

BD Difco™ Shigella Antisera Poly

English: pages 1–4 Italiano: pagine 11–14

Français : pages 4–7 Español: páginas 14–17

Deutsch: Seiten 7–11

 8085884(05)
2017-03

R_x Only

Contact your local BD representative for instructions. / Свържете се с местния представител на BD за инструкции. / Pokyny vám poskytne miestni zástupce spoločnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Ota yhteyts lähimpään BD:n edustajaan ohjeiden saamiseksi. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / Нұсқаулар үшін жергілікті BD өкілімен хабарласыңыз. / Lai saņemtu norādījumus, sazinieties ar vietējo BD pārstāvi. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Neem contact op met uw plaatselijke BD-vertegenwoordiger voor instructies. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o reprezentante local da BD para instruções. / Pentru instrucțiuni, contactați reprezentantul local BD. / Для получения указаний обратитесь к местному представителю компании BD. / Instrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Kontakta närmaste BD-representant för anvisningar. / Talimatlar için yerel BD temsilcinizle temasa geçin. / За інструкціями зверніться до місцевого представника компанії BD.

INTENDED USE

BD Difco™ Shigella Antisera Poly are used for the identification of *Shigella* species by the slide agglutination test. BD Difco Alkaescens-Dispar Antiserum Poly is used for the identification of Alkaescens-Dispar Group of microorganisms by the slide agglutination test.

SUMMARY AND EXPLANATION

Shigella species cause the human diarrheal disease shigellosis (classic bacillary dysentery). The range of illness is from mild diarrhea to severe dysentery characterized by abdominal cramps and frequent passage of bloody, mucoid stools. While the disease is usually self-limiting, it can be life threatening to the young, the elderly and malnourished persons. *Shigella* species are carried primarily in humans and are not generally distributed in nature. While transmission is usually direct person-to-person and through contaminated water supplies, foodborne outbreaks do occur.

The genus *Shigella* belongs to the family *Enterobacteriaceae*. *Shigella* species are facultatively anaerobic, gram-negative bacilli that typically are oxidase negative, lactose negative, H₂S negative and non-gas producing. *Shigella* and *Escherichia* are genetically related. Certain strains of *E. coli* may resemble *Shigella* biochemically because both can be lactose-negative, nonmotile or non-gas producing. These anaerogenic, nonmotile types have historically been called the Alkaescens-Dispar group and are presently classified as biotypes of *E. coli*. Consult appropriate references for biochemical tests specific for differentiating these strains from *Shigella*.¹⁻⁶

Serological testing with polyvalent and group specific antisera should be used to confirm the identification of isolates that are morphologically and biochemically identified as *Shigella* species. *Shigella* species are nonmotile, so serological identification is based on somatic (O) antigens. However, some strains have envelope antigens that prevent agglutination in somatic antisera. Heating the suspension at 100 °C for 30–60 minutes destroys these interfering antigens. The four named species or serotypes of *Shigella* are *S. dysenteriae* (10 serovars), *S. flexneri* (six serovars), *S. boydii* (15 serovars) and *S. sonnei*. For a complete and current explanation of the classification of *Shigella*, consult appropriate references.^{1,2}

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

Identification of *Shigella* 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. This *in vitro* reaction produces macroscopic clumping called agglutination. The desired homologous reaction is rapid, does not dissociate (high avidity) and binds strongly (high affinity).

Because a microorganism (antigen) may agglutinate with antibodies produced in response to other species, heterologous reactions are possible. Such unexpected and, perhaps, unpredictable reactions may lead to some confusion in serological identification. Therefore, a positive homologous agglutination reaction should support the morphological and biochemical identification of the microorganism. Homologous reactions occur rapidly and are strong. Heterologous reactions form slowly and are weak.

REAGENTS

BD Difco Shigella Antisera Poly and BD Difco Alkaescens-Dispar Antiserum Poly are lyophilized, polyclonal rabbit antisera containing approximately 0.2% sodium azide as a preservative.

BD Difco Shigella Antisera Poly are absorbed when necessary to render each lot of serum as specific as practical. Antisera are absorbed to a certain point without reducing homologous reactions to an unsatisfactory level. They have been absorbed inter- and intra-specifically except that *Shigella* antisera are not prepared from or tested for:

- S. dysenteriae* provisional serotypes,
- S. flexneri* X and Y variants, or
- Alkaescens-Dispar Groups

Antiserum**Reacts with**

Shigella Antiserum Poly Group A	<i>S. dysenteriae</i> types 1–7
Shigella Antiserum Poly Group A1	<i>S. dysenteriae</i> type 8ab, 8ac, 9, 10
Shigella Antiserum Poly Group B	<i>S. flexneri</i> types 1–6
Shigella Antiserum Poly Group C	<i>S. boydii</i> types 1–7
Shigella Antiserum Poly Group C1	<i>S. boydii</i> types 8–13
Shigella Antiserum Poly Group C2	<i>S. boydii</i> types 14–18
Shigella Antiserum Poly Group D	<i>S. sonnei</i> I and II
Alkalescens-Dispar Antiserum Poly	Alkalescens-Dispar Groups 1,2,3 and 4

When rehydrated and used as described, each vial of **BD Difco** Shigella Antisera Poly and **BD Difco** Alkalescens-Dispar Antiserum Poly contains sufficient reagent for 60 slide tests.

Warnings and Precautions

For *in vitro* Diagnostic Use.

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.

WARNING: This product contains sodium azide. Sodium azide is toxic by inhalation, by skin contact, and if swallowed. Contact with acid liberates very toxic gas. After contact with skin, wash immediately with plenty of water. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.

Warning

H302 Harmful if swallowed.

P264 Wash thoroughly after handling. **P270** Do not eat, drink or smoke when using this product. **P301+P312** IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. **P330** Rinse mouth. **P501** Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

Storage

Store lyophilized and rehydrated **BD Difco** Shigella Antisera Poly and **BD Difco** Alkalescens-Dispar Antiserum Poly at 2–8 °C.

The expiration date applies to the product in its intact container when stored as directed.

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

Discard any antiserum that is cloudy or has a precipitate after rehydration or storage unless it can be clarified by centrifugation or filtration and demonstrates proper reactivity with validated positive and negative controls. Gross turbidity indicates contamination and such antisera should be discarded.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Clinical specimens: *Shigella* can be recovered on selective differential media such as Hektoen Enteric Agar or XLD Agar. For specific recommendations, consult appropriate references.²⁻⁴ 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 a *Shigella* species. After these criteria are met, serological identification can be performed.

Food samples: *Shigella* can be recovered from various types of foods when samples are processed to recover injured microorganisms and to prevent overgrowth of competing microorganisms. Consult appropriate references for recommended procedures when testing food samples.^{5,6} After following an established protocol, determine that a pure culture of the microorganism has been obtained. Biochemical test reactions should be consistent with the identification of the organism as a *Shigella* species. After these criteria are met, serological identification can be performed.

PROCEDURE

Materials Provided: **BD Difco** Shigella Antisera Poly, **BD Difco** Alkalescens-Dispar Antiserum Poly

Materials Required But Not Provided: Agglutination slides with 1-inch squares, Applicator sticks, Water Bath, boiling, Sterile 0.85% NaCl solution.

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, add 3 mL of sterile 0.85% NaCl solution and rotate gently to completely dissolve the contents.

Test isolate for autoagglutination

1. From the test culture on nonselective media, transfer a loopful of growth to a drop of sterile 0.85% saline on a clean slide and emulsify the organism.
2. Rotate the slide for one minute, 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

Use this procedure to test the isolate with each selected antiserum.

1. Dispense 1 drop (35 µL) of the antiserum to be tested on an agglutination slide.

- Negative control:** Dispense 1 drop of 0.85% sterile NaCl solution on an agglutination slide.
- From a solid agar medium, transfer a portion of a loopful of isolated colonies to each reaction area above and mix thoroughly.
- Quality control testing:** Dispense 1 drop of each **BD Difco** Shigella Antiserum to be tested on an agglutination slide. Add a portion of a loopful of an appropriate stock culture of known serological identification.
- Mix each reaction area with a separate applicator stick and rock for 1 minute. Read for agglutination.

User Quality Control

At the time of use, apply both homologous and heterologous controls to check performance of the antiserum, techniques and methodology. Stock cultures of known serological identification may be used as homologous and heterologous controls.

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 CLSI 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 test isolates, a 3+ or greater agglutination after 1 minute is a positive result.
- If no agglutination occurs or agglutination is weak, follow this procedure to remove blocking envelope antigens:
 - Prepare a dense suspension of the isolate from an agar medium in 3–5 mL of sterile 0.85% NaCl solution.
 - Heat in a boiling water bath for 30–60 minutes and cool. The suspension should not show precipitation after heating. If this occurs, select another colony for testing.
 - Centrifuge at 1,000 rpm for 10–15 minutes.
 - Aspirate and discard the supernatant.
 - Resuspend the sediment in 0.5 mL sterile 0.85% NaCl solution.
 - Use a drop of the suspension and perform the slide agglutination test as outlined above.
- A partial (less than 3+) or delayed agglutination reaction should be considered negative.
- If test results for either the quality controls or negative control are not as described, the test is invalid and results cannot be reported.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Correct interpretation of serological reactions depends on culture purity, morphological characteristics and biochemical reactions that are consistent with identification of the microorganism as a *Shigella* species.
- Serological methods alone cannot identify the isolate as a *Shigella* 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.
- BD Difco** Shigella Antiserum Poly and **BD Difco** Alkalescens-Dispar Antiserum Poly have been tested using cultures taken directly from agar media. These antisera have not been tested using antigen suspensions in NaCl solution or other diluents. If the user applies variations in the recommended steps, each lot of antiserum must be tested with known control cultures to verify expected reactions under the modified procedure.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance of **BD Difco** Shigella Antisera, manufactured by Difco Laboratories, was compared in slide agglutination tests to five other commercially available antisera and one commercially available latex agglutination test for serological grouping of *Shigella* in a study by Lefebvre, Gosselin, Ismail, Lorange, Lior and Woodward.⁷ Forty-six (46) *Shigella* reference strains, 50 clinical *Shigella* strains and 9 non-*Shigella* strains were used in this study.⁷

The table below lists the results obtained.

Product	Sensitivity ^a	Specificity ^b			
		Group A	Group B	Group C	Group D
BD Difco Antisera	94 (85/90)	99 (90/91)	96 (67/70)	100 (86/86)	98 (81/83)
Commercial Antisera #1	85 (66/78)	100 (94/94)	97 (68/70)	100 (95/95)	99 (82/83)
Commercial Antisera #2	93 (88/95)	97 (86/89)	97 (68/70)	95 (79/83)	95 (79/83)
Commercial Antisera #3	85 (71/84)	99 (96/97)	97 (68/70)	88 (76/86)	98 (81/83)
Commercial Antisera #4	47 (42/90)	100 (91/91)	100 (70/70)	100 (86/86)	99 (82/83)
Commercial Antisera #5	91 (77/85)	98 (91/93)	99 (69/70)	98 (87/89)	96 (80/83)
Latex Agglutination Test	91 (84/92)	100 (89/89)	100 (70/70)	100 (86/86)	99 (82/83)

a Denominators varied according to the number of homologous strains recognized by the commercial antisera.

b Total number of non-*Shigella* and heterologous *Shigella* strains tested.

In this study, for the strains evaluated, the overall sensitivity of the **BD Difco** Shigella Antisera was 94%. The specificity for **BD Difco** Shigella Group A was 99%, **BD Difco** Shigella Group B was 96%, **BD Difco** Shigella Group C was 100% and **BD Difco** Shigella Group D was 98%.⁷

In this study, cross-reactivity was observed between:

- *P. shigelloides* and group D antisera
- *H. alvei* and *S. flexneri* and group B antisera
- *E. coli* ATCC® 13706 and group D antisera
- *E. coli* 0157:H19 and group B antisera

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
228341	BD Difco ™ Shigella Antiserum Poly Group A, 3 mL
227761	BD Difco ™ Shigella Antiserum Poly Group A1, 3 mL
228351	BD Difco ™ Shigella Antiserum Poly Group B, 3 mL
228361	BD Difco ™ Shigella Antiserum Poly Group C, 3 mL
227771	BD Difco ™ Shigella Antiserum Poly Group C1, 3 mL
227781	BD Difco ™ Shigella Antiserum Poly Group C2, 3 mL
228371	BD Difco ™ Shigella Antiserum Poly Group D, 3 mL
228381	BD Difco ™ Alkaescens-Dispar Antiserum Poly, 3 mL

REFERENCES

1. Ewing, W.H. (ed.). 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York, N.Y.
2. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, A.S. Weissfeld and E.A. Trevino. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, Mo.
4. Pezzlo, M. (ed.). 1994. 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.
5. Association of Official Analytical Chemists. 2001. FDA Bacteriological analytical manual online. <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-mm.html>>.
6. Downes, F.P. and K. Ito (eds.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th edition. American Public Health Association, Washington, D.C.
7. Lefebvre, J., f. Gosselin, J. Ismail, M. Lorange, H. Lior and D. Woodward. 1995. Evaluation of commercial antisera for *Shigella* serogrouping. J. Clin. Microbiol. 33:1997-2001.

