

BD Difco™ Listeria Antisera and Antigens

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

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

Deutsch: Seiten 8 – 11

 8085890(04)
2016-03

R_x Only

Contact your local BD representative for instructions. / Свържете се с местния представител на BD за инструкции. / Pokyny vám poskytne místní zástupce společnosti 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 representante local da BD para instruções. / Pentru instrucțiuni, contactați reprezentantul local BD. / Для получения указаний обратитесь к местному представителю компании BD. / Inštrukcie 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™ Listeria O Antisera Types 1, 4 and Poly are used for identifying *Listeria monocytogenes* in the slide agglutination test.

BD Difco Listeria O Antigens Types 1 and 4 (Slide) are used as positive controls in the slide agglutination test.

SUMMARY AND EXPLANATION

First described in 1926 by Murray, Webb and Swann,¹ *Listeria monocytogenes* is a widespread problem in public health and the food industries. This organism can cause human illness and death, particularly in immunocompromised individuals and pregnant women.² The first reported foodborne outbreak of listeriosis was in 1985³ and, since then, microbiological and epidemiological evidence from both sporadic and epidemic cases of listeriosis has shown that the principal route of transmission is via the consumption of foodstuffs contaminated with *L. monocytogenes*.⁴

The organism has been isolated from commercial dairy and other food processing plants and is ubiquitous in nature, being present in a wide-range of unprocessed foods and in soil, sewage, silage and river water.⁵

Listeria spp. grow over a pH range of 4.4–9.6 and survive in food products with pH levels outside these parameters.⁶ *Listeria* spp. are microaerophilic, gram-positive, asporogenous, non-encapsulated, non-branching, regular, short, motile rods. Motility is most pronounced at 20 °C.

Strains of *Listeria* spp. are divided into serotypes based on cellular (O) and flagellar (H) antigens.⁷ Thirteen serotypes of *L. monocytogenes* are known. Most human disease is caused by serotypes 1/2a, 1/2b and 4b.⁸

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

Identification of *L. monocytogenes* includes both biochemical and serological confirmation.

Serological confirmation requires that the microorganism (antigen) react 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 an antibody produced in response to another species, heterologous reactions are possible. Such unexpected and perhaps unpredictable reactions may lead to some confusion in serological identification. A positive homologous agglutination reaction should support the morphological and biochemical identification of the microorganism.

Agglutination of the somatic antigen in the slide test appears as a firm granular clumping. Homologous reactions occur rapidly and are strong (3+). Heterologous reactions form slowly and are weak.

REAGENTS

BD Difco Listeria O Antisera Types 1, 4 and Poly are lyophilized, polyclonal rabbit antisera containing approximately 0.1% sodium azide as a preservative. Listeria O Antisera Types 1 and 4 are specific for the respective serotypes of *L. monocytogenes* while Listeria O Antiserum Poly contains agglutinins for *L. monocytogenes* serotypes 1 and 4.

BD Difco Listeria O Antigens Types 1 and 4 (Slide) are suspensions of appropriate *L. monocytogenes* serotypes containing 0.3% formaldehyde as a preservative. When used according to the suggested procedure, the reagents will yield the following:

Reagent	Vial	Number of tests
Listeria O Antiserum	1 mL	400 slide tests
Listeria O Antigen (Slide)	5 mL	100 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



Cat. No.	Description
223001	BD Difco™ Listeria O Antiserum Type 1, 1 mL
223011	BD Difco™ Listeria O Antiserum Type 4, 1 mL
223021	BD Difco™ Listeria O Antiserum Poly, 1 mL

H302 Harmful if swallowed.

P264 Wash thoroughly