LIMITES DE LA PROCEDURE

1. La pertinence de l'interprétation des réactions sérologiques est fonction de la pureté de la culture et de la concordance des réactions biochimiques et des caractéristiques morphologiques identifiant le microorganisme comme *Bordetella* sp.
2. Utilisées seules, les méthodes sérologiques ne suffisent pas à identifier un isolat comme étant *Bordetella* sp.
3. Une source de chaleur externe excessive (anse d'ensemencement brûlante, flamme du bec bunsen, source lumineuse, etc.) peut empêcher d'obtenir une suspension fluide du microorganisme ou entraîner une évaporation ou la précipitation du mélange réactionnel. Des faux positifs risquent d'être obtenus.
4. Des isolats de culture non purs sont parfois obtenus et provoquent une agglutination spontanée entraînant l'agglutination du contrôle négatif (autoagglutination). Choisir des colonies lisses et les tester suivant les méthodes sérologiques.
5. Bien agiter le flacon de **Difco** Bordetella Pertussis Antigen avant l'emploi afin d'obtenir une suspension fluide et homogène. Il arrive qu'une suspension de *Bordetella* se dépose lors de l'entreposage.
6. Le **Difco** Bordetella Pertussis Antigen présentera une autoagglutination irréversible s'il est soumis à des températures égales ou inférieures à 0 °C en cours de transport ou pendant l'entreposage. Ne jamais congeler.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

La sensibilité des sérums anti-Bordetella **Difco** est déterminée en démontrant une réactivité conforme, définie dans la section " Résultats ", contre une batterie de cultures homologues bien caractérisées de *B. pertussis* et *B. parapertussis*, de réactivité antigénique connue (consulter le tableau ci-dessous). La spécificité est déterminée en démontrant une absence de réactivité contre les groupes non-apparentés de *B. pertussis* et *B. parapertussis* (hétérologues).

No de référence	Produit	Cultures homologues testées
223091	Bordetella Pertussis Antiserum	<i>B. pertussis</i> 10536 MDH <i>B. pertussis</i> ATCC 12743 <i>B. pertussis</i> Malkiel NIH
223101	Bordetella Parapertussis Antiserum	<i>B. parapertussis</i> 32472 MDH <i>B. parapertussis</i> 170326 MDH <i>B. parapertussis</i> 17903 <i>B. parapertussis</i> Wolinski

CONDITIONNEMENT**No réf. Description**

- 223091 **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum, 1 mL
 223101 **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum, 1 mL
 225851 **Difco** Bordetella Pertussis Antigen, 5 mL

REFERENCES

Voir la section « References » dans la notice en anglais.



BD Difco Bordetella Antisera Difco Bordetella Antigens

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Das **Difco**-Bordetella-pertussis-Antiserum und das **Difco**-Bordetella-parapertussis-Antiserum werden für Objektträger-Agglutinationstests zur Identifizierung von *Bordetella pertussis* und *Bordetella parapertussis* empfohlen.

Das **Difco**-Bordetella-pertussis-Antigen dient als positiver Qualitätskontrolltest beim Objektträger-Agglutinationstest.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

B. pertussis und *B. parapertussis* sind zwei beim Menschen isolierte *Bordetella*-Spezies. Diese Organismen heften sich an die Flimmerepithelzellen des Atemtraktes, vermehren sich zwischen diesen und verbleiben dort. *B. pertussis* ist der Haupterreger des Keuchhustens (Pertussis). *B. parapertussis* wird mit einer mildereren, weniger häufig auftretenden Form des Keuchhustens in Zusammenhang gebracht.¹ Daten molekulargenetischer Studien zeigen, dass sich diese beiden Spezies u. U. nicht hinreichend unterscheiden, um eine Klassifizierung als separate Spezies zu rechtfertigen. Der Hauptunterschied zwischen *B. pertussis* und *B. parapertussis* bleibt die Toxinproduktion.

Klassischer Keuchhusten wird beschrieben als Infektion der Atemwege, bei welcher der Patient einen Husten mit charakteristischem "Juchzen" entwickelt. Im englischen Sprachraum wird der auf dieses Juchzen hindeutende Begriff "whooping cough" übrigens nicht mehr verwendet, seit feststeht, dass nicht alle Patienten mit klinischem Keuchhusten diesen charakteristischen Husten entwickeln.

Bordetella-Spezies sind einzeln oder paarweise auftretende, winzige, gramnegative, ausschließlich aerobe Kokkenbazillen mit u. U. bipolarer Form. Während einige Spezies beweglich sind, sind *B. pertussis* und *B. parapertussis* unbeweglich. Sie produzieren keine Säure aus Kohlenhydraten. *B. pertussis* wächst nicht auf gewöhnlichen Blut-Agar-Medien oder Schokoladen-Agar, während *B. parapertussis* auf Blut-Agar und mitunter auf Schokoladen-Agar wächst. Die Medien für die erste Isolierung müssen zur Deaktivierung von Hemmsubstanzen Stärke, Kohle, Ionenaustausch-Harze oder einen hohen Prozentanteil Blut enthalten.² *B. pertussis* kann aus Sekreten des hinteren Nasopharyngeal-Bereichs, Bronchoalveolär-Lavagen und Transbroncheal-Proben gewonnen werden.