Technical Information: In the United States contact BD Technical Service and Support at 1.800.638.8663 or www.bd.com.

BD Difco Shigella Antisera Poly

Français

APPLICATION

Les **BD Difco** Shigella Antisera Poly (sérums anti-shigella polyvalents **BD Difco**) s'utilisent pour l'identification d'espèces de *Shigella* avec le test d'agglutination sur lame. Le **BD Difco** Alkaescens-Dispar Antiserum Poly (sérum anti-Alkaescens-Dispar polyvalent) s'utilise pour l'identification du groupe de microorganismes Alkaescens-Dispar avec le test d'agglutination sur lame.

RESUME ET EXPLICATION

Les espèces de *Shigella* provoquent la shigellose, maladie diarrhéique humaine (dysenterie bacillaire classique). Le degré de maladie varie entre une diarrhée légère et une dysenterie grave caractérisée par des coliques abdominales et le passage fréquent de selles glaireuses et sanglantes. Bien que cette maladie soit habituellement autolimitative, elle peut être dangereuse pour les individus jeunes, âgés et souffrant de malnutrition. Les espèces de *Shigella* sont portées principalement par les humains et ne sont pas généralement répandues dans la nature. Bien que la transmission ait lieu habituellement directement entre individus et par le biais d'une eau contaminée, des poussées d'origine alimentaire se produisent.

Le genre *Shigella* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Les espèces de *Shigella* sont des bacilles anaérobies facultatifs, Gram négatifs, typiquement oxydase négatifs, lactose négatifs, H₂S négatifs et ne produisant pas de gaz. La *Shigella* et l'*Escherichia* sont génétiquement apparentées. Il peut exister une ressemblance biochimique entre certaines souches d'*E. coli* et la *Shigella* parce qu'elles sont toutes deux lactose négatives, non motiles et ne produisent pas de gaz. Ces types anaérogènes et non motiles ont été historiquement dénommés groupe Alkaescens-Dispar et sont actuellement classifiés comme biotypes de l'*E. coli*. Consulter les références appropriées des tests biochimiques spécifiques pour différencier ces souches des *Shigella*.¹⁻⁶

Un test sérologique avec antisérums polyvalents et groupe spécifique doit être utilisé pour confirmer l'identification des isolats qui sont morphologiquement et biochimiquement identifiés comme des espèces de *Shigella*. Les espèces de *Shigella* sont non motiles, donc l'identification sérologique est basée sur les antigènes somatiques (O). Cependant, certaines souches ont des antigènes d'enveloppe qui empêchent une agglutination dans les antisérums somatiques. Faire chauffer la suspension à 100 °C pendant 30 à 60 min détruit ces antigènes interférents. Les quatre espèces nommées ou sérotypes de *Shigella* sont *S. dysenteriae* (dix sérotypes), *S. flexneri* (six sérotypes), *S. boydii* (15 sérotypes) et *S. sonnei*. Pour obtenir des explications complètes et à jour de la classification de la *Shigella*, consulter les références appropriées.^{1,2}

PRINCIPES DE LA METHODE

L'identification des espèces de *Shigella* 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 est rapide, ne dissocie pas (avidité élevée) et lie fermement (affinité 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 inattendues et, peut-être, imprévues peuvent conduire à une certaine confusion d'identification sérologique. Ainsi, une réaction d'agglutination homologue positive doit concorder avec l'identification du microorganisme sur la base de ses caractéristiques biochimiques et morphologiques. Les réactions homologues se produisent rapidement et sont élevées. Les réactions hétérologues se forment lentement et sont faibles.

REACTIFS

Les **BD Difco** Shigella Antisera Poly et le **BD Difco** Alkalescens-Dispar Antiserum Poly sont des antisérums de lapin polyclonaux lyophilisés, contenant environ 0,2 % d'azide de sodium comme conservateur.

Les **BD Difco** Shigella Antisera Poly sont absorbés lorsque c'est nécessaire, rendant ainsi chaque lot de sérum spécifique et pratique. Les antisérums sont absorbés jusqu'à un certain point sans réduire les réactions homologues à un niveau non satisfaisant. Ils ont été absorbés de façon inter et intraspécifique sauf les antisérums *Shigella* qui ne sont pas préparés à partir ou testés pour :

- les sérotypes provisoires de *S. dysenteriae*,
- les variants de *S. flexneri* X et Y, ou
- les groupes Alkalescens-Dispar

Antisérum	Réagit avec
Shigella Antiserum Poly Group A	<i>S. dysenteriae</i> de types 1 à 7
Shigella Antiserum Poly Group A1	<i>S. dysenteriae</i> de type 8ab, 8ac, 9, 10
Shigella Antiserum Poly Group B	<i>S. flexneri</i> de types 1 à 6
Shigella Antiserum Poly Group C	<i>S. boydii</i> de types 1 à 7
Shigella Antiserum Poly Group C1	<i>S. boydii</i> de types 8 à 13
Shigella Antiserum Poly Group C2	<i>S. boydii</i> de types 14 à 18
Shigella Antiserum Poly Group D	<i>S. sonnei</i> I et II
Alkalescens-Dispar Antiserum Poly	Groupes Alkalescens-Dispar 1, 2, 3 et 4

Lorsqu'ils sont réhydratés et utilisés selon la description, chaque flacon de **BD Difco** Shigella Antisera Poly et de **BD Difco** Alkalescens-Dispar Antiserum Poly contient un réactif suffisant pour 60 tests sur lame.

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Ce produit contient du caoutchouc naturel sec.

Toujours utiliser des techniques aseptiques 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.

AVERTISSEMENT : Ce produit contient de l'azide de sodium, qui est toxique par inhalation, contact avec la peau ou ingestion. Au contact d'un acide, un gaz très toxique est dégagé. Après tout contact avec la peau, laver immédiatement à grande eau. L'azide de sodium peut réagir au contact du plomb ou du cuivre des canalisations et former des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination, faire couler un volume d'eau important pour éviter l'accumulation d'azides.

Attention



H302 Nocif en cas d'ingestion.

P264 Se laver soigneusement après manipulation. **P270** Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit. **P301+P312** EN CAS D'INGESTION: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. **P330** Rincer la bouche. **P501** Éliminer le contenu/récipient conformément aux règlements locaux/régionaux/nationaux/internationaux.

Conservation

Conserver les **BD Difco** Shigella Antisera Poly et le **BD Difco** Alkalescens-Dispar Antiserum Poly lyophilisés et réhydratés à une température de 2 à 8 °C.

La date de péremption s'applique au produit contenu dans son emballage intact et conservé conformément aux instructions.

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

Jeter tout antisérum présentant un aspect trouble ou un précipité après la réhydratation ou le stockage, sauf s'il peut être clarifié par centrifugation ou filtration et si sa réactivité est correcte, avec des contrôles validés positifs et négatifs. Une turbidité visible est synonyme de contamination et, dans ce cas, l'antisérum doit être mis au rebut.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Echantillons cliniques : La *Shigella* peut être isolée sur des milieux sélectifs différentiels comme la gélose entérique de Hektoen ou la gélose XLD. Pour obtenir des recommandations spécifiques, consulter les références appropriées.²⁻⁴ Etablir qu'une culture pure de microorganismes a été obtenue et que les résultats des tests biochimiques concordent avec l'identification du microorganisme comme des espèces de *Shigella*. Si ces conditions sont remplies, l'identification sérologique peut être effectuée.

Echantillons alimentaires : La *Shigella* peut être isolée dans divers types d'aliments lorsque les échantillons sont traités pour isoler des microorganismes lésés et pour empêcher une croissance excessive de microorganismes concurrents. Consulter les références appropriées pour obtenir les procédures recommandées lors de tests d'échantillons alimentaires.^{5,6} Après avoir suivi un protocole établi, s'assurer qu'une culture pure de microorganismes a été obtenue. Les tests de réactions biochimiques doivent concorder avec l'identification de microorganismes tels que les espèces de *Shigella*. Si ces conditions sont remplies, l'identification sérologique peut être effectuée.

METHODE

Matériaux fournis : **BD Difco** Shigella Antisera Poly, **BD Difco** Alkalescens-Dispar Antiserum Poly

Matériaux requis mais non fournis : Lames à agglutination avec segments de 6,45 cm², écouvillons, bain-marie, solution stérile bouillante de NaCl à 0,85 %.

Préparation du réactif

Laisser tous les matériels s'équilibrer à température ambiante avant d'effectuer les tests. S'assurer que les objets en verre et les pipettes utilisées sont propres et exemptes de résidus (traces de détergent par exemple).

Pour réhydrater, ajouter 3 mL de solution stérile de NaCl à 0,85 % et faire tourner doucement jusqu'à dissolution complète du contenu.

Test d'autoagglutination de l'isolat

1. Transférer une pleine anse de culture bactérienne prélevée sur un milieu de culture non sélectif, dans une goutte de solution saline stérile à 0,85 % déposée sur une lame propre et émulsionner 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. Si aucune agglutination ne se produit, procéder au test du microorganisme.

Mode opératoire du test

Utiliser cette procédure pour tester l'isolat avec chaque antisérum sélectionné.

1. Déposer une goutte (35 µL) d'antisérum à tester sur une lame à agglutination.
2. **Contrôle négatif** : Déposer une goutte de solution stérile de NaCl à 0,85 % sur une lame à agglutination.
3. Transférer une portion d'une pleine anse de colonies isolées, prélevées sur un milieu gélosé solide, dans chaque zone réactionnelle ci-dessus et agiter vigoureusement.
4. **Test du contrôle de qualité** : Déposer une goutte du **BD Difco** Shigella Antiserum à tester sur une lame à agglutination. Ajouter une portion d'une pleine anse d'une souche d'identification sérologique connue.
5. Mélanger chaque zone réactionnelle avec un écouvillon séparé et agiter pendant une minute. Observer s'il se produit une réaction d'agglutination.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Tester dans la même série les témoins homologues et hétérologues pour contrôler les performances des antisérums, des techniques et de la méthodologie. Des souches d'identification sérologique connue peuvent être utilisées comme des contrôles antigènes homologues et hétérologues.

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 CLSI 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 témoin positif doit provoquer une agglutination de niveau 3+ ou supérieur.
3. Le témoin négatif ne doit présenter aucune agglutination.
4. S'agissant des isolats à tester, une agglutination de niveau 3+ ou supérieure après une minute constitue un résultat positif.
5. Si aucune agglutination ne se produit ou si l'agglutination est faible, se conformer à cette procédure pour retirer les antigènes d'enveloppe bloquant :
 - Préparer une suspension dense de l'isolat à partir d'une gélose dans 3 à 5 mL de solution stérile NaCl à 0,85 %.
 - Faire chauffer dans un bain-marie à ébullition pendant 30 à 60 min et laisser refroidir. Après avoir été chauffée, la suspension ne doit pas présenter de précipitation. Si cela se produit, sélectionner une autre colonie à tester.
 - Centrifuger à 1 000 tr/min pendant 10 à 15 min.
 - Aspirer et jeter le surnageant.
 - Remettre en suspension le culot dans 0,5 mL de solution stérile de NaCl à 0,85 %.
 - Utiliser une goutte de suspension et effectuer un test d'agglutination sur lame comme exposé ci-dessus.
6. Une réaction partielle (moins de 3+) ou retardée doit être considérée comme étant négative.
7. Si les résultats des tests des contrôles de qualité ou du contrôle négatif ne sont pas comme décrit, le test n'est pas valide et les résultats ne doivent pas être pris en compte.

