BD Difco Vibrio Cholerae Antisera

S1279
2003/08
Dansk

Se symbolglossaret i slutningen af indlægssedlen.

TILSIGTET BRUG

Difco Vibrio Cholerae antisera anbefales ved agglutinationstests på objektglas til identifikation og serumtypebestemmelse af *Vibrio cholerae*.

RESUMÉ OG FORKLARING

V. cholerae er årsagsfaktoren i kolera. Sygdommens udbredelse sker primært gennem kontamineret vand og ad fækal-oral vej. Hvis sygdommen ikke behandles, kan patienter med svære tilfælde af kolera dø inden for fem timer af massivt væske- og elektrolyttab.[1] Da *Vibrio* arter er en naturlig del af vandmiljøer, kan fødevareprodukter som f.eks. ukogte fisk/skaldyr eller fisk/skaldyr, som håndteres forkert, sprede infektion.

Gastrointestinale symptomer på kolera omfatter "risvandtynde diarreer" forårsaget af et potent enterotoxin. Fra mennesker er det primære præparat fæces. Fiske-/skaldyrsprodukter testes hyppigt som bæremedier til human infektion.

Gardner og Ventkatraman[2] definerede identifikationen af *Vibrio cholerae* som anerkendelse af det somatiske antigen O1 (O gruppe 1) som bevidnet ved agglutination med O1 (polyvalent) antiserum.

V. cholerae fra O1 serumgruppen er opdelt i serumtyper: Ogawa, Inaba og Hikojima.[1,3] Antigenfaktorerne er:

Serumtype	O Antigenfaktorer
Ogawa	AB
Inaba	AC
Hikojima	ABC

V. cholerae er fakultativt anaerobe bakterier, som ved mikroskopisk morfologi er gram-negative buede eller lige baciller. Mikroorganismerne kræver enten natriumklorid eller vokser bedst i dets tilstedeværelse. Forskellige specielle medier, der er designet til at udvælge og dyrke denne mikroorganisme, anvendes i kliniske og fødevaremikrobiologilaboratorier samt til miljøtestning.

PROCEDURENS PRINCIPPER

Identifikation af *V. cholerae* omfatter isolering af mikroorganismen, biokemisk identifikation og serologisk bekræftelse.

Serologisk bekræftelse involverer reaktionen, hvor mikroorganismen (antigenet) reagerer med dens tilsvarende antistof. Denne *in vitro* reaktion frembringer makroskopisk sammenklumpning kaldet agglutination. Den ønskede homologe reaktion er hurtig, binder stærkt (høj affinitet) og ikke dissocierende (høj reaktionsvillighed).

Da en mikroorganisme (antigen) kan agglutinere med et antistof frembragt som respons på nogle andre arter, er heterologe reaktioner mulige. Disse karakteriseres som svage i styrke og langsomme i dannelse. Sådanne uventede og måske uforudsigelige reaktioner kan medføre usikkerhed ved den serologiske identifikation. En positiv, homolog agglutinationsreaktion bør derfor understøtte den morfologiske og biokemiske identifikation af mikroorganismen. Homologe reaktioner sker hurtigt og er kraftige. Heterologe reaktioner dannes langsomt og er svage.

REAGENSER

Difco Vibrio Cholerae antisera er stabile, lyofiliserede polyklonale *Vibrio cholerae* O1 antisera fra kanin indeholdende ca. 0,04 % Thimerosal som konserveringsmiddel. **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa og **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba er monospecifikke absorberede antisera.

Difco Vibrio Cholerae Antiserum Poly og den absorberede **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa og **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba indeholder de følgende antistoffer:

Antiserum	O Antistoffer
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Poly	ABC
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa	B
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Inaba	C

Når det rekonstitueres og anvendes som beskrevet, indeholder hvert hætteglas med **Difco** Vibrio Cholerae antisera tilstrækkeligt reagens til 20 objektglastests.

Advarsler og forholdsregler:

Til *in vitro* diagnostik.

Emballagen til dette produkt indeholder tør naturgummi.

Overhold aseptiske teknikker og fastlagte forholdsregler mod mikrobiologiske farer under alle procedurer. Efter brug skal præparater, beholdere, objektglas, glas og andet kontamineret materiale steriliseres ved autoklavering. Brugsanvisningen skal følges omhyggeligt.

Opbevaring: Opbevar lyofiliserede og rekonstituerede **Difco** Vibrio Cholerae antisera ved 2 – 8 ºC.

Længerevarende eksponering af reagenser for temperaturer ud over de specificerede nedbryder produkterne.

Rekonstitueret **Difco** Vibrio Cholerae antiserum, som er uklart eller har bundfald på noget tidspunkt i brugsperioden, bør kasseres.

Produktforringelse

Udløbsdatoen gælder for produktet i den intakte beholder, når det opbevares som anvist. Produktet må ikke bruges, hvis det er klumpet sammen, misfarvet eller viser andre tegn på nedbrydning.