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Die Identifizierung von *Bordetella*-Spezies umfasst die Isolierung des Mikroorganismus, die biochemische Identifizierung und die serologische Bestätigung. Zum serologischen Nachweis zählt die Reaktion, in welcher der Mikroorganismus (Antigen) mit dem entsprechenden Antikörper reagiert. Bei dieser *In-vitro*-Reaktion kommt es zu makroskopischen Verklumpungen, der so genannten Agglutination. Die gewünschte homologe Reaktion sollte rasch, mit fester Bindung (hoher Affinität) und ohne Dissoziation (hohe Avidität) erfolgen.

Da ein Mikroorganismus (Antigen) auch mit Antikörpern agglutinieren kann, die als Reaktion auf andere Spezies gebildet wurden, sind heterologe Reaktionen möglich. Diese zeichnen sich durch einen langsamen und schwachen Reaktionsverlauf aus. Derartige unerwartete und evtl. unvorhersehbare Reaktionen können bei der serologischen Identifizierung einige Verwirrung stiften. Eine positive homologe Agglutinationsreaktion sollte die morphologische und biochemische Identifizierung des Mikroorganismus unterstützen.

REAGENZIEN

Das **Difco**-Bordetella-pertussis-Antiserum und das **Difco**-Bordetella-parapertussis-Antiserum sind lyophilisierte, polyklonale Kaninchen-Antiglobuline, die ca. 0,04 % Thimerosal als Konservierungsmittel enthalten.

Das **Difco**-Bordetella-pertussis-Antigen ist eine Suspension eines ausgewählten *B. pertussis*-Stammes und enthält ca. 0,04 % Thimerosal als Konservierungsmittel.

Bei Rehydratation und vorschriftsmäßiger Anwendung enthält jedes Fläschchen **Difco**-Bordetella-pertussis-Antiserum und **Difco**-Bordetella-parapertussis-Antiserum in 1 : 10-Verdünnung eine ausreichende Reagenzienmenge für ca. 200 Objektträgertests.

Bei vorschriftsmäßiger Anwendung enthält jedes Fläschchen **Difco**-Bordetella-pertussis-Antigen eine ausreichende Reagenzienmenge für ca. 140 Objektträgertests.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-vitro-Diagnostikum.

Die Verpackung dieses Produkts enthält Naturkautschuk (getrocknet).

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen und Anwendung aseptischer Techniken erfolgen. Nach Gebrauch sind Proben, Behälter, Objektträger, Röhrchen und sonstiges kontaminiertes Material im Autoklaven zu sterilisieren. Die Gebrauchsanleitung ist sorgfältig zu befolgen.

Aufbewahrung: Lyophilisiertes und rehydriertes **Difco**-Bordetella-pertussis-Antiserum und **Difco**-Bordetella-parapertussis-Antiserum bei 2 - 8 °C aufbewahren.

Difco-Bordetella-pertussis-Antigen bei 2 - 8 °C aufbewahren.

Werden die Reagenzien längere Zeit anderen Temperaturen ausgesetzt als vorgeschrieben, ist dies den Produkten abträglich.

Haltbarkeit des Produkts: Das angegebene Verfallsdatum gilt für das in der ungeöffneten Packung aufbewahrte Produkt bei Einhaltung der Lagervorschriften. Zusammenklebendes, verfärbtes oder sonstige Verfallsanzeichen aufweisendes Produkt nicht verwenden.

Bei vorschriftsmäßiger Aufbewahrung bleibt das **Difco-Bordetella-pertussis-Antigen** bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil. Durch Einwirkung von Temperaturen unter 2 °C kann es zu einer Autoagglutination kommen. Antigene müssen eine glatte, gleichmäßige Suspension ergeben. Die Antigenfläschchen vor Gebrauch auf Agglutination prüfen. Suspensionen mit Agglutination sind unbrauchbar und zu verwerfen.

PROBENENTNAHME UND -VORBEREITUNG

Zur Isolierung von *Bordetella* sind bestimmte Medien erforderlich, wie bspw. Bordet-Gengou-Agar. Spezifische Empfehlungen sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{2,3} Sicherstellen, dass eine Reinkultur des Mikroorganismus erhalten wurde, und dass die biochemischen Testreaktionen der Identifizierung des Organismus als *Bordetella* spp. entsprechen. Wenn diese Kriterien erfüllt sind, kann die serologische Identifizierung durchgeführt werden.

Isolate für serologische Tests sollten aus Subkulturen des Selektiv-Mediums auf einem nicht selektiven Agar gewonnen werden.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum, **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum und **Difco** Bordetella Pertussis Antigen.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Agglutinations-Objektträger mit Quadraten von 2,5 x 2,5 cm Größe, Applikatorstäbchen, sterile 0,85%ige Kochsalzlösung, destilliertes Wasser und Impfösen.

Vorbereitung der Reagenzien

Vor der Testdurchführung alle Materialien Zimmertemperatur annehmen lassen. Sicherstellen, dass alle gläsernen Utensilien und Pipetten sauber sind und keine Rückstände aufweisen (wie z. B. von Reinigungsmitteln).

Zum Rehydrieren des **Difco-Bordetella-pertussis-Antiserums** und des **Difco-Bordetella-parapertussis-Antiserums** 1 mL destilliertes oder deionisiertes Wasser zugeben und behutsam drehen, um den Inhalt vollständig zu lösen. Das rehydrierte Antiserum im Verhältnis 1 : 10 mit steriler 0,85%iger Kochsalzlösung verdünnen. Lediglich eine ausreichende Menge für den Testbedarf von 1 - 2 Tagen verdünnen. Das **Difco-Bordetella-pertussis-Antigen** ist gebrauchsfertig.