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 une espèce *Shigella*.
2. Utilisées seules, les méthodes sérologiques ne suffisent pas à identifier un isolat comme étant une espèce *Shigella*.
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 l'évaporation ou la précipitation du mélange réactionnel. De faux positifs risquent d'être obtenus.
4. Des isolats de culture non purs sont parfois obtenus et provoquent une agglutination spontanée entraînant l'agglutination des témoins négatifs (autoagglutination). Choisir des colonies lisses et les tester suivant les méthodes sérologiques.
5. Les **BD Difco** Shigella Antiserum Poly et le **BD Difco** Alkalescens-Dispar Antiserum Poly ont été testés à l'aide de cultures prélevées directement sur gélose. Ces antisérums n'ont pas été testés sur des suspensions d'antigènes réalisées dans une solution NaCl ou d'autres diluants. Si l'utilisateur apporte des variations aux étapes recommandées, chaque lot d'antisérum doit être testé en utilisant des cultures témoins connues pour s'assurer que la méthode modifiée permet d'obtenir les résultats escomptés.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Les performances des sérums anti-*Shigella* **BD Difco**, fabriqués par les laboratoires Difco, ont été comparées dans des tests d'agglutination sur lame à cinq autres antisérums commercialisés et à un test d'agglutination au latex commercialisé pour le groupage sérologique de la *Shigella*, dans une étude menée par Lefebvre, Gosselin, Ismail, Lorange, Lior et Woodward.⁷ Quarante-six (46) souches de référence de *Shigella*, 50 souches cliniques de *Shigella* et neuf souches n'étant pas de *Shigella* ont été utilisées dans cette étude.⁷

Le tableau ci-dessous récapitule les résultats obtenus.

Produit	Sensibilité ^a	Sensibilité ^b			
		Groupe A	Groupe B	Groupe C	Groupe D
Antisérums BD Difco	94 (85/90)	99 (90/91)	96 (67/70)	100 (86/86)	98 (81/83)
Antisérums commercialisés n° 1	85 (66/78)	100 (94/94)	97 (68/70)	100 (95/95)	99 (82/83)
Antisérums commercialisés n° 2	93 (88/95)	97 (86/89)	97 (68/70)	95 (79/83)	95 (79/83)
Antisérums commercialisés n° 3	85 (71/84)	99 (96/97)	97 (68/70)	88 (76/86)	98 (81/83)
Antisérums commercialisés n° 4	47 (42/90)	100 (91/91)	100 (70/70)	100 (86/86)	99 (82/83)
Antisérums commercialisés n° 5	91 (77/85)	98 (91/93)	99 (69/70)	98 (87/89)	96 (80/83)
Test d'agglutination au latex	91 (84/92)	100 (89/89)	100 (70/70)	100 (86/86)	99 (82/83)

a Les dénominateurs varient en fonction du nombre de souches homologues reconnues par les antisérums commercialisés.

b Nombre total de souches non-*Shigella* et de souches de *Shigella* hétérologues.

Dans cette étude, pour les souches évaluées, la sensibilité globale des sérums anti-*Shigella* **BD Difco** était de 94 % et la spécificité du groupe A de *Shigella* **BD Difco** était de 99 %, du groupe B de *Shigella* **BD Difco** était de 96 %, du groupe C de *Shigella* **BD Difco** était de 100 % et du groupe D de *Shigella* **BD Difco** était de 98 %.⁷

Dans cette étude, une réactivité croisée a été observée entre :

- *P. shigelloides* et les antisérums du groupe D
- *H. alvei* et *S. flexneri* et les antisérums du groupe B
- *E. coli* ATCC 13706 et les antisérums du groupe D
- *E. coli* 0157:H19 les antisérums du groupe B

CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
228341	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group A, 3 mL
227761	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group A1, 3 mL
228351	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group B, 3 mL
228361	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group C, 3 mL
227771	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group C1, 3 mL
227781	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group C2, 3 mL
228371	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group D, 3 mL
228381	BD Difco Alkalescens-Dispar Antiserum Poly, 3 mL

BIBLIOGRAPHIE: voir la rubrique « Références » du texte anglais.

Service et assistance technique : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site www.bd.com.

BD Difco Shigella Antiserum Poly

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

BD Difco Shigella Antiserum Poly dienen zur Identifikation von *Shigella*-Spezies beim Objektträger-Agglutinationstest. **BD Difco** Alkalescens-Dispar Antiserum Poly dient zur Identifikation der Alkalescens-Dispar-Mikroorganismengruppe beim Objektträger-Agglutinationstest.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Die *Shigella*-Spezies verursacht beim Menschen Durchfallerkrankungen wie die klassische Bakterienruhr bzw. Dysenterie). Diese Durchfallerkrankungen reichen von milden Formen der Diarrhö bis zu schwerer Dysenterie und zeichnen sich durch abdominale Krämpfe und häufigen, blutigen, mukoiden Stuhlgang aus. Während die Krankheit üblicherweise selbstbegrenzend ist, kann sie für jüngere, ältere und unterernährte Menschen lebensbedrohlich sein. Der primäre Träger der *Shigella*-Spezies ist der Mensch; sie kommt im Allgemeinen nicht in der Natur vor. Während die Übertragung üblicherweise durch direkten Personenkontakt und durch kontaminierte Wasserleitungen erfolgt, kann es auch durch Nahrungsmittelaufnahme zu Ausbrüchen kommen.

Das Genus *Shigella* gehört zur Familie der *Enterobacteriaceae*. *Shigella*-Spezies sind fakultativ anaerobe, gramnegative Bazillen, die üblicherweise oxidasen negativ, laktosenegativ, H₂S-negativ und nicht gasbildend sind. *Shigella* und *Escherichia* sind genetisch verwandt. Bestimmte *E. coli*-Stämme können eine biochemische Ähnlichkeit mit *Shigella* haben, da beide laktosenegativ, nicht motil und nicht gasbildend sind. Diese anaerogenen, nicht motilen Typen wurden historisch als Alkaescens-Dispar-Gruppe bezeichnet und sind gegenwärtig als Biotypen von *E. coli* klassifiziert. Für biochemische Tests, speziell zur Unterscheidung dieser Stämme von *Shigella* die entsprechenden Quellen konsultieren.¹⁻⁶

Serologische Tests mit polyvalenten und gruppenspezifischen Antiseren sollten zur Bestätigung der Identifikation von Isolaten verwendet werden, die morphologisch und biochemisch als *Shigella*-Spezies identifiziert wurden. Da *Shigella*-Spezies nicht motil sind, basiert die serologische Identifizierung auf somatischen Antigenen (O-Antigenen). Dennoch verfügen einige Stämme über Hüllenantigene, die eine Agglutination bei somatischen Antiseren verhindern. Bei Erhitzen der Suspension auf 100 °C über einen Zeitraum von 30 bis 60 Min werden diese (die Reaktion beeinträchtigenden) Antigene zerstört. Die vier benannten Spezies oder Serumtypen von *Shigella* sind *S. dysenteriae* (10 Serovare), *S. flexneri* (6 Serovare), *S. boydii* (15 Serovare) und *S. sonnei*. Für eine umfassende und aktuelle Erklärung zur Klassifikation von *Shigella* die einschlägigen Quellen konsultieren.^{1,2}

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Die Identifizierung von *Shigella*-Spezies umfasst die Isolierung des Mikroorganismus, die biochemische Identifizierung und den serologischen Nachweis. Als serologischer Nachweis zählt die Reaktion, bei der der Mikroorganismus (Antigen) mit dem entsprechenden Antikörper reagiert. Bei dieser *In-vitro*-Reaktion kommt es zu makroskopischen Verklumpungen, der sogenannten Agglutination. Die gewünschteste homologe Reaktion sollte rasch, ohne Dissoziation (hohe Avidität) und mit fester Bindung (hoher Affinität) erfolgen.

Da ein Mikroorganismus (Antigen) auch mit Antikörpern agglutinieren kann, die als Reaktion auf andere Spezies gebildet wurden, sind heterologe Reaktionen möglich. Solche unerwarteten und evtl. unvorhersehbaren Reaktionen können bei der serologischen Identifizierung einige Verwirrung stiften. Aus diesem Grund sollte eine positive homologe Agglutinationsreaktion die morphologische und biochemische Identifizierung des Mikroorganismus unterstützen. Homologe Reaktionen laufen schnell und heftig ab. Heterologe Reaktionen laufen langsam und schwach ab.

REAGENZIEN

BD Difco *Shigella* Antisera Poly und **BD Difco** Alkaescens-Dispar Antiserum Poly sind stabile, lyophilisierte, polyklonale Kaninchen-Antiseren und enthalten ca. 0,2 % Natriumazid als Konservierungsmittel.

BD Difco *Shigella* Antisera Poly sind absorbiert, um, sofern dies erforderlich ist, jede Charge des Serums so spezifisch wie möglich zu machen. Antiseren werden bis zu einem bestimmten Punkt absorbiert, ohne die homologen Reaktionen auf ein unzureichendes Niveau zu verringern. Sie wurden inter- und intraspezifisch absorbiert, ohne dass *Shigella*-Antiseren vorbereitet oder für folgende Spezies getestet wurden:

S. dysenteriae, vorläufige Serumtypen,

S. flexneri X- und Y-Varianten oder

Alkaescens-Dispar-Gruppen

Antiserum	Reagiert mit
Shigella Antiserum Poly Group A	<i>S. dysenteriae</i> , Typ 1–7
Shigella Antiserum Poly Group A1	<i>S. dysenteriae</i> , Typ 8ab, 8ac, 9, 10
Shigella Antiserum Poly Group B	<i>S. flexneri</i> , Typ 1–6
Shigella Antiserum Poly Group C	<i>S. boydii</i> , Typ 1–7
Shigella Antiserum Poly Group C1	<i>S. boydii</i> , Typ 8–13
Shigella Antiserum Poly Group C2	<i>S. boydii</i> , Typ 14–18
Shigella Antiserum Poly Group D	<i>S. sonnei</i> I und II
Alkaescens-Dispar Antiserum Poly	Alkaescens-Dispar, Groups 1, 2, 3 und 4

Bei korrekter Rehydrierung und vorschriftsmäßiger Anwendung enthält jedes Fläschchen **BD Difco** *Shigella* Antisera Poly und **BD Difco** Alkaescens-Dispar Antiserum Poly eine ausreichende Reagenzienmenge für 60 Objektträger-Tests.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Dieses Produkt enthält Naturkautschuk (getrocknet).

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

WARNUNG: Dieses Produkt enthält Natriumazid, das beim Einatmen, bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken sehr giftig ist. Bei Kontakt mit Säure entstehen hochgiftige Gase. Bei Kontakt mit der Haut sofort mit viel Wasser abwaschen. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferleitungen reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen mit sehr viel Wasser nachspülen, um Ansammlungen von Azid zu vermeiden.

Achtung



H302 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.

P264 Nach Gebrauch gründlich waschen. **P270** Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen. **P301+P312** BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. **P330** Mund ausspülen. **P501** Inhalt/Behälter gemäß den örtlichen/regionalen/nationalen/internationalen Bestimmungen entsorgen.

Aufbewahrung

Lyophilisierte und rehydrierte **BD Difco** Shigella Antisera Poly und **BD Difco** Alkalescens-Dispar Antiserum Poly bei 2 bis 8 °C aufbewahren.

Das angegebene Verfallsdatum gilt für das in der ungeöffneten Packung aufbewahrte Produkt bei Einhaltung der Lagervorschriften.

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

Trübe Antiseren oder solche, die nach Rehydrierung oder Aufbewahrung Niederschläge zeigen, sind zu entsorgen, es sei denn, sie können durch Zentrifugieren und Filtrieren geklärt werden und zeigen einwandfreie Reaktivität mit validierten positiven und negativen Kontrollen. Starke Trübung ist ein Hinweis auf Kontamination und Antiseren, die diese aufweisen, sollten entsorgt werden.

PROBENTNAHME UND -VORBEREITUNG

Klinische Proben: *Shigella* kann aus selektiven differenzierten Medien, wie beispielsweise Hektoen-Enteric-Agar oder XLD-Agar gewonnen werden. Bezüglich spezifischer Empfehlungen die einschlägigen Quellen konsultieren.²⁻⁴ Sicherstellen, dass eine Reinkultur des Mikroorganismus gewonnen wurde, und dass die biochemischen Testreaktionen der Identifizierung des Organismus als *Shigella*-Spezies entsprechen. Wenn diese Kriterien erfüllt sind, kann die serologische Identifizierung durchgeführt werden.