PRØVEINDSAMLING OG KLARGØRING

Kliniske præparater:

V. cholerae kan isoleres fra kliniske præparater på selektive medier som f.eks. TCBS agar (thiosulfat-citrat-galdesalte -sakkaroseagar). Læs den relevante litteratur for specifikke anbefalinger.[4-6] Afgør at der er taget en ren kultur af mikroorganismen, og at de biokemiske testreaktioner er overensstemmende med identifikationen af organismen som *V. cholerae*. Når disse kriterier er opfyldt, kan den serologiske identifikation foretages.

Fødevarepræparater:

V. cholerae kan isoleres fra forskellige fødevaretyper, især fisk/skaldyr, når prøver behandles for at forhindre overvækst af konkurrerende mikroorganismer, og der anvendes selektive medier til at forbedre væksten af mikroorganismen. Der findes nogle isoleringsmedier, som er specifikt udviklet til fødevareindustrien. Læs den relevante litteratur for anbefalede procedurer, når der testes fødevareprøver.[7,8] Efter at en fastlagt protokol er fulgt, afgøres det, at der er taget en ren kultur af mikroorganismen, og at de biokemiske testreaktioner er i overensstemmelse med identifikation af organismen som *V. cholerae*. Når disse kriterier er opfyldt, kan der udføres serologisk identifikation.

Isolatet til serologisk testning skal videredyrkes fra selektive medier til en ikke-selektiv agar som f.eks. Nutrient Agar (Næringsstofagar).

PROCEDURE

Vedlagte materialer: Difco Vibrio Cholerae Antiserum Poly, **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa og **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba.

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt: Objektglas til agglutination, applikatorpinde og sterilt saltvand 0,85 %.

Rekonstituering/Klargøring af reagens:

Lad alle materialer nå stuetemperatur, inden testerne udføres. Sørg for at alle glasmaterialer og pipetter er rene og uden restmaterialer, som f.eks. vaskemidler.

Difco Vibrio Cholerae antiserum rekonstitueres ved at tilsætte 3 mL sterilt saltvand 0,85 % og forsigtigt vende glasset op og ned for at opløse indholdet fuldstændigt.

Test isolatet med henblik på autoagglutination:

1. Fra testkulturen på nonselektive medier overføres en løkkefuld vækst til en dråbe (ca. 35 µL) sterilt saltvand 0,85 % på et rent objektglas, og organismen emulgeres.
2. Vend objektglasset op og ned i 1 min og se efter agglutination.
3. Hvis der sker agglutination (autoagglutination), er kulturen grov og kan ikke testes. Lav en subkultur på nonselektiv agar, inkubér og test organismen igen som beskrevet i punkt 1 og 2.
4. Hvis der ikke sker agglutination, fortsættes der med testning af organismen.

Testprocedure

Brug **Difco** Vibrio Cholerae antiserum Poly til at screene mulige *V. cholerae* isolater. Fortsæt testning med **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa og **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba.

1. Læg en dråbe af **Difco** Vibrio Cholerae antiserum, der skal testes, på et agglutinationsobjektglas.
2. Overfør en løkkefuld vækst fra testorganismen til dråben med Antiserum og bland grundigt.
3. Vend objektglasset op og ned i 1 min og aflæs agglutination.

Brugerkvalitetskontrol

På anvendelsestidspunktet skal både positive og negative antigenkontroller testes for at kontrollere ydeevnen hos antisera, teknikker og metodologi.

Krav til kvalitetskontrol skal udføres i overensstemmelse med gældende lokale og/eller nationale regulativer eller akkrediteringskrav samt laboratoriets standardkvalitetskontrolprocedurer. Det anbefales at læse de relevante NCCLS-retningslinjer og CLIA-regulativer mht. passende kvalitetskontrolprocedurer.

RESULTATER

1. Aflæs og notér resultater som følger:
   4+ 100 % agglutination; baggrund klar til let tåget
   3+ 75 % agglutination; baggrund let uklar
   2+ 50 % agglutination; baggrund moderat uklar
   1+ 25 % agglutination; baggrund er uklar
   - Ingen agglutination
2. Den positive kontrol bør vise 3+ eller højere agglutination.
3. Den negative kontrol bør vise ingen agglutination.
4. For testisolaterne er en 3+ eller højere agglutination inden for 1 min et positivt resultat.

TOLKNING AF RESULTATER

1. Positiv agglutination ved hjælp af **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly med typiske biokemiske testresultater giver foreløbig identifikation af *V. cholerae* O1.
2. Kulturer med positiv agglutination i **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly kan serumtypebestemmes ved hjælp af **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa og **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba. Positiv agglutination i begge antisera er sjældent, og når det sker, fortolkes det normalt som identificering af *V. cholerae* serumtype Hikojima.[9] *V. cholerae* serumtype Hikojima er en sjælden serumtype og bør sendes til et referencelaboratorium med henblik på yderligere undersøgelse.
3. Positiv agglutination vil være øjeblikkelig og stærk. Den stærkeste og hurtigste reaktion bør bruges til at identificere serumtypen, fordi *V. cholerae* O1 stammer hyppigt krydsreagerer langsomt eller svagt i monospecifik Antiserum for den anden serumtype.
4. Isolater, der agglutinerer svagt eller langsomt med **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly og ikke med **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba eller **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa betragtes sædvanligvist som *V. cholerae* non-O1. Isolatet kan sendes til et referencelaboratorium med henblik på yderligere undersøgelse.

PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

1. Korrekt fortolkning af serologiske reaktioner afhænger af kulturens renhed, morfologiske egenskaber og biokemiske reaktioner, som er i overensstemmelse med identifikation af mikroorganismen som værende *V. cholerae*.
2. Serologiske metoder alene kan ikke identificere isolatet som værende *V. cholerae*.
3. Stærk varme fra ydre kilder (varm bakteriologisk løkke, brænderflamme, lyskilde osv.) kan forhindre en jævn suspension af mikroorganismen eller give fordampning eller bundfældning af testblandingen. Der kan forekomme falske positive reaktioner.
4. Grove kulturisolater forekommer og vil agglutinere spontant og give agglutination af den negative kontrol (autoagglutination). Jævne kolonier skal udvælges og testes i serologiske procedurer.
5. **Difco** Vibrio Cholerae antisera er blevet testet ved hjælp af ufortyndede kulturer taget fra agarmedier. Disse antisera er ikke blevet testet ved hjælp af antigensuspensioner i saltvand eller andre fortyndere. Hvis brugeren anvender variationer i de anbefalede punkter, skal hvert parti af Antiserum testes med kendte kontrolkulturer for at verificere forventede reaktioner under den modificerede procedure.
6. Rekonstitueret **Difco** Vibrio Cholerae antiserum, som er uklart eller har bundfald på noget tidspunkt i brugsperioden, bør kasseres.

FUNKTIONSDATA

Følsomheden af **Difco** Vibrio Cholerae antisera bestemmes ved at påvise relevant reaktivitet, som defineret i afsnittet "Resultater", mod en gruppe velkarakteriserede homologe *Vibrio cholerae* kulturer med kendt antigen reaktivitet (se tabellen herunder). Specificiteten bestemmes ved at påvise nonreaktivitet mod nonrelaterede (heterologe) *Vibrio cholerae* kulturer.

Kat. nr.	Produkt	Testede Homologe Kulturer
224321	Vibrio Cholerae Antiserum Poly	Hikojima 18 Hikojima 18ss Ogawa Bu93 Ogawa 1321 CDC Ogawa 20-A-11 Ogawa 11 CDC Ogawa VRL 628 Inaba 6 Inaba 11 CDC Inaba 35 A3NIH Inaba 6 CDC
224311	Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa	Ogawa Bu93 Ogawa 1321 CDC Ogawa 20-A-11 Ogawa 11 CDC Ogawa VRL 628
224301	Vibrio Cholerae Antiserum Inaba	Inaba 6 Inaba 11 CDC Inaba 35 A3NIH Inaba 6 CDC

BESTILLING

Kat. nr.	Beskrivelse
224321	**Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly, 3 mL
224311	**Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa, 3 mL
224301	**Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba, 3 mL

LITTERATUR

1. World Health Organization. 2001. Weekly Epidemiol. Record. *76*: 117-124.
2. Gardner, A.D., and K.V. Venkatraman. 1935. The antigen of the cholera group of vibrios. J. Hyg. *35*:262-282.
3. Nobechi, K. 1923. Contributions to the knowledge of *V. cholerae*. 3. Immunological studies upon the types of *V cholerae*. Sci. Repr. Govt. Inst. Infect. Dis. *2*:43-87.
4. Farmer III, J.J., J.M. Janda and K. Birkhead. 2003. *Vibrio*, p. 706-718. *In* P.R. Murray, E.J. Barron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Yolken (ed.), Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. 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.
6. Forbes, B.A., D.F. Sahm, A.S Weissfeld and E.A. Trevino. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis, Mo.
7. Kaysner, C.A. and A. DePaola, Jr. 2001. *Vibrio*, p. 405-420. *In* F.P Downes and K. Ito (ed.), Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
8. AOAC International. 2001. FDA bacteriological analytical manual online. <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-mm.html>.
9. Kelly, M.T., F.W. Hickman-Brenner and J.J Farmer III. 1991. *Vibrio*, p. 384-395. *In* A. Ballows, W.J. Hausler, K.L. Herrmann, H.D. Isenberg and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society of Microbiology, Washington, D.C.

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

IVD In Vitro Diagnostic Medical Device / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor *in vitro* diagnose / Lääkinnällinen *in vitro* - diagnostiikkalaite / 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

REF Catalog number / Katalognummer / Catalogusnummer / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Numero di catalogo / Katalognummer / Número do catálogo / Número de catálogo / Katalognummer

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

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

Use by / Anvendes før / Houdbaar tot / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηία 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)

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

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

Σ Contains sufficient for <n> tests / Indeholder tilstrækkeligt til <n> test / Voldoende voor <n> tests / Sisältöon 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 / Contémo suficiente para <n> testes / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester

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

EC REP 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

Difco is a trademark of Difco Laboratories, a subsidiary of Becton, Dickinson and Company.
BD and BD Logo are trademarks of Becton Dickinson and Company. © 2003 BD.