Testen des Isolats im Hinblick auf Autoagglutination

1. Eine Teil einer Öse voll Wachstum von der Testkultur auf nichtselektiven Medien zu einem Tropfen (ca. 35 µL) steriler 0,85%iger Kochsalzlösung auf einen sauberen Objektträger transferieren und den Organismus emulgieren.
2. Den Objektträger eine Minute lang drehen und anschließend im Hinblick auf Agglutination begutachten.
3. Falls es zu einer Agglutination (Autoagglutination) kommt, ist die Kultur grob und nicht zum Test geeignet. Eine Subkultur auf nichtselektivem Agar anlegen, inkubieren, und den Organismus erneut testen, wie in den Schritten 1 und 2 beschrieben.
4. Kommt es nicht zu einer Agglutination, mit dem Testen des Organismus fortfahren.

Testverfahren

1. 2 einzelne Tropfen (ca. 35 µL) des zu testenden **Difco-Bordetella-Antiserums** auf einen Agglutinations-Objektträger geben. Das erste Quadrat wird für das Testisolat verwendet; das zweite für die positive Kontrolle.
2. **Negative Kontrolle:** 1 Tropfen steriler 0,85%iger Kochsalzlösung abgeben.
3. **Testen des Isolats:** Von einem festen Agarmedium eine Teil einer Öse voll gut isolierter Kolonien zum ersten Antiserum-Tropfen und eine zweite Teil einer Öse voll zur negativen Kontrolle (0,85%ige Kochsalzlösung) transferieren.
4. **Positive Kontrolle:** 1 Tropfen **Difco-Bordetella-pertussis-Antigen** oder eine kleine Menge einer bekannten *B. pertussis*- oder *B. parapertussis*-Kultur zum zweiten Antiserum-Tropfen geben.
5. Jeden Reaktionsbereich für Test und Kontrollserum mit Hilfe eines Applikatorstäbchens mischen und 1 Min lang behutsam schwenken. Auf Agglutination überprüfen.

Qualitätssicherung durch den Anwender

Bei Anwendung sowohl positive als auch negative Antigen-Kontrollen durchführen, um die Leistung der Antiseren, die Techniken und die Methodik zu überprüfen.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten NCCLS-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

ERGEBNISSE

- Die Ergebnisse werden folgendermaßen abgelesen und dokumentiert:
 - 4+ 100%ige Agglutination; Hintergrund klar bis leicht trüb
 - 3+ 75%ige Agglutination; Hintergrund leicht wolkig
 - 2+ 50%ige Agglutination; Hintergrund mäßig wolkig
 - 1+ 25%ige Agglutination; Hintergrund wolkig
 - Keine Agglutination.
- Die positive Kontrolle sollte eine Agglutination des Grades 3+ oder stärker aufweisen.
- Die negative Kontrolle darf keine Agglutination aufweisen.
- Bei den Testisolaten stellt eine innerhalb 1 Min erfolgende Agglutination des Grades 3+ oder stärker ein positives Ergebnis dar.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

- Eine korrekte Interpretation der serologischen Reaktionen ist abhängig von der Reinheit der Kultur, morphologischen Eigenschaften und biochemischen Reaktionen, die der Identifizierung des Mikroorganismus als *Bordetella*-Spezies entsprechen.
- Serologische Methoden allein sind nicht ausreichend zur Identifizierung des Isolats als *Bordetella*-Spezies.
- Übermäßige Wärme aus externen Quellen (heiße bakteriologische Öse, Brennerflamme, Lichtquelle u. dgl.) kann die glatte Suspension des Mikroorganismus verhindern oder zum Verdunsten oder Ausfällen des Testgemischs führen. Es kann zu falsch positiven Reaktionen kommen.
- Grobe Kulturisolate sind möglich; sie agglutinieren spontan und führen zur Agglutination negativer Kontrollen (Autoagglutination). Es sind glatte Kolonien zu wählen und mit serologischen Verfahren zu testen.
- Das Fläschchen mit dem **Difco**-Bordetella-pertussis-Antigen vor Gebrauch gut schütteln, um eine glatte, einheitliche Suspension zu erzielen. Mitunter kann sich eine *Bordetella*-Suspension während der Aufbewahrung absetzen.
- Das **Difco**-Bordetella-pertussis-Antigen zeigt eine irreversible Autoagglutination, wenn es zu irgendeinem Zeitpunkt während des Versands oder der Aufbewahrung Gefriertemperaturen ausgesetzt war. Nicht gefrieren lassen.

LEISTUNGSMERKMALE

Die Empfindlichkeit von **Difco**-Bordetella-Antiseren wird, wie im Abschnitt "Ergebnisse" beschrieben, durch Demonstration der entsprechenden Reaktivität gegen eine Reihe gut charakterisierter homologer *B. pertussis*- und *B. parapertussis*-Kulturen mit bekannter Antigen-Reaktivität (siehe Tabelle unten) bestimmt. Die Spezifität wird durch Demonstration der Nichtreaktivität gegenüber nicht verwandten (heterologen) *B. pertussis* und *B. parapertussis*-Gruppen bestimmt.