Nahrungsmittelproben: *Shigella* kann aus einer Vielzahl von Nahrungsmitteln gewonnen werden, wenn bei den Proben das Überwachsen durch konkurrierende Mikroorganismen verhindert wird und die Wiedergewinnung verletzter Mikroorganismen gewährleistet ist. Für Empfehlungen zum Testen von Nahrungsmittelproben einschlägige Quellen konsultieren.^{5,6} Nach dem Befolgen eines etablierten Protokolls sicherstellen, dass eine Reinkultur des Mikroorganismus gewonnen wurde. Die biochemischen Testreaktionen sollten der Identifizierung des Organismus als *Shigella*-Spezies entsprechen. Wenn diese Kriterien erfüllt sind, kann die serologische Identifizierung durchgeführt werden.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: **BD Difco** Shigella Antisera Poly, **BD Difco** Alkalescens-Dispar Antiserum Poly

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Agglutinations-Objektträger mit 6,45 cm², Applikatorstäbchen, kochendes Wasserbad, sterile 0,85 %-ige NaCl-Lösung.

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 3 mL sterile 0,85 %ige NaCl-Lösung zugeben und behutsam drehen, um den Inhalt vollständig zu lösen.

Testen des Isolats im Hinblick auf Autoagglutination

1. Eine Impföse voll Wachstum von der Testkultur auf nichtselektivem Agar zu einem Tropfen 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 Testen geeignet. Eine Subkultur auf nichtselektivem Agar anlegen, inkubieren und den Organismus erneut wie in den Schritten 1 und 2 beschrieben testen.
4. Kommt es nicht zu einer Agglutination, mit dem Testen des Organismus fortfahren.

Testverfahren

Dieses Verfahren zum Testen des Isolats mit jedem ausgewählten Antiserum verwenden.

1. Einen Tropfen (35 µL) des zu testenden Antiserums auf einen Agglutinations-Objektträger geben.
2. **Negative Kontrolle:** Einen Tropfen 0,85%iger NaCl-Lösung auf einen Agglutinations-Objektträger geben.
3. Von einem festen Agarmedium einen Teil einer Öse voll isolierter Kolonien auf jeden der oben genannten Reaktionsbereiche geben und gründlich durchmischen.
4. **Qualitätskontrolle:** Einen Tropfen des zu testenden **BD Difco** Shigella Antiserums auf einen Agglutinations-Objektträger geben. Einen Teil einer Öse einer geeigneten Stammkultur mit bekannter serologischer Identifikation hinzufügen.
5. Jeden Reaktionsbereich mit einem separaten Applikatorstäbchen mischen und 1 Min lang schwenken. Auf Agglutination überprüfen.

Qualitätssicherung durch den Anwender

Bei Anwendung sowohl homologe als auch heterologe Kontrollen einsetzen, um die Leistung des Antiserums, die Techniken und die Methodik zu überprüfen. Stammkulturen bekannter serologischer Identifikation können als homologe sowie heterologe Kontrollen verwendet werden.

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 CLSI-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 nach 1 Min erfolgte Agglutination des Grades 3+ oder stärker ein positives Ergebnis dar.
- Wenn keine Agglutination oder nur eine schwache Agglutination erfolgt, folgendes Verfahren anwenden, um die blockierenden Hüllenantigene zu entfernen:
 - Eine dichte Suspension des Isolats von einem Agarmedium in 3–5 mL steriler 0,85 %iger NaCl-Lösung vorbereiten.
 - 30–60 Min in einem kochenden Wasserbad erhitzen, dann abkühlen lassen. Die Suspension darf nach dem Erhitzen keinen Niederschlag zeigen. Sollte dies doch der Fall sein, eine andere Kolonie zum Testen auswählen.
 - Bei 1.000/Min 10 bis 15 Min lang zentrifugieren.
 - Den Flüssigkeitsüberstand aspirieren und entsorgen.
 - Das Sediment in 0,5 mL steriler 0,85 %iger NaCl-Lösung erneut suspendieren.
 - Einen Tropfen der Suspension verwenden und den Objektträger Agglutinationstest wie oben beschrieben durchführen.
- Eine teilweise (weniger als 3+) oder verzögerte Agglutinationsreaktion ist als negativ zu bewerten.
- Wenn die Ergebnisse der Qualitätskontrollen oder der negativen Kontrolle nicht wie beschrieben ausfallen, ist der Test ungültig und die Ergebnisse können nicht gemeldet werden.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

- Eine korrekte Interpretation der serologischen Reaktionen ist abhängig von der Reinheit der Kultur, den morphologischen Eigenschaften und biochemischen Reaktionen, die der Identifizierung des Mikroorganismus als *Shigella*-Spezies entsprechen.
- Serologische Methoden allein sind nicht ausreichend zur Identifizierung des Isolats als *Shigella*-Spezies.
- Übermäßige Wärme aus externen Quellen (heiße bakteriologische Öse, Brennerflamme, Lichtquelle o. ä.) 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.
- BD Difco** *Shigella* Antisera Poly und **BD Difco** *Alkalescens*-Dispar Antiserum Poly wurden unter Verwendung von Kulturen direkt vom Agarmedium getestet. Diese Antisera wurden nicht mit Antigen-Suspensionen in NaCl-Lösung oder sonstigen Verdünnungsmitteln getestet. Weicht der Anwender von den empfohlenen Schritten ab, ist jede Charge des Antiserums mit bekannten Kontrollkulturen zu testen, um die erwarteten Reaktionen bei dem modifizierten Verfahren zu bestätigen.

LEISTUNGSMERKMALE

Die Leistung von **BD Difco** *Shigella* Antisera, hergestellt von Difco Laboratories, wurde in einer Studie von Lefebvre, Gosselin, Ismail, Lorange, Lior und Woodward in Objektträger-Agglutinationstests mit fünf anderen handelsüblichen Antisera und einem handelsüblichen Latex-Agglutinationstest für die serologische Gruppierung von *Shigella* verglichen.⁷ In dieser Studie wurden sechszwanzig (46) *Shigella*-Referenzstämme, 50 klinische *Shigella*-Stämme und 9 Nicht-*Shigella*-Stämme verwendet.⁷

Die nachstehende Tabelle führt die dabei erhaltenen Ergebnisse auf.

Produkt	Sensibilität ^a	Spezifität ^b			
		Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C	Gruppe D
BD Difco Antiserum	94 (85/90)	99 (90/91)	96 (67/70)	100 (86/86)	98 (81/83)
Handelsübliche Antisera Nr. 1	85 (66/78)	100 (94/94)	97 (68/70)	100 (95/95)	99 (82/83)
Handelsübliche Antisera Nr. 2	93 (88/95)	97 (86/89)	97 (68/70)	95 (79/83)	95 (79/83)
Handelsübliche Antisera Nr. 3	85 (71/84)	99 (96/97)	97 (68/70)	88 (76/86)	98 (81/83)
Handelsübliche Antisera Nr. 4	47 (42/90)	100 (91/91)	100 (70/70)	100 (86/86)	99 (82/83)
Handelsübliche Antisera Nr. 5	91 (77/85)	98 (91/93)	99 (69/70)	98 (87/89)	96 (80/83)
Latex-Agglutinationstest	91 (84/92)	100 (89/89)	100 (70/70)	100 (86/86)	99 (82/83)

a Die Nenner variierten je nach Anzahl der homologen, von den handelsüblichen Antisera erkannten Stämmen.

b Gesamtzahl der getesteten Nicht-*Shigella*-Stämme und heterologen *Shigella*-Stämme.

In dieser Studie betrug die Gesamtsensibilität (für alle bewerteten Stämme) der **BD Difco** *Shigella* Antisera 94 % und die Spezifität der **BD Difco** *Shigella* Group A 99 %, die der **BD Difco** *Shigella* Group B 96 %, der **BD Difco** *Shigella* Group C 100 % und der **BD Difco** *Shigella* Group D 98 %.⁷

In dieser Studie wurde keine Kreuzreaktion beobachtet zwischen:

- *P. shigelloides* und Antiseren der Gruppe D
- *H. alvei* und *S. flexneri* und Antiseren der Gruppe B
- *E. coli* ATCC 13706 und Antiseren der Gruppe D
- *E. coli* 0157:H19 und Antiseren der Gruppe B

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

228341	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group A, 3 mL
227761	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group A1, 3 mL
228351	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group B, 3 mL
228361	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group C, 3 mL
227771	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group C1, 3 mL
227781	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group C2, 3 mL
228371	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group D, 3 mL
228381	BD Difco Alkalescens-Dispar Antiserum Poly, 3 mL

LITERATURNACHWEIS: S. „References“ im englischen Text.

Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung in Verbindung oder besuchen Sie www.bd.com.

BD Difco Shigella Antisera Poly

Italiano

USO PREVISTO

Shigella Antisera Poly **BD Difco** sono utilizzati per l'identificazione di specie *Shigella* tramite la prova di agglutinazione in vetrino. Alkalescens-Dispar Antiserum Poly **BD Difco** è utilizzato per l'identificazione del gruppo di microrganismi Alkalescens-Dispar tramite la prova di agglutinazione in vetrino.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Le specie *Shigella* provocano il disturbo della diarrea umana chiamata shigellosi (dissenteria bacillare classica). La varietà di malattie va dalla diarrea leggera alla dissenteria grave caratterizzata da crampi addominali e presenza frequente di sangue e muco nelle feci. Tale disturbo, pur essendo di solito auto-limitante, può essere letale per le persone giovani, anziane e malnutrite. Le specie *Shigella* vengono trasmesse principalmente da esseri umani e non sono in genere distribuiti in natura. Mentre la trasmissione è normalmente diretta tra persone e per mezzo di risorse idriche contaminate, si verificano focolai veicolati da cibi.

Il genere *Shigella* appartiene alla famiglia *Enterobacteriaceae*. Le specie *Shigella* sono bacilli occasionalmente anaerobi, gram-negativi, tipicamente negativi all'ossidasi, al lattosio, all'H₂S, e non producono gas. La *Shigella* e l'*Escherichia* sono geneticamente collegati. Alcune famiglie di *E. coli* possono assomigliare alla *Shigella* dal punto di vista biochimico in quanto al pari di questa possono essere negative al lattosio, non mobili e non produttori di gas. Queste tipologie anaerogene e non mobili hanno la denominazione storica di gruppo Alkalescens-Dispar e sono attualmente classificate come biotipi di *E. coli*. Consultare i riferimenti opportuni per le prove biochimiche specifiche per la differenziazione di queste famiglie dalla *Shigella*.¹⁻⁶

Per confermare il riconoscimento degli isolati morfologicamente e biochimicamente riconosciuti come specie *Shigella*, dovranno essere impiegate prove sierologiche con antisieri polivalenti e specifici per gruppi. Le specie *Shigella* sono non mobili, per cui il riconoscimento sierologico si basa sugli antigeni somatici (O). Tuttavia, alcune famiglie hanno antigeni di copertura che impediscono l'agglutinazione negli antisieri somatici. Riscaldando la sospensione fino a 100 °C per 30–60 min, si distruggono questi antigeni di interferenza. Le quattro specie designate o sierotipi di *Shigella* sono *S. dysenteriae* (10 serovar), *S. flexneri* (sei serovar), *S. boydii* (15 serovar) e *S. sonnei*. Per una spiegazione completa e attuale della classificazione di *Shigella*, consultare gli opportuni riferimenti bibliografici.^{1,2}

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il riconoscimento delle specie di *Shigella* 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. Questa reazione *in vitro* produce grumi macroscopici, un fenomeno chiamato agglutinazione. La reazione tra omologhi desiderata avviene con rapidità, non è dissociante (elevata avidità) e fortemente legante (elevata affinità).

Esiste la possibilità di reazioni tra eterologhi, in quanto un microrganismo (antigene) può agglutinare un anticorpo prodotto in risposta ad alcune altre specie. Simili reazioni, impreviste e forse imprevedibili, possono generare confusione nel riconoscimento sierologico. Una reazione di agglutinazione positiva tra omologhi deve essere coerente con l'identificazione morfologica e biochimica del microrganismo. Le reazioni tra omologhi hanno un rapido svolgimento e sono resistenti. Le reazioni tra eterologhi sono deboli e la loro formazione è lenta.

REAGENTI

Shigella Antisera Poly **BD Difco** e Alkalescens-Dispar Antiserum Poly **BD Difco** sono antisieri liofilizzati estratti da colture policlonali di cellule di coniglio contenenti circa 0,2% di sodio azide come conservante.

Shigella Antisera Poly **BD Difco** sono assorbiti quando necessario per conferire ad ogni lotto di siero praticità e specificità. Gli antisieri sono assorbiti fino ad un certo punto senza ridurre le reazioni tra omologhi fino ad un livello insoddisfacente. Essi sono stati assorbiti in maniera inter- e intra- specifica indipendentemente dal fatto che gli antisieri *Shigella* non siano preparati o provati:

Sierotipi provvisori di *S. dysenteriae*,
varianti di *S. flexneri* X e Y, o
Gruppi Alkalescens-Dispar

Antisiero

Shigella Antiserum Poly Gruppo A
Shigella Antiserum Poly Gruppo A1
Shigella Antiserum Poly Gruppo B
Shigella Antiserum Poly Gruppo C
Shigella Antiserum Poly Gruppo C1
Shigella Antiserum Poly Gruppo C2
Shigella Antiserum Poly Gruppo D
Alkalescens-Dispar Antiserum Poly

Reagisce con

Tipi *S. dysenteriae* 1-7
S. dysenteriae tipo 8ab, 8ac, 9, 10
Tipi *S. flexneri* 1-6
Tipi *S. boydii* 1-7
Tipi *S. boydii* 8-13
Tipi *S. boydii* 14-18
S. sonnei I e II
Gruppi Alkalescens-Dispar 1,2,3 e 4

Se reidratati e utilizzati nel modo descritto, ogni fiala di Shigella Antiserum Poly **BD Difco** e Alkalescens-Dispar Antiserum Poly **BD Difco** contiene reagente sufficiente per 60 prove in vetrino.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Questo prodotto contiene gomma naturale secca.

Durante tutte le procedure, adottare tecniche aseptiche 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.

AVVERTENZA: Questo prodotto contiene sodio azide, tossica per inalazione, ingestione e a contatto con la pelle. A contatto con acido, libera gas estremamente tossici. In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente e abbondantemente con acqua. La sodio azide può reagire con il piombo e il rame delle tubature, formando azidi metalliche altamente esplosive. Eliminare la sodio azide facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi per impedire l'accumulo di azidi.

Attenzione



H302 Nocivo se ingerito.

P264 Lavarsi accuratamente dopo l'uso. **P270** Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso. **P301+P312** IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. **P330** Sciacquare la bocca. **P501** Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alle normative locali/regionali/nazionali/internazionali.

Conservazione

Conservare Shigella Antiserum Poly **BD Difco** e Alkalescens-Dispar Antiserum Poly **BD Difco** ad una temperatura di 2-8 °C.

La data di scadenza si riferisce al prodotto in confezione integra e conservato come prescritto.

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

Eliminare gli antisieri torbidi o che presentano un precipitato dopo la reidratazione o la conservazione, a meno che non possano essere chiarificati tramite centrifugazione o filtrazione e mostrino una reattività adeguata a controlli positivi e negativi validati. Gli antisieri che presentano una torbidità macroscopica sono contaminati e pertanto devono essere eliminati.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Accuratezza clinica: è possibile rintracciare la *Shigella* su diversi supporti selettivi come Hektoen Enteric Agar o XLD Agar. Per specifiche informazioni, consultare gli opportuni riferimenti.²⁻⁴ Stabilire che la coltura del microorganismo sia pura e che le reazioni biochimiche siano coerenti con l'identificazione dell'organismo come appartenente alle specie *Shigella*. Una volta soddisfatti questi criteri è possibile eseguire l'identificazione sierologica.

Campioni alimentari: è possibile rintracciare la *Shigella* in varie tipologie di cibo nel caso in cui i campioni siano lavorati per recuperare microrganismi lesionati e per impedire lo sviluppo eccessivo dei microrganismi concorrenti. Nell'effettuare prove su campioni alimentari, consultare gli opportuni riferimenti relativi alle procedure consigliate.^{5,6} Dopo aver seguito una procedura prestabilita, determinare che la coltura del microorganismo sia pura. Le reazioni biochimiche di prova dovranno essere coerenti con l'identificazione dell'organismo come appartenente alle specie *Shigella*. Una volta soddisfatti questi criteri è possibile eseguire l'identificazione sierologica.

PROCEDIMENTO

Materiali forniti - BD Difco Shigella Antiserum Poly, **BD Difco** Alkalescens-Dispar Antiserum Poly.

Materiali necessari ma non forniti - Vetrini di agglutinazione di 6,45 cm², stick di applicazione, bagnomaria bollente, soluzione sterile allo 0,85% di NaCl.

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, aggiungere 3 mL di soluzione sterile allo 0,85% di NaCl e roteare leggermente per dissolvere completamente il contenuto.

Test di agglutinazione dell'isolato

1. Dalla coltura su supporto non selettivo, prelevare con un'ansa un'aliquota di crescita, trasferirla su una goccia di soluzione fisiologica sterile allo 0,85% su un vetrino pulito ed emulsificare l'organismo.
2. Roteare il vetrino per 1 minuto 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

Utilizzare la seguente procedura per testare l'isolato con ciascun antisiero selezionato.

1. Dispensare su una piastra di agglutinazione 1 goccia (35 μ L) dell'antisiero da analizzare.
2. **Controllo negativo:** dispensare 1 goccia di soluzione sterile di NaCl allo 0,85% su una piastra di agglutinazione.
3. Da un terreno agar solido, trasferire una parte di un'ansata di colonie isolate su ciascuna area di reazione di cui sopra e miscelare accuratamente.
4. **Test di controllo qualità:** dispensare 1 goccia di ciascun **BD Difco** Shigella Antiserum da analizzare su una piastra di agglutinazione. Aggiungere una parte di un'ansata di una cultura di provvista di identificazione sierologica nota appropriata.
5. Miscelare ciascuna area di reazione con uno stick applicatore diverso e agitare delicatamente per un minuto. Verificare l'agglutinazione.

Controllo di qualità a cura dell'utente

Al momento dell'uso, applicare entrambi i controlli per omologhi ed eterologhi per verificare le prestazioni dell'antisiero, le tecniche e la metodologia. La coltura di provvista di identificazione sierologica nota può essere utilizzata come controllo per omologhi o eterologhi.

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 del laboratorio specifico. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI in merito.

RISULTATI

1. 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
2. Il controllo positivo deve fornire un risultato di agglutinazione pari a 3+ o superiore.
3. Il controllo negativo non deve evidenziare alcuna agglutinazione.
4. Per il test degli isolati, si considera positivo un risultato di agglutinazione pari a 3+ o superiore entro 1 minuto.
5. Nel caso in cui non si verifichi alcuna agglutinazione o l'agglutinazione sia debole, eliminare il blocco degli antigeni di copertura seguendo la procedura seguente:
 - Preparare una sospensione densa dell'isolato da un supporto agar in 3–5 mL di soluzione sterile allo 0,85% di NaCl.
 - Riscaldare in bagnomaria bollente per 30–60 minuti e far raffreddare. Dopo il riscaldamento, la sospensione non dovrà evidenziare precipitazione. In caso contrario, selezionare per la prova un'altra colonia.
 - Centrifugare a 1.000 rpm per 10–15 minuti.
 - Aspirare ed eliminare il surnatante.
 - Sospendere di nuovo il sedimento in 0,5 mL di soluzione sterile allo 0,85% di NaCl.
 - Prelevare una goccia di sospensione ed effettuare la prova di agglutinazione in vetrino come descritto sopra.
6. Una reazione parziale (minore di 3+) o ritardata, si considera un risultato negativo.
7. Se i risultati del test per controllo qualità o controllo negativo si discostano da quelli descritti, il test è da considerarsi non valido e non è possibile registrare i risultati.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. La corretta interpretazione delle reazioni sierologiche dipende dalla purezza della coltura, dall'osservazione di caratteristiche morfologiche e dalle reazioni biochimiche coerenti con l'identificazione del microrganismo come specie di *Shigella*.
2. I metodi sierologici da soli non sono in grado di identificare l'isolato come specie di *Shigella*.
3. Il calore eccessivo da fonti esterne (ansa batteriologica calda, fiamma di bruciatore, fonte di luce, ecc.) può impedire la formazione di una sospensione omogenea del microrganismo o causare evaporazione o precipitazione della miscela da testare e dar luogo a reazioni falsamente positive.
4. 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.
5. Per effettuare i test su *Shigella* Antisera Poly **BD Difco** e *Alkalescens-Dispar* Antiserum Poly **BD Difco** sono state utilizzate colture prelevate direttamente da supporti agar. Questi antisieri non sono stati testati con sospensioni di antigeni in soluzione di NaCl o in altri diluenti. Se l'operatore introduce delle variazioni nei passaggi raccomandati per la procedura, ciascun lotto di antisiero deve essere testato con colture di controllo per verificare le reazioni previste in base alla procedura modificata.

PERFORMANCE

Le performance di Shigella Antisera **BD Difco**, prodotte dai laboratori Difco, sono state confrontate durante test di agglutinazione in vetrino con altri cinque test di agglutinazione al latex presenti sul mercato per il raggruppamento sierologico della *Shigella*, in uno studio condotto da Lefebvre, Gosselin, Ismail, Lorange, Lior e Woodward.⁷ Nell'ambito di tale studio, sono state considerate quarantasei (46) famiglie di riferimento di *Shigella*, 50 famiglie di *Shigella* di interesse clinico e 9 famiglie non appartenenti alle specie *Shigella*.⁷

La tabella seguente elenca i risultati ottenuti.

Prodotto	Sensibilità ^a	Specificità ^b			
		Gruppo A	Gruppo B	Gruppo C	Gruppo D
Antisieri BD Difco	94 (85/90)	99 (90/91)	96 (67/70)	100 (86/86)	98 (81/83)
Antisieri commerciali #1	85 (66/78)	100 (94/94)	97 (68/70)	100 (95/95)	99 (82/83)
Antisieri commerciali #2	93 (88/95)	97 (86/89)	97 (68/70)	95 (79/83)	95 (79/83)
Antisieri commerciali #3	85 (71/84)	99 (96/97)	97 (68/70)	88 (76/86)	98 (81/83)
Antisieri commerciali #4	47 (42/90)	100 (91/91)	100 (70/70)	100 (86/86)	99 (82/83)
Antisieri commerciali #5	91 (77/85)	98 (91/93)	99 (69/70)	98 (87/89)	96 (80/83)
Test di agglutinazione al latex	91 (84/92)	100 (89/89)	100 (70/70)	100 (86/86)	99 (82/83)

a I denominatori variavano in base al numero di famiglie di omologhi riconosciute dagli antisieri commerciali.

b Numero complessivo delle famiglie di eterologhi *Shigella* e non appartenenti alle specie *Shigella* prese in considerazione nel test.

Nel corso di tale studio, relativamente alle famiglie prese in considerazione, la sensibilità complessiva dello Shigella Antisera **BD Difco** è stata del 94% e la specificità per Shigella **BD Difco** gruppo A è stata del 99%, per Shigella **BD Difco** Gruppo B è stata del 96%, per Shigella **BD Difco** Gruppo C 100% e per Shigella **BD Difco** Gruppo D è stata del 98%.⁷

Nello studio, è stata osservata la reattività incrociata tra:

- *P. shigelloides* e antisieri del gruppo D
- *H. alvei* e *S. flexneri* e antisieri del gruppo B
- *E. coli* ATCC 13706 e antisieri del gruppo D
- *E. coli* 0157:H19 e antisieri del gruppo B

DISPONIBILITÀ

N. di cat. Descrizione

228341	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group A, 3 mL
227761	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group A1, 3 mL
228351	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group B, 3 mL
228361	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group C, 3 mL
227771	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group C1, 3 mL
227781	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group C2, 3 mL
228371	BD Difco Shigella Antiserum Poly Group D, 3 mL
228381	BD Difco Alkalescens-Dispar Antiserum Poly, 3 mL

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

Assistenza e supporto tecnico: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito www.bd.com

BD Difco Shigella Antisera Poly

Español

USO PREVISTO

BD Difco Shigella Antisera Poly (antisueros polimicrobiano per Shigella **BD Difco**) se utilizan para la identificación de especies *Shigella* mediante la prueba de aglutinación en portaobjetos. **BD Difco** Alkalescens-Dispar Poly (antisueros polimicrobiano per Alkalescens-Dispar **BD Difco**) se utilizan para la identificación del grupo de microorganismos Alkalescens-Dispar mediante la prueba de aglutinación en portaobjetos.