Best.-Nr.	Produkt	Getestete homologe Kulturen
223091	Bordetella Pertussis Antiserum	<i>B. pertussis</i> 10536 MDH <i>B. pertussis</i> ATCC 12743 <i>B. pertussis</i> Malkiel NIH
223101	Bordetella Parapertussis Antiserum	<i>B. parapertussis</i> 32472 MDH <i>B. parapertussis</i> 170326 MDH <i>B. parapertussis</i> 17903 <i>B. parapertussis</i> Wolinski

LIEFERBARE PRODUKTE**Best.- Nr. Beschreibung**

- 223091 **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum, 1 mL
 223101 **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum, 1 mL
 225851 **Difco** Bordetella Pertussis Antigen, 5 mL

LITERATUR

Siehe den Abschnitt „References“ im englischen Text.



BD Difco Bordetella Antisera Difco Bordetella Antigens

Italiano

USO PREVISTO

L'uso di dell'antisiero **Difco** Bordetella Pertussis e dell'antisiero **Difco** Bordetella Parapertussis è indicato nei test di agglutinazione su piastra per l'identificazione di *Bordetella pertussis* e *Bordetella parapertussis*.

L'antigene **Difco** Bordetella Pertussis serve per dimostrare la positività del controllo di qualità nel test di agglutinazione su piastra.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

B. pertussis e *B. parapertussis* sono due specie di *Bordetella* isolate da soggetti umani. Questi organismi aderiscono alle cellule epiteliali cigliate delle vie respiratorie, tra le quali si moltiplicano e nelle quali si localizzano. La *B. pertussis* è la causa principale della tosse canina (o tosse convulsa) o pertosse. *B. parapertussis* viene associata ad una forma della malattia più lieve e meno frequente.¹ I dati provenienti dagli studi genetici molecolari mostrano che queste due specie non presentano differenze sufficienti per essere classificate come specie distinte. La principale differenza tra *B. pertussis* e *B. parapertussis* consiste nella produzione di tossine.

La pertosse classica viene descritta come una infezione delle vie respiratorie che induce nel paziente una tosse caratterizzata da un tipico "urlo". Il termine "tosse canina" è stato abbandonato quando si è constatato che non tutti i pazienti affetti da pertosse clinica sviluppano questa tosse caratteristica.

Le specie di *Bordetella* sono coccobacilli minuscoli, gram-negativi ed esclusivamente aerobi che si presentano singoli o in coppia e possono esibire un aspetto bipolare. Sebbene alcune specie siano mobili, *B. pertussis* e *B. parapertussis* sono immobili e non producono acidi a partire dai carboidrati. La *B. pertussis* non cresce su basi agar sangue comuni o su agar cioccolato, mentre la *B. parapertussis* cresce su agar sangue e talvolta su agar cioccolato. I terreni di coltura per l'isolamento primario includono amido, carbone dolce, resine a scambio ionico o un'elevata percentuale di sangue per disattivare le sostanze inibitorie.² *B. pertussis* può essere recuperata da secrezioni raccolte dalla rinofaringe posteriore, lavaggio broncoalveolare e campioni transbronchiali.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il riconoscimento delle specie di *Bordetella* include l'isolamento del microrganismo, l'identificazione biochimica e la conferma sierologica. La conferma sierologica include la reazione in cui il microrganismo (antigene) reagisce con l'anticorpo corrispondente. La reazione in vitro produce grumi macroscopici, un fenomeno chiamato agglutinazione. La reazione desiderata tra gli omologhi deve essere rapida, strettamente legata (alta affinità) e non dissociata (avidità elevata).

Esiste la possibilità di reazioni tra eterologhi, in quanto un microrganismo (antigene) può agglutinare un anticorpo prodotto in risposta ad alcune altre specie. Queste reazioni sono deboli e caratterizzate da formazione lenta; sono inoltre inaspettate e imprevedibili e possono causare una certa confusione nell'identificazione sierologica. Una reazione di agglutinazione positiva tra omologhi deve essere consistente con l'identificazione morfologica e biochimica del microrganismo.

REAGENTI

Difco Bordetella Pertussis Antiserum e **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum sono antisieri policlonali di coniglio liofilizzati, contenenti circa 0,04% di timerosal come conservante.

Difco Bordetella Pertussis è una sospensione di un ceppo selezionato di *B. pertussis*, contenente circa 0,04% di timerosal come conservante.

Ciascun flacone di **Difco** Bordetella Pertussis e **Difco** Bordetella Parapertussis antisera diluito 1:10, se correttamente reidratato e usato come descritto, contiene reagente sufficiente per circa 200 test su piastra.

Ciascun flacone di **Difco** Bordetella Pertussis Antigen, se usato come descritto, contiene reagente sufficiente per circa 140 test su piastra.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

La confezione di questo prodotto contiene gomma naturale secca.

Durante tutte le procedure, adottare tecniche asettiche e seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici. Dopo l'uso, sterilizzare in autoclave campioni, contenitori, vetrini, provette e tutti gli altri materiali contaminati. Seguire attentamente le istruzioni per l'uso.

Conservazione - Gli antisieri **Difco** Bordetella Pertussis e Bordetella Parapertussis liofilizzati e reidratati devono essere conservati a 2 - 8 °C.

Conservare l'antigene **Difco** Bordetella Pertussis a 2 - 8 °C.

L'esposizione prolungata dei reagenti a temperature diverse da quelle indicate può danneggiare i prodotti.

Deterioramento del prodotto - La data di scadenza si riferisce al prodotto in confezione integra e conservato come prescritto. Non usare il prodotto se appare indurito, scolorito o presenta altri segni di deterioramento.