RESUMEN Y EXPLICACION

La especie *Shigella* causa la enfermedad diarreica humana shigelosis (disentería bacilar clásica). La enfermedad puede variar desde diarrea leve hasta disentería grave, caracterizada por cólicos y defecación frecuente mucosa con sangre macroscópica. Aunque la enfermedad por lo general remite espontáneamente, puede poner en peligro la vida de las personas jóvenes, ancianas y desnutridas. Los portadores de la especie *Shigella* son principalmente seres humanos, y este organismo por lo general no se propaga a través de otros seres vivos. Aunque la transmisión es habitualmente directa (de una persona a otra) y a través del suministro de agua contaminada, también ocurren brotes por transmisión alimentaria.

El género *Shigella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. *Shigella* es una especie anaerobia facultativa: bacilos gram negativos, no productores de gas y típicamente negativos a la oxidasa, lactosa y H₂S. Existe una relación genética entre *Shigella* y *Escherichia*. Determinadas cepas de *E. coli* pueden asemejarse a *Shigella* en cuanto a las propiedades bioquímicas, porque ambas pueden ser negativas a la lactosa, no móviles ni productoras de gas. Estos tipos anaerogénicos no móviles se han denominado históricamente el grupo Alkalescens-Dispar, y actualmente se clasifican como biotipos de *E. coli*. Consultar las referencias apropiadas para pruebas bioquímicas específicas para la diferenciación de estas cepas de *Shigella*¹⁻⁶.

Las pruebas serológicas con antisueros polivalentes y específicos de grupos deben utilizarse para confirmar la identificación de aislados identificados como de la especie *Shigella* debido a sus características morfológicas y bioquímicas.

La especie *Shigella* no es móvil, por lo que la identificación serológica se basa en antígenos somáticos (O). Sin embargo, algunas cepas tienen antígenos de envoltura que evitan la aglutinación en antisueros somáticos. Si se calienta la suspensión a 100 °C durante 30–60 min, se destruyen dichos antígenos causantes de interferencia. Las cuatro especies nombradas o serotipos de *Shigella* son *S. dysenteriae* (10 serotipos), *S. flexneri* (6 serotipos), *S. boydii* (15 serotipos) y *S. sonnei*. Para obtener una explicación completa y actual de la clasificación de *Shigella*, consultar las referencias correspondientes^{1,2}.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La identificación de especies *Shigella* 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. Esta reacción *in vitro* produce la formación de grumos macroscópicos denominada aglutinación. La reacción homóloga deseada es rápida, de unión fuerte (alta afinidad) y no disociativa (alta avidez).

Dado que un microorganismo (antígeno) puede aglutinarse con anticuerpos producidos como respuesta a alguna otra especie, son posibles las reacciones heterólogas. Dichas reacciones imprevistas y posiblemente impredecibles pueden causar confusión en la identificación serológica. Por consiguiente, una reacción de aglutinación homóloga positiva debería apoyar la identificación morfológica y bioquímica del microorganismo. Las reacciones homólogas son fuertes y rápidas. Las reacciones heterólogas son débiles y lentas.

REACTIVOS

BD Difco Shigella Antisera Poly y **BD Difco Alkalescens-Dispar Antiserum** son antisueros de conejo liofilizados y policlonales que contienen aproximadamente 0,2% de azida sódica como conservante.

BD Difco Shigella Antisera Poly se absorben cuando es necesario para hacer cada lote de suero no sólo específico sino también práctico. Los antisueros se absorben hasta un cierto punto sin reducir las reacciones homólogas a un nivel no satisfactorio. Se han sometido a absorción inter e intra-específica, con la excepción de que los antisueros para *Shigella* no se han preparado ni analizado para:

serotipos provisionales de *S. dysenteriae*,
S. flexneri, variantes X e Y, o
grupos Alkalescens-Dispar

Antisuero	Reacciona con
Shigella Antiserum Poly Group A	<i>S. dysenteriae</i> tipos 1-7
Shigella Antiserum Poly Group A1	<i>S. dysenteriae</i> tipo 8ab, 8ac, 9, 10
Shigella Antiserum Poly Group B	<i>S. flexneri</i> tipos 1-6
Shigella Antiserum Poly Group C	<i>S. boydii</i> tipos 1-7
Shigella Antiserum Poly Group C1	<i>S. boydii</i> tipos 8-13
Shigella Antiserum Poly Group C2	<i>S. boydii</i> tipos 14-18
Shigella Antiserum Poly Group D	<i>S. sonnei</i> I y II
Alkalescens-Dispar Antiserum Poly	Alkalescens-Dispar, grupos 1,2,3 y 4

Cuando se rehidrata y utiliza de la manera descrita, cada frasco de **BD Difco Shigella Antisera Poly** y **BD Difco Alkalescens-Dispar Antiserum Poly** contiene suficiente reactivo para 60 pruebas en portaobjetos.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

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 en autoclave muestras, envases, portaobjetos, tubos y demás material contaminado. Es necesario seguir al pie de la letra las instrucciones de uso.

ADVERTENCIA: Este producto contiene azida sódica, la cual es tóxica en caso de inhalación, contacto con la piel e ingestión. El contacto con ácidos libera un gas muy tóxico. En caso de contacto con la piel, lavar de inmediato el área afectada con abundante agua. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Al eliminar el material por el desagüe, utilizar un gran volumen de agua para evitar la acumulación de azidas.

Atención



H302 Nocivo en caso de ingestión.

P264 Lavarse concienzudamente tras la manipulación. **P270** No comer, beber ni fumar durante su utilización. **P301+P312** EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar.

P330 Enjuagarse la boca. **P501** Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.

Almacenamiento

Conservar los **BD Difco Shigella Antisera Poly** y **BD Difco Alkalescens-Dispar Antiserum Poly**, liofilizados y rehidratados, a una temperatura de 2–8 °C.

La fecha de caducidad se aplica al producto conservado en su envase intacto de la forma indicada.

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

Descartar los antisueros que tengan turbidez o que presenten precipitados después de la rehidratación o el almacenamiento a menos que se puedan aclarar por centrifugado o filtración y demuestren una reactividad correcta con controles positivos y negativos validados. Una turbidez macroscópica indica contaminación; por lo tanto, esos antisueros deben descartarse.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Muestras clínicas: *Shigella* puede recuperarse de medios de diferenciación selectivos tales como el agar entérico Hektoen o agar XLD. Consultar las referencias correspondientes para obtener recomendaciones específicas²⁻⁴. 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 la especie *Shigella*. Una vez satisfechos estos criterios, se podrá realizar la identificación serológica.

Muestras de alimentos: *Shigella* puede recuperarse de diversos tipos de alimentos cuando éstos se procesan para recuperar microorganismos lesionados y evitar el crecimiento excesivo de microorganismos competitivos. Consultar las referencias correspondientes para informarse acerca de los procedimientos recomendados al analizar muestras de alimentos^{5,6}. Después de seguir un protocolo establecido, determinar que se ha obtenido un cultivo puro del organismo. Las reacciones de las pruebas bioquímicas deben guardar correlación con la identificación del organismo como perteneciente a la especie *Shigella*. Una vez satisfechos estos criterios, se podrá realizar la identificación serológica.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: **BD Difco** Shigella Antiserum Poly, **BD Difco** Alkaescens-Dispar Antiserum Poly

Materiales necesarios pero no suministrados: Los portaobjetos de aglutinación con 6,45 cm², aplicadores, baño María (hirviendo), solución de NaCl estéril al 0,85%.

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 el producto, añadir 3 mL de solución de NaCl estéril al 0,85% y girar suavemente para disolver el contenido por completo.

Análisis de la cepa aislada para determinar la autoaglutinación

1. A partir de un cultivo de prueba en medio no selectivo, transferir un asa llena de crecimiento a una gota 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 para determinar si se ha producido aglutinación.
3. Si ocurre la aglutinación (autoaglutinación), el cultivo es rugoso y no lo podrá analizar. Realizar un subcultivo en agar no selectivo, incubar y volver a analizar el 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

Utilizar este procedimiento para analizar el aislado con cada antisuero seleccionado.

1. Colocar 1 gota (35 µL) del antisuero a ser analizado en un portaobjetos de aglutinación.
2. **Control negativo:** Dispensar 1 gota de solución de NaCl al 0,85% estéril en un portaobjetos de aglutinación.
3. Desde un medio de agar sólido, transferir una parte o un asa llena de colonias aisladas a cada área de reacción anterior y mezclar bien.
4. **Análisis de control de calidad:** Dispensar 1 gota de cada **BD Difco** Shigella Antiserum que se vaya a analizar en un portaobjetos de aglutinación. Añadir una parte de un asa llena de un cultivo de referencia adecuado de identificación serológica conocida.
5. Mezclar cada área de reacción con un aplicador diferente y agitar suavemente durante 1 minuto. Efectuar una lectura para determinar la aglutinación.

Control de calidad del usuario

En el momento de uso, aplicar controles tanto homólogos como heterólogos para comprobar el rendimiento del antisuero, las técnicas y la metodología. Se pueden utilizar cultivos de referencia de identificación serológica conocida como controles homólogos y heterólogos.

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 CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

RESULTADOS

1. Leer y registrar los resultados de la siguiente forma:
 - 4+ 100% de aglutinación (fondo de 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.
5. Si no se produce aglutinación o si ésta es débil, seguir este procedimiento para retirar los antígenos de envoltura que causan interferencia:
 - Preparar una suspensión densa del aislado a partir de un medio de agar en 3–5 mL de solución de NaCl estéril al 0,85%.
 - Calentar en baño María (hirviendo) durante 30–60 min y dejar enfriar. La suspensión no debe mostrar precipitado después del calentamiento. De ser así, seleccionar otra colonia para análisis.
 - Centrifugar a 1.000 rpm durante 10–15 min.

- Aspirar y descartar el sobrenadante.
 - Volver a suspender el sedimento en 0,5 mL de solución de NaCl estéril al 0,85%.
 - Utilizar una gota de suspensión y realizar la prueba de aglutinación en portaobjetos como se ha descrito anteriormente.
6. Una aglutinación parcial (menos de 3+) o demorada debe considerarse como reacción negativa.
 7. Si los resultados de la prueba para los controles de calidad o el control negativo no resultan tal como se describen, la prueba no será válida y los resultados no se podrán notificar.

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 la especie *Shigella*.
2. Los métodos serológicos por sí solos no pueden identificar la cepa aislada como perteneciente a la especie *Shigella*.
3. El calor excesivo proveniente de fuentes externas (asa bacteriológica caliente, llama del mechero, fuente de luz, etc.) puede 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, lo que causa la aglutinación de los controles negativos (autoaglutinación). Es necesario seleccionar y analizar colonias uniformes en los procedimientos serológicos.
5. **BD Difco** *Shigella* Antisera Poly y **BD Difco** *Alkalescens-Dispar* Antiserum Poly se han analizado con cultivos extraídos directamente de medios de agar. Estos antiseros no han sido analizados con suspensiones de antígenos en solución de NaCl o en otros diluyentes. Si el usuario aplica variaciones en los pasos recomendados, cada lote de antisero se deberá analizar con cultivos de control conocidos para verificar las reacciones esperadas bajo el procedimiento modificado.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

EL rendimiento de **BD Difco** *Shigella* Antisera, fabricado por Difco Laboratories, se comparó, en pruebas de aglutinación en portaobjetos, con otros cinco antiseros disponibles comercialmente y una prueba de aglutinación de látex disponible comercialmente para la determinación de grupos serológicos de *Shigella* en un estudio llevado a cabo por Lefebvre, Gosselin, Ismail, Lorange, Lior y Woodward⁷. En este estudio se utilizaron 46 cepas de referencia de *Shigella*, 50 cepas clínicas de *Shigella* y 9 cepas diferentes de *Shigella*⁷.

En la tabla siguiente se recogen los resultados obtenidos.

Producto	Sensibilidad ^a	Especificidad ^b			
		Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
BD Difco Antisera	94 (85/90)	99 (90/91)	96 (67/70)	100 (86/86)	98 (81/83)
Antiseros comerciales N° 1	85 (66/78)	100 (94/94)	97 (68/70)	100 (95/95)	99 (82/83)
Antiseros comerciales N° 2	93 (88/95)	97 (86/89)	97 (68/70)	95 (79/83)	95 (79/83)
Antiseros comerciales N° 3	85 (71/84)	99 (96/97)	97 (68/70)	88 (76/86)	98 (81/83)
Antiseros comerciales N° 4	47 (42/90)	100 (91/91)	100 (70/70)	100 (86/86)	99 (82/83)
Antiseros comerciales N° 5	91 (77/85)	98 (91/93)	99 (69/70)	98 (87/89)	96 (80/83)
Prueba de aglutinación de látex	91 (84/92)	100 (89/89)	100 (70/70)	100 (86/86)	99 (82/83)

a Los denominadores variaron de acuerdo al número de cepas homólogas reconocidas por los antiseros comerciales.

b Número total de cepas analizadas diferentes de *Shigella* y heterólogas de *Shigella*.

En este estudio, para las cepas evaluadas, la sensibilidad general de **BD Difco** *Shigella* Antisera fue del 94% y la especificidad de **BD Difco** *Shigella* grupo A fue del 99%, **BD Difco** *Shigella* grupo B fue del 96%, **BD Difco** *Shigella* grupo C fue del 100% y **BD Difco** *Shigella* grupo D fue del 98%⁷.

En este estudio se observó reactividad cruzada entre:

- *P. shigelloides* y los antiseros del grupo D
- *H. alvei* y *S. flexneri* y los antiseros del grupo B
- *E. coli* ATCC 13706 y los antiseros del grupo D
- *E. coli* 0157:H19 y los antiseros del grupo B

DISPONIBILIDAD

Cat. No. Descripción

- 228341 **BD Difco** *Shigella* Antiserum Poly Group A, 3 mL
- 227761 **BD Difco** *Shigella* Antiserum Poly Group A1, 3 mL
- 228351 **BD Difco** *Shigella* Antiserum Poly Group B, 3 mL
- 228361 **BD Difco** *Shigella* Antiserum Poly Group C, 3 mL
- 227771 **BD Difco** *Shigella* Antiserum Poly Group C1, 3 mL
- 227781 **BD Difco** *Shigella* Antiserum Poly Group C2, 3 mL
- 228371 **BD Difco** *Shigella* Antiserum Poly Group D, 3 mL
- 228381 **BD Difco** *Alkalescens-Dispar* Antiserum Poly, 3 mL

REFERENCIAS: Ver "Referencias" en el texto en inglés.

Servicio técnico: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com.



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabricante / Аткаруушы / 제조업체 / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Prodovoditelj / Výrobca / Proizvođač / Tillverkare / Üretici / Виробник / 生产厂商



Use by / Използвайте до / Spottefbujtje do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / 사용 기한 / Uputrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейін пайдалануға / Naudokite iki / Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Исползовать до / Použite do / Uputrebiti do / Använd före / Son kullanna tarihi / Використати до/line / 使用截止日期
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned)
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)
 ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА (АА = айдың соңы)
 YYYY-MM-DD/YYYY-MM (MM = 월 말)
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mēnesio pabaiga)
 GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigas)
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = sluten av måneden)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii)
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutet av månaden)
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)
 PPPP-MM-DD / PPPP-MM (MM = кінець місяця)
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = 月末)



Catalog number / Каталоген номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Kataloginumber / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Каталог номери / 카탈로그 번호 / Katalogo / numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталогу / Katalogové číslo / Kataloški broj / Katalog numerasi / Номер за каталогом / 目录号



Authorized Representative in the European Community / Оторизиран представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret repræsentant i De Europæiske Fællesskaber / Autoriserter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizirani predstavnik u Europskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösésgben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / 유럽 공동체의 위임 대표 / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autoriseret representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Representante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentant autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavnístvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Автура Топлuluğu Yetkilil Temsilcisi / Уповноважений представник в країнах ЄС / 欧洲共同体授权代表



In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жұризетін медициналық диагностика аспабы / In Vitro Diagnostic 의료 기기 / In vitro diagnostikos prietaisai / Medicinas ierices, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики ин витро / Medicinska pomůcka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaji za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Diyagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский пристрій для діагностики in vitro / 体外诊断医疗设备



Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrensning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperaturi piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шектеу / 온도 제한 / Laikymo temperatūra / Temperaturās ierobežojumi / Temperaturilimiet / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ohraničenje teploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sıcaklık sınırlaması / Обмеження температури / 温度限制



Batch Code (Lot) / Код на партидата / Kód (číslo) šarže / Batch-kode (lot) / Batch-Code (Charge) / Κωδικός παρτίδας (παρτίδα) / Código de lote (lote) / Partii kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Топтама коды / 배치 코드(로트) / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Kod partii (serie) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (лот) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партії / 批号 (亚批)



Contents sufficient for <n> tests / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις / Contenido suficiente para <n> pruebas / Küllaldane <n> testide jaoks / Contenu suffisant pour <n> tests / Sadržaj za <n> testova / <n> teszthez elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / <n> testтері үшін жеткілікті / <n> 테스트가 충분히 포함됨 / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor "n" testen / Innholder tilstrekkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conteúdo suficiente para <n> testes / Conținut suficient pentru <n> teste / Достаточно для <n> тестов(а) / Obsah vystačí na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test için yeterli miktarda içerir / Вистачить для аналізів: <n> / 足够进行 <n> 次检测



Consult Instructions for Use / Направете справка в инструкциите за употреба / Prostudujte pokyny k použití / Se brugsanvisningen / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultar las instrucciones de uso / Lugeda kasutusjuhendit / Consulter la notice d'emploi / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / 사용 지침 참조 / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i brugsanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultati instrucțiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se brugsanvisningen / Kullanım Talimatları'na başvurun / Див. інструкції з використання / 请参阅使用说明



Do not reuse / Не используйте снова / Neopoužijte opakovaně / Ikke til genbrug / Nicht wiederverwenden / Μην επαναχρησιμοποιείτε / No reutilizar / Mitte kasutada korduvalt / Ne pas réutiliser / Ne koristiti ponovo / Egyszer használatos / Non riutilizzare / Пайдаланбаңыз / 재사용 금지 / Tik vienkartiniam naudojimui / Nelietot atkārtoti / Niet opnieuw gebruiken / Kun til engangsbrug / Nie stosować powtórnie / Não reutilize / Nu refolosiți / He isпользовать повторно / Neopoužijajte opakovane / Ne upotrebljavajte ponovo / Får ej återanvändas / Tekrar kullantayın / Не використовувати повторно / 请勿重复使用



Serial number / Серийн номер / Sériové číslo / Seriennummer / Seriennummer / Σειριακός αριθμός / N° de serie / Seerianumber / Numéro de série / Serijski broj / Sorozatszám / Numero di serie / Топтамалык нөмірі / 일련 번호 / Serijos numeris / Sērijas numurs / Serie number / Numer seryjny / Número de série / Număr de serie / Серийный номер / Seri numarasi / Номер серії / 序列号



For IVD Performance evaluation only / Само за оценка качеството на работа на работа на IVD / Pouze pro vyhodnocení výkonu IVD / Kun til evaluering af IVD ydelse / Nur für IVD-Leistungsbewertungszwecke / Μόνο για αξιολόγηση απόδοσης IVD / Sólo para la evaluación del rendimiento en diagnóstico in vitro / Ainult IVD seadme hindamiseks / Réserve à l'évaluation des performances IVD / Samo u znanstvene svrhe za In Vitro Dijagnostiku / Kizárólag in vitro diagnosztikához / Solo per valutazione delle prestazioni IVD / Жасанды жағдайда «пробирка ішінде» диагностикада тек жұмысты бағалау үшін / IVD 성능 평가에 대해서만 사용 / Tik IVD prietaisų veikimo charakteristikoms tikrinti / Vienīgi IVD darbības novērtēšanai / Uitsluitend voor doeltreffendheidsonderzoek / Kun for evaluering av IVD-ytelse / Tylko po oceny wydajności IVD / Uso exclusivo para avaliação de IVD / Numai pentru evaluarea performanței IVD / Только для оценки качества диагностики in vitro / Určené iba na diagnostiku in vitro / Samo za procenu učinka u in vitro dijagnostici / Endast för utvärdering av diagnostik användning in vitro / Yalnızca IVD Performans değerlendimesi için / Тільки для оцінювання якості діагностики in vitro / 仅限 IVD 性能评估



For US: "For Investigational Use Only"

Lower limit of temperature / Долен лимит на температурата / Dolní hranice teploty / Nedre temperaturgrænse / Temperaturuntergrenze / Κατώτερο όριο θερμοκρασίας / Limite inferior de temperatura / Alumine temperatuuripiir / Limite inférieure de température / Najnižja dovoljena temperatura / Alsó hőmérsékleti határ / Limite inferiore di temperatura / Температураның төменгі рұқсат шегі / 하한 온도 / Žemiausia laikymo temperatūra / Temperatūras zemākā robeža / Laagste temperatuurlimiet / Nedre temperaturgrense / Dolna granica temperatury / Limite minimo de temperatura / Limitá minimá de temperaturá / Нижний предел температуры / Spodná hranica teploty / Donja granica temperature / Nedre temperaturgräns / Sicaklık alt sınırı / Мінімальна температура / 温度下限



Control / Контролно / Kontrola / Kontrol / Kontrolle / Μάρτυρας / Kontroll / Contrôle / Controllo / Бақылау / 컨트롤 / Kontrolé / Kontrolle / Controle / Controllo / Контроль / kontrol / Контроль / 对照



Positive control / Положителен контрол / Pozitivní kontrola / Positiv kontrol / Positive Kontrolle / Θετικός μάρτυρας / Control positivo / Positiive kontroll / Contrôle positif / Pozitivna kontrola / Pozitiv kontroll / Controllo positivo / Оң бақылау / 양성 컨트롤 / Teigiamą kontrolę / Pozitívá kontrolé / Positiive controle / Kontrola dodatnia / Controllo positivo / Control pozitiv / Положительный контрол / Pozitif kontrol / Позитивный контрол / 阳性对照试剂



Negative control / Отрицателен контрол / Negativní kontrola / Negativ kontrol / Negative Kontrolle / Αρνητικός μάρτυρας / Control negativo / Negatiive kontroll / Contrôle négatif / Negativna kontrola / Negativ kontroll / Controllo negativo / Негативтік бақылау / 음성 컨트롤 / Neigiamą kontrolę / Negatívá kontrolé / Negatiive controle / Kontrola ujemna / Controllo negativo / Control negativ / Отрицательный контрол / Negatif kontrol / Негативный контрол / 阴性对照试剂



Method of sterilization: ethylene oxide / Метод на стерилизация: этиленов оксид / Způsob sterilizace: etylenoxid / Steriliseringmethode: ethylenoxid / Sterilisationsmethode: Ethylenoxid / Μέθοδος αποστείρωσης: αιθυλενοξειδίο / Método de esterilización: óxido de etileno / Steriliseerimismetod: etüleenoksiid / Méthode de stérilisation: oxyde d'éthylène / Metoda sterilizacije: etilen oksid / Sterilizálás módszere: etilén-oxid / Metodo di sterilizzazione: ossido di etilene / Стерилизация әдісі – этилен тотығы / 소독 방법: 에틸렌옥사이드 / Sterilizavimo būdas: etileno oksidas / Sterilizēšanas metode: etilēnoksīds / Gesteriliseerd met behulp van ethyleenoxide / Steriliseringsmetode: etylenoksid / Metoda sterylizacji: tienek etylu / Método de esterilizaçõ: óxido de etileno / Metodá de sterilizare: oxid de etilená / Метод стерилизації: этиленоксид / Metodá sterilizácie: etylénoxid / Metoda sterilizacije: etilen oksid / Steriliseringsmetod: etenoxid / Sterilizasyon yöntemi: etilen oksit / Метод стерилизації: этиленоксидом / 灭菌方法: 环氧乙烷



Method of sterilization: irradiation / Метод на стерилизация: ирадиация / Způsob sterilizace: záření / Steriliseringsmetode: bestrålning / Sterilisationsmethode: Bestrahlung / Μέθοδος αποστείρωσης: ακτινοβολία / Método de esterilización: irradiación / Steriliseerimismetod: kiirgus / Méthode de stérilisation: irradiation / Metoda sterilizacije: zračenje / Sterilizálás módszere: besugárzás / Metodo di sterilizzazione: irradiazione / Стерилизация әдісі – сәуле түсіру / 소독 방법: 방사 / Sterilizavimo būdas: radiacija / Sterilizēšanas metode: apstarošana / Gesteriliseerd met behulp van bestraling / Steriliseringsmetode: bestrålning / Metoda sterylizacji: napromienianie / Método de esterilizaçõ: irradiação / Metodá de sterilizare: iradiere / Метод стерилизації: облучение / Metodá sterilizácie: ožiarenie / Metoda sterilizacije: ozračavanje / Steriliseringsmetod: strålning / Sterilizasyon yöntemi: ıradasyon / Метод стерилизації: опроміненням / 灭菌方法: 辐射