L'antigene **Difco** Bordetella Pertussis è stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta, se conservato come descritto. L'esposizione a temperature inferiori a 2 °C può dar luogo ad autoagglutinazione. Gli antigeni devono trovarsi in sospensioni uniformi ed omogenee. Prima dell'utilizzo, esaminare l'agglutinazione dei flaconi di antigene. Le sospensioni che presentano agglutinazione non sono stabili e devono essere scartate.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Per l'isolamento della *Bordetella* è necessario utilizzare particolari terreni, come l'agar Bordet-Gengou. Per specifiche informazioni, consultare gli opportuni riferimenti.^{2,3} Stabilire che la coltura del microorganismo sia pura e che le reazioni biochimiche siano coerenti con l'identificazione dell'organismo come appartenente alle specie *Bordetella*. Una volta soddisfatti questi criteri è possibile eseguire l'identificazione sierologica.

Per l'analisi sierologica dell'isolato occorre effettuare una subcoltura da un terreno selettivo ad un agar non selettivo.

PROCEDURA

Materiali forniti - **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum, **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum e **Difco** Bordetella Pertussis Antigen.

Materiali necessari ma non forniti - Piastre per agglutinazione con quadrati da 2,5 cm (1 pollice), applicatori a bastoncino, soluzione fisiologica sterile allo 0,85%, acqua depurata e anse per inoculazione.

Preparazione dei reagenti

Prima di eseguire i test, lasciare equilibrare tutti i materiali a temperatura ambiente. Assicurarsi che tutta la vetreria e le pipette siano pulite e prive di residui di detergenti o altro.

Per reidratare l'antisiero **Difco** Bordetella Pertussis e l'antisiero **Difco** Bordetella Parapertussis, aggiungere 1 mL di acqua distillata o deionizzata e roteare con attenzione per dissolvere completamente il contenuto. Diluire l'antisiero reidratato 1:10 con soluzione fisiologica sterile allo 0,85%. Diluire solo un'aliquota sufficiente per 1 - 2 giorni di analisi.

L'antigene **Difco** Bordetella Pertussis è pronto per l'uso.

Test di agglutinazione dell'isolato

1. Dalla coltura su terreni non selettivi, prelevare con un'ansa una porzione di aliquota di crescita (circa 35 µL), trasferirla su una goccia di soluzione fisiologica sterile allo 0,85% su una piastra pulita ed emulsificare l'organismo.
2. Roteare il vetrino per 1 min e poi osservare l'agglutinazione.
3. Se si verifica agglutinazione (autoagglutinazione), la coltura è disomogenea e non può essere analizzata. Eseguire una subcoltura su agar non selettivo, incubare e testare di nuovo l'organismo come descritto nei passaggi 1 e 2.
4. Se l'agglutinazione non si verifica, procedere con il test sull'organismo.

Procedura del test

1. Su una piastra di agglutinazione dispensare 2 gocce separate (circa 35 µL ciascuna) dell'antisiero **Difco** Bordetella da analizzare. Il primo quadrato sarà utilizzato per l'isolato di prova e il secondo per il controllo positivo.
2. **Controllo negativo** - Dispensare 1 goccia di soluzione fisiologica sterile allo 0,85%.
3. **Isolato da testare** - Da un terreno agar solido, prelevare con un'ansa una porzione di aliquota di una colonia isolata e trasferirla sulla prima goccia di antisiero; prelevare quindi un'altra porzione e trasferirla nel controllo negativo (soluzione fisiologica allo 0,85%).
4. **Controllo positivo** - Dispensare sulla seconda goccia di antisiero 1 goccia di antigene **Difco** Bordetella Pertussis o una piccola aliquota di una coltura nota di *B. pertussis* o *B. parapertussis*.
5. Mescolare con un applicatore a bastoncino ciascuna area reattiva del test e del controllo e dondolare leggermente la piastra per 1 min. Leggere i risultati di agglutinazione.

Controllo di qualità a cura dell'utente

Al momento dell'uso, testare gli antigeni di controllo positivo e negativo per verificare le performance dell'antisiero, le tecniche e la metodologia.

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità in uso nel laboratorio. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione NCCLS in merito.

RISULTATI

- Leggere e registrare i risultati come segue.
 - 4+ 100% di agglutinazione (sfondo da trasparente a leggermente appannato)
 - 3+ 75% di agglutinazione (sfondo leggermente torbido)
 - 2+ 50% di agglutinazione (sfondo moderatamente torbido)
 - 1+ 25% di agglutinazione (sfondo torbido)
 - Nessuna agglutinazione
- Il controllo positivo deve fornire un risultato di agglutinazione pari a 3+ o superiore.
- Il controllo negativo non deve evidenziare alcuna agglutinazione.
- Per il test degli isolati, si considera positivo un risultato di agglutinazione pari a 3+ entro 1 min.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- La corretta interpretazione delle reazioni sierologiche dipende dalla purezza della coltura e dall'osservazione di caratteristiche morfologiche e reazioni biochimiche coerenti con l'identificazione del microrganismo come specie *Bordetella*.
- I metodi sierologici da soli non sono in grado di identificare l'isolato come specie *Bordetella*.
- Il calore eccessivo da fonti esterne (ansa batteriologica calda, fiamma di bruciatore, sorgente di illuminazione, ecc.) può impedire la sospensione omogenea del microrganismo o causare evaporazione o precipitazione della miscela da analizzare e dar luogo a reazioni false positive.
- Le colture disomogenee di isolati sono soggette ad agglutinazione spontanea con conseguente agglutinazione dei controlli negativi (autoagglutinazione). Le colture omogenee devono essere selezionate e testate in procedure sierologiche.
- Per ottenere una sospensione omogenea, agitare prima dell'uso il flacone di antigene **Difco** Bordetella Pertussis. A volte, è possibile che la sospensione di *Bordetella* si depositi durante la conservazione.
- L'antigene **Difco** Bordetella Pertussis è soggetto ad agglutinazione irreversibile se durante la spedizione viene esposto a temperature di congelamento. Non lasciare che il prodotto si congeli.

PRESTAZIONI METODOLOGICHE

La sensibilità degli antisieri **Difco** Bordetella viene determinata dimostrando l'appropriata reattività, definita nella sezione "Risultati", relativa ad una batteria di colture omologhe di *B. pertussis* e *B. parapertussis* ben caratterizzate con reattività antigenica nota (consultare tabella seguente). La specificità viene determinata dimostrando la non reattività con colture non legate alla *B. pertussis* e *B. parapertussis* (eterologhe).

N. di cat.	Prodotto	Colture omologhe testate
223091	Bordetella Pertussis Antiserum	<i>B. pertussis</i> 10536 MDH <i>B. pertussis</i> ATCC 12743 <i>B. pertussis</i> Malkiel NIH
223101	Bordetella Parapertussis Antiserum	<i>B. parapertussis</i> 32472 MDH <i>B. parapertussis</i> 170326 MDH <i>B. parapertussis</i> 17903 <i>B. parapertussis</i> Wolinski

DISPONIBILITÀ**N. di cat. Descrizione**

- 223091 **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum, 1 mL
 223101 **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum, 1 mL
 225851 **Difco** Bordetella Pertussis Antigen, 5 mL

BIBLIOGRAFIA

Vedere la sezione "References" nel testo inglese.



BD Difco Bordetella Antisera

Difco Bordetella Antigens

Español

USO PREVISTO

Se recomienda el uso de **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum y **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum en análisis de aglutinación en portaobjetos para la identificación de *Bordetella pertussis* y *Bordetella parapertussis*.

Difco Bordetella Pertussis Antigen se utiliza para demostrar una prueba de control de calidad positivo en el análisis de aglutinación en portaobjetos.

RESUMEN Y EXPLICACION

B. pertussis y *B. parapertussis* son dos especies de *Bordetella* que se han aislado a partir de muestras humanas. Estos organismos se adhieren a las células epiteliales ciliadas de las vías respiratorias, multiplicándose y permaneciendo localizados en ese medio. *B. pertussis* es la causa principal de la tos ferina. *B. parapertussis* está asociado con una forma más leve y menos frecuente de la enfermedad¹. Los datos que surgen de estudios genéticos moleculares demuestran que estas dos especies tal vez no sean suficientemente diferentes como para ser clasificadas como especies separadas. La producción de toxinas sigue siendo la diferencia más importante entre *B. pertussis* y *B. parapertussis*.

La tos ferina clásica se describe como una infección de las vías respiratorias en la que el paciente desarrolla una tos con un silbido característico. El término "tos ferina" dejó de utilizarse ya que no todos los pacientes con tos ferina clínica presentaban esta tos característica.

Las especies de *Bordetella* son bacilocos minúsculos, estrictamente aerobios y gram negativos que ocurren individualmente o en pares, y que pueden presentar un aspecto bipolar. Si bien algunas especies son móviles, *B. pertussis* y *B. parapertussis* son inmóviles. No producen ácido a partir de carbohidratos. *B. pertussis* no crecerá en bases de agar sangre comunes ni en agar chocolate, mientras que *B. parapertussis* sí crecerá en agar sangre y a veces en agar chocolate. Los medios para el aislamiento primario deben incluir almidón, carbono, resinas de intercambio iónico o un porcentaje elevado de sangre para desactivar las sustancias inhibitorias². La *B. pertussis* puede recuperarse a partir de secreciones recogidas a la nasofaringe posterior, el lavado bronqueoalveolar y muestras transbronquiales.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La identificación de especies de *Bordetella* incluye el aislamiento del microorganismo, la identificación bioquímica y la confirmación serológica. La confirmación serológica se produce mediante la reacción en la que el microorganismo (antígeno) reacciona con el anticuerpo correspondiente. La reacción *in vitro* produce la formación de grumos macroscópicos denominada aglutinación. La reacción homóloga deseada debe ser rápida, de unión fuerte (alta afinidad) y no disociativa (alta avidéz).

Dado que un microorganismo (antígeno) puede aglutinarse con un anticuerpo producido como respuesta a alguna otra especie, son posibles las reacciones heterólogas. Éstas se caracterizan por una formación lenta y por su debilidad, y tales reacciones inesperadas y quizás impredecibles podrían ocasionar algo de confusión en cuanto a la identificación serológica. Una reacción de aglutinación homóloga positiva debería apoyar la identificación morfológica y bioquímica del microorganismo.

REACTIVOS

Difco Bordetella Pertussis Antiserum y **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum son antiseros de conejo liofilizados y policlonales que contienen aproximadamente un 0,04% de timerosal como conservante.

Difco Bordetella Pertussis Antigen es una suspensión de una cepa seleccionada de *B. pertussis* que contiene aproximadamente un 0,04% de timerosal como conservante.

Quando se rehidrata correctamente y se utiliza según lo descrito, cada frasco de **Difco** Bordetella Pertussis Antigen y de **Difco** Bordetella Parapertussis Antigen con dilución 1:10 proporciona una cantidad suficiente de reactivo para realizar aproximadamente 200 pruebas en portaobjetos.

Quando se utiliza tal como se describe, cada frasco de **Difco** Bordetella Pertussis Antigen proporciona suficiente reactivo para realizar aproximadamente 140 pruebas en portaobjetos.

Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

El envase de este producto contiene goma natural seca.

Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todo el proceso. Después del uso, se deberán esterilizar muestras, envases, portaobjetos, tubos y demás material contaminado en autoclave. Es necesario seguir al pie de la letra las instrucciones de uso.

Conservación: Almacenar **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum y **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum liofilizados y rehidratados a 2-8 °C.

Almacenar **Difco** Bordetella Pertussis Antigen a 2 - 8 °C.

Una exposición prolongada de los reactivos a temperaturas diferentes de las especificadas es perjudicial para los productos.

Deterioro del producto: La fecha de caducidad se aplica al producto conservado en su envase intacto de la forma indicada. No utilizar si el producto está aglutinado o descolorido, o si evidencia otras señales de deterioro.

Difco Bordetella Pertussis Antigen es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta cuando se lo almacena tal como se describe. La exposición a temperaturas inferiores a 2 °C puede producir autoaglutinación. Los antígenos deben ser suspensiones uniformes homogéneas. Inspeccionar si los frascos de antígenos presentan aglutinación antes de su utilización. Las suspensiones que presenten aglutinación no son utilizables y deberán ser desechadas.

RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

El aislamiento de *Bordetella* requiere el uso de ciertos medios, tales como el agar Bordet-Gengou. Consultar las referencias correspondientes para obtener recomendaciones específicas^{2,3}. Determinar que se haya obtenido un cultivo puro del microorganismo y que las reacciones de las pruebas bioquímicas sean coherentes con la identificación del organismo como perteneciente a *Bordetella* spp. Una vez satisfechos estos criterios, se podrá realizar la identificación serológica.

Se debe realizar un subcultivo de la cepa aislada para las pruebas serológicas desde medios selectivos a un agar no selectivo.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: Difco Bordetella Pertussis Antiserum, Difco Bordetella Parapertussis Antiserum y Difco Bordetella Pertussis Antigen.

Materiales necesarios pero no suministrados: Portaobjetos de aglutinación con cuadrados de 1 pulgada, aplicadores, solución salina estéril al 0,85%, agua purificada y asas de inoculación.

Preparación del reactivo

Equilibrar todos los materiales a temperatura ambiente antes de realizar las pruebas. Asegurarse de que el material de vidrio y las pipetas estén limpios y libres de residuos, como, por ejemplo, detergente.

Para rehidratar **Difco** Bordetella Pertussis Antiserum y **Difco** Bordetella Parapertussis Antiserum, añadir 1 mL de agua destilada o desionizada y girar suavemente para disolver el contenido completamente. Diluir el antisuero rehidratado en una proporción 1:10 con solución salina estéril al 0,85%. Diluir sólo una cantidad suficiente para 1 a 2 días de requisitos de análisis.

Difco Bordetella Pertussis Antigen está listo para usar.

Análisis de la cepa aislada para determinar la autoaglutinación

1. A partir de un cultivo de prueba en agar no selectivo, transferir una parte de un asa entera de crecimiento a una gota (aproximadamente 35 µL) de solución salina estéril al 0,85% en un portaobjetos limpio y emulsionar el organismo.
2. Girar el portaobjetos durante 1 min y luego observar si se produce aglutinación.
3. Si ocurre la aglutinación (autoaglutinación), el cultivo es rugoso y no se podrá analizar. Realizar un subcultivo en agar no selectivo, incubarlo y repetir la prueba del organismo tal como se describe en los pasos 1 y 2.
4. Si no ocurre ningún tipo de aglutinación, realizar el análisis del organismo.

Procedimiento de análisis

1. En el portaobjetos de aglutinación, dosificar 2 gotas diferentes (de aproximadamente 35 µL cada una) de **Difco** Bordetella Antiserum para analizar. El primer cuadrado se utiliza para el aislado de prueba y el segundo, para el control positivo.
2. **Control negativo:** Dispensar 1 gota de solución salina estéril al 0,85%.
3. **Cepa aislada de análisis:** Desde un medio de agar sólido, transferir una parte de un asa entera de una colonia de la cepa aislada a la primera gota de antisuero y una segunda parte al control negativo (solución salina al 0,85%).
4. **Control positivo:** Añadir 1 gota de **Difco** Bordetella Pertussis Antigen o una cantidad pequeña de un cultivo conocido de *B. pertussis* o *B. parapertussis* a la segunda gota de antisuero.
5. Mezclar cada zona de la reacción del suero para análisis y para control con un aplicador, y agitar suavemente durante 1 min. Efectuar la lectura de aglutinación.

Control de calidad del usuario

En el momento de uso, aplicar controles de antígeno tanto positivos como negativos para comprobar el rendimiento de los antisueros, las técnicas y la metodología.

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de NCCLS y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

RESULTADOS

1. Lea y registre los resultados de la siguiente forma:

4+	100% de aglutinación (fondo transparente a ligeramente lechoso)
3+	75% de aglutinación (fondo ligeramente turbio)
2+	50% de aglutinación (fondo moderadamente turbio)
1+	25% de aglutinación (fondo turbio)
-	Sin aglutinación
2. El control positivo debe indicar una aglutinación de 3+ o mayor.
3. El control negativo no debe mostrar ningún indicio de aglutinación.
4. Para las cepas aisladas del análisis, un valor de aglutinación de 3+ o más al cabo de 1 min indica un resultado positivo.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. La interpretación correcta de las reacciones serológicas depende de la pureza del cultivo, de sus características morfológicas y de las reacciones bioquímicas que sean coherentes con la identificación del microorganismo como perteneciente a las especies *Bordetella*.
2. Los métodos serológicos por sí solos no pueden identificar la cepa aislada como perteneciente a las especies *Bordetella*.
3. El calor excesivo proveniente de fuentes externas (asa bacteriológica caliente, llama del mechero, fuente de luz, etc.) podría impedir la formación de una suspensión uniforme del microorganismo o causar la evaporación o precipitación de la mezcla de análisis. Pueden ocurrir reacciones positivas falsas.
4. Efectivamente ocurren cepas aisladas de cultivos rugosos, las cuales se aglutinarán espontáneamente, causando la aglutinación de los controles negativos (autoaglutinación). Es necesario seleccionar y analizar colonias uniformes en los procedimientos serológicos.
5. Agitar bien el frasco de **Difco** Bordetella Pertussis Antigen antes de usarlo para obtener una suspensión uniforme homogénea. Ocasionalmente es posible que se sedimente una suspensión de *Bordetella* durante el almacenamiento.
6. **Difco** Bordetella Pertussis Antigen presentará una autoaglutinación irreversible si, en cualquier momento durante el envío o almacenamiento, queda sometido a temperaturas de congelamiento. No congelar.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

La sensibilidad de **Difco** Bordetella Antiserum se determina al demostrar reactividad apropiada, como se define en la sección "Resultados", frente a un conjunto de cultivos de *B. pertussis* y *B. paraptussis* homólogos bien caracterizados, con reactividad antigénica conocida (consultar la tabla a continuación). La especificidad se determina al demostrar la falta de reactividad frente a cultivos de *B. pertussis* y *B. paraptussis* no relacionados (heterólogos).

Nº de catálogo	Producto	Cultivos homólogos analizados
223091	Bordetella Pertussis Antiserum	<i>B. pertussis</i> 10536 MDH <i>B. pertussis</i> ATCC™ 12743 <i>B. pertussis</i> Malkiel NIH
223101	Bordetella Paraptussis Antiserum	<i>B. paraptussis</i> 32472 MDH <i>B. paraptussis</i> 170326 MDH <i>B. paraptussis</i> 17903 <i>B. paraptussis</i> Wolinski

DISPONIBILIDAD**Nº de cat. Descripción**

223091	Difco Bordetella Pertussis Antiserum, 1 mL
223101	Difco Bordetella Paraptussis Antiserum, 1 mL
225851	Difco Bordetella Pertussis Antigen, 5 mL

REFERENCIAS

Véase la sección "Referencias" en el texto inglés.



Manufacturer / Producent / Fabrikant / Valmistaja / Fabricant / Hersteller /
Κατασκευαστής / Ditta produttrice / Fabrikant / Fabricante / Tillverkare



Use by / Anvendes før / Houdbaar tot / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant /
Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Usare entro / Brukes før / Utilizar em /
Usar antes de / Använd före /
YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutning af måned) /
JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) /
VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) /
AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) /
JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) /
EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) /
AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) /
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutten av måneden) /
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) /
aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutet på månaden)



Catalog number / Katalognummer / Catalogusnummer / Tuotenumero /
Numero catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Numero di
catalogo / Katalognummer / Numero do catalogo / Numero de catalogo /
Katalognummer



Authorized Representative in the European Community / Autoriseret
repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie /
Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Representant agree pour la C.E.E. /
Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην
Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea /
Autoriseret representant i EU / Representante autorizado na Uniao Europeia /
Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad
representant i EU



In Vitro Diagnostic Medical Device / In vitro diagnostisk medicinsk anordning /
Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / Lääkinnällinen in vitro -
diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches
In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo
medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr /
Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispositivo médico de
diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik



Temperature limitation / Temperaturbegrænsning / Temperaturlimiet /
Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich /
Όριο θερμοκρασίας / Temperatura limite / Temperaturbegrensning /
Limitação da temperatura / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning



Batch Code (Lot) / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Erakoodi (LOT) /
Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας
(Παρτίδα) / Codice del lotto (partita) / Batch-kode (Serie) / Código do lote
(Lote) / Codigo de lote (Lote) / Satskod (parti)



Contains sufficient for <n> tests / Indeholder tilstrækkeligt til <n> test /
Voldoende voor <n> tests / Sisältöön riittävä <n> testejä varten / Contenu
suffisant pour <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα
<n> εξετάσεις / Contenuto sufficiente per <n> test / Innholder tilstrekkelig for
<n> tester / Contêmo suficiente para <n> testes / Contenido suficiente para <n>
pruebas / Räckertill <n> antal tester



Consult Instructions for Use / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg
gebruiksaanwijzing / Tarkista kayttoohjeista / Consulter la notice d'emploi /
Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης /
Consultare le istruzioni per l'uso / Se i brugsanvisningen / Consulte as
instrucoes de utilizacao / Consultar las instrucciones de uso / Se
brugsanvisningen



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA
800-638-8663



BENEX Limited
Bay K 1a/d, Shannon Industrial Estate
Shannon, County Clare, Ireland
Tel: 353-61-47-29-20
Fax: 353-61-47-25-46

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
Difco is a trademark of Difco Laboratories, Inc., a subsidiary of
Becton, Dickinson and Company.

BD and BD Logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2003 BD.