Biological Risks / Биологични рискове / Biologická rizika / Biologisk fare / Biogefährdung / Βιολογικοί κίνδυνοι / Riesgos biológicos / Bioloogilised riskid / Risques biologiques / Biološki rizik / Biológiallag veszélyes / Rischio biologico / Биологиялық төуекелдер / 생물학적 위험 / Biologinis pavojus / Biologiskie riski / Biologisk risiko / Biologisk risiko / Zagrożenia biologiczne / Perigo biológico / Riscuri biologice / Биологическая опасность / Biologické riziko / Biološki rizici / Biologisk risk / Biyolojik Riskler / Биологична небезпека / 生物学风险



Caution, consult accompanying documents / Внимание, направте справка в придружаващите документи / Pozor! Prostudujte si příloženou dokumentaci! / Forsigtig, se ledsagende dokumenter / Achtung, Begleitdokumente beachten / Προσοχή, συμβουλευτείτε τα συνοδευτικά έγγραφα / Precaución, consultar la documentación adjunta / Ettevaatust! Lugeda kaasnevat dokumentatsiooni / Attention, consulter les documents joints / Upozorenje, koristiti prateću dokumentaciju / Figyelem! Olvassa el a mellékelt tájékoztatót / Attensjon, se consultare la documentazione allegata / Абайланыз, тиісті құжаттармен танысыңыз / 주의, 동봉된 설명서 참조 / Dmesio, žiūrėkite priedamus dokumentus / Piesardzība, skatīt pavaddokumentus / Voorzichtig, raadpleeg bijgevoegde documenten / Forsiktig, se vedlagt dokumentasjon / Należy zwracać się z dołączonymi dokumentami / Cuidado, consulte a documentação fornecida / Atenție, consultați documentele însoțitoare / Внимание: см. прилагаемую документацию / Vůstraha, pozri sprievodné dokumenty / Pažnja! Pogledajte priložena dokumenta / Obs! Se medföljande dokumentation / Dikkat, birlikle verilen belgelerle bagvurun / Увага: див. супутню документацію / 小心, 请参阅附带文档。



Upper limit of temperature / Горен лимит на температурата / Horní hranice teploty / Øvre temperaturgrænse / Temperaturobergrenze / Ανώτερο όριο θερμοκρασίας / Limite superior de temperatura / Ülemine temperatuuripiir / Limite supérieure de température / Gornja dovoljena temperatura / Felső hőmérsékleti határ / Limite superiore di temperatura / Температураның рұқсат етілген жоғарғы шегі / 상한 온도 / Aukščiausia laikymo temperatūra / Augšējā temperatūras robeža / Hoogste temperatuurlimiet / Øvre temperaturgrense / Górná granica temperatury / Limite máximo de temperatura / Limitá maximá de temperaturá / Верхний предел температуры / Horná hranica teploty / Gornja granica temperature / Øvre temperaturgräns / Sicaklık üst sınırı / Мінімальна температура / 温度上限



Keep dry / Παзете сухо / Skladujte v suchém prostředí / Opbevares tørt / Trocklagern / Φυλάξτε το στεγνό / Mantener seco / Hoida kuivais / Conserver au sec / Držati na suhom / Száraz helyen tartandó / Tenere all'asciutto / Κυρρακ κүйінде ұста / 건조 상태 유지 / Laikykite sausiai / Uzglabāt sausu / Droog houden / Holdes tørt / Przechowywać w stanie suchym / Manter seco / A se feri de umezeală / Не допускать попадания влаги / Uchovávať v suchu / Držite na suvom mestu / Förvaras tørt / Kuru bir şekilde muhafaza edin / Беретти від вологи / 请保持干燥



Collection time / Време на събиране / Čas odběru / Opsamlingsstidspunkt / Entnahmeuhrzeit / Ωρα συλλογής / Hora de recogida / Kogumisaeg / Heure de prélèvement / Sati prikupljanja / Mintavétel időpontja / Ora di raccolta / Жинау уақыты / 수집 시간 / Paémimo laikas / Savākšanas laiks / Verzameltijd / Tid prøvetaking / Godzina pobrania / Hora de colheita / Ora colectării / Время сбора / Doba odberu / Vreme prikupljanja / Uppsamlingsstid / Toplama zamanı / Час забору / 采集时间



Peel / Обелете / Otevířete zde / Åbn / Abziehen / Αποκολλήστε / Desprender / Koorida / Décoller / Otvoriti skini / Húzza le / Staccare / Ўстиғи қабатын алып таста / 벗기 / Plésti čia / Atlīmēt / Schillen / Trekk av / Oderwaç / Destacar / Se dezlipeste / Отклеить / Odtrhnite / Oljuštiti / Dra isär / Ayırma / Відклеїти / 撕下



Perforation / Перфорация / Perforace / Perforering / Διείρση / Perforación / Perforatsioon / Perforacija / Perforálás / Perforazione / Тесик тесу / 결취선 / Perforacja / Perforăcija / Perforatje / Perforacja / Perforação / Perforare / Перфорация / Perforácia / Perforasyon / Перфорация / 穿孔



Do not use if package damaged / Не използвайте, ако опаковката е повредена / Nerouživejte, je-li obal poškozený / Må ikke anvendes hvis emballagen er beskadiget / Inhal beschädigter Packungnicht verwenden / Μη χρησιμοποιείτε εάν η συσκευασία έχει υποστεί ζημιό. / No usar si el paquete está dañado / Mitte kasutada, kui pakend on kahjustatud / Ne pas l'utiliser si l'emballage est endommagé / Ne koristiti ako je oštećeno pakiranje / Ne használnia, ha a csomagolás sérült / Non usare se la confezione è danneggiata / Ереп пакер бұзылған болса, пайдаланба / 패키지가 손상된 경우 사용 금지 / Jei pakuotė pažeista, nenaudoti / Nelletot, ja iepakojums bojāts / Niet gebruiken indien de verpakking beschadigd is / Må ikke brukes hvis pakke er skadet / Nie używać, jeśli opakowanie jest uszkodzone / Não usar se a embalagem estiver danificada / A nu se folosi dacă pachetul este deteriorat / Не использовать при повреждении упаковки / Nepoužívať, ak je obal poškodený / Не користіть ако je pakovanje oštećeno / Använd ej om förpackningen är skadad / Ambalaj hasar gölmüşse kullanmayın / Не використовувати за пошкодженої упаковки / 如果包装破损, 请勿使用



Keep away from heat / Παзете от топлина / Nevystavujte přílišnému teplu / Må ikke udsættes for varme / Vor Wärme schützen / Κρατήστε το μακριά από τη θερμότητα / Mantener alejado de fuentes de calor / Hoida eemal valgusest / Protéger de la chaleur / Držati dalje od izvora topline / Övja a melegtől / Tenere lontano dal calore / Салқын жерде сақта / 열을 피해야 함 / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Sargăt no karstuma / Beschermen tegen warmte / Må ikke utsettes for varme / Przechowywać z dala od źródła ciepła / Manter ao abrigo do calor / A se feri de căldură / Не нагревать / Uchovávať mimo zdroja tepla / Držite dalje od toplote / Får ej utsättas för värme / Isidan uzak tutun / Беретти від дії тепла / 请远离热源



Cut / Срежете / Odstrhňte / Klip / Schneiden / Κόψτε / Cortar / Lögata / Découper / Rezi / Vágja ki / Tagliare / Kesçiz / 잘라내기 / Kirpti / Nogriet / Knippen / Kutt / Odciąć / Cortar / Decupați / Отрезать / Odstrhните / Iseći / Klipp / Kesme / Pozřizati / 剪下



Collection date / Дата на събиране / Datum odběru / Opsamlingsdato / Entnahmedatum / Ημερομηνία συλλογής / Fecha de recogida / Kogumiskuupeäev / Date de prélèvement / Dani prikupljanja / Mintavétel dátuma / Data di raccolta / Жинаған тзбекүні / 수집 날짜 / Paémimo data / Savākšanas datums / Verzameldatum / Dato prøvetaking / Data pobrania / Data de colheita / Data colectării / Дата сбора / Datum odberu / Datum prikupljanja / Uppsamlingsdatum / Toplama tarihi / Дата забору / 采集日期



µL/test / µL/тест / µL/Test / µL/εξέταση / µL/prueba / µL/teszt / µL/테스트 / мкл/тест / µL/tyrimas / µL/pārbaude / µL/teste / мкл/анализ / µL/检测



Keep away from light / Παзете от светлина / Nevystavujte svėtlu / Må ikke udsættes for lys / Vor Licht schützen / Κρατήστε το μακριά από το φως / Mantener alejado de la luz / Hoida eemal valgusest / Conserver à l'abri de la lumière / Držati dalje od svjetla / Fény nem érheti / Tenere al riparo dalla luce / Қараңғыланған жерде ұста / 빛을 피해야 함 / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Sargăt no gaismas / Niet blootstellen aan zonlicht / Må ikke utsettes for lys / Przechowywać z dala od źródła światła / Manter ao abrigo da luz / Feriti de lumină / Хранить в темноте / Uchovávať mimo dosahu svetla / Držite dalje od svetlosti / Får ej utsättas för ljus / Işıktan uzak tutun / Беретти від дії світла / 请远离光线



Hydrogen gas generated / Образуван е водород газ / Možnost úniku plynného vodíku / Frembringer hydrogengas / Wasserstoffgas erzeugt / Δημιουργία αερίου υδρογόνου / Producción de gas de hidrógeno / Vesinikgaasi tekitatud / Produit de l'hydrogène gazeux / Sadrži hydrogen vodik / Hidrogén gáz fejleszt / Produzione di gas idrogeno / Газеткес сутей пайда болды / 수소 가스 생성됨 / Išiskiria vandenilio dujas / Rodas ūdeņradis / Waterstofgas gegeneerd / Hydrogengass generert / Powoduje powstawanie wodoru / Produção de gás de hidrogénio / Generare gaz de hidrogen / Выделение водорода / Vyrobené použitím vodíka / Oslobađa se vodonik / Genererad vätagas / Açığa çıkan hidrojen gazı / Реакція з виділенням водню / 会产生氢气



Patient ID number / ИД номер на пациента / ID pacienta / Patientens ID-nummer / Patienten-ID / Αριθμός αναγνώρισης ασθενούς / Número de ID del paciente / Patsiendi ID / No d'identification du patient / Identifikacijski broj pacijenta / Beteg azonosító száma / Numero ID paziente / Пациенттің идентификациялық нөмірі / 환자 ID 번호 / Paciento identifikavimo numeris / Pacienta ID numurs / Identificatienummer van de patiënt / Patientens ID-nummer / Numer ID pacjenta / Número da ID do doente / Număr ID pacient / Идентификационный номер пациента / Identifikačné číslo pacienta / ID broj pacijenta / Patientnummer / Hasta kimlik numarasi / Идентификатор пациента / 患者标识号



Fragile, Handle with Care / Чупливо, Работете с необходимото внимание. / Křehké. Při manipulaci postupujte opatrně. / Forsigtig, kan gå i stykker. / Zerbrechlich, vorsichtig handhaben. / Εύθραστο. Χειριστείτε το με προσοχή. / Frágil. Manipular con cuidado. / Órn, käsitsege ettevaatlikult. / Fragile. Manipuler avec précaution. / Lomljivo, rukujte pažljivo. / Törékeny! Óvatosan kezelendő. / Fragile, maneggiare con cura. / Сынгыш, абайлап пайдаланыңыз. / 조심 깨지기 쉬운 처리 / Frágil, manuseie com Cuidado. / Trausis; gikoties uzmanīgi / Breekbaar, voorzichtig behandelen. / Ömtålig, händter försiktigt. / Kruha zawartości, przenosić ostrożnie. / Frágil, Manuseie com Cuidado. / Frágil, manipulati cu atenție. / Хрупкое! Обращаться с осторожностью. / Křehké, vyžaduje sa opatrňá manipulácia. / Lomljivo - rukujte pažljivo. / Bräckligt. Hantera försiktigt. / Kolay Kırılır, Dikkatli Taşıyın. / Тендітна, звертатися з обережністю / 易碎, 小心轻放



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

Australian Sponsor:

Becton Dickinson Pty Ltd.
4 Research Park Drive
Macquarie University Research Park
North Ryde, NSW 2113
Australia

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.

© 2017 BD. BD, and the BD Logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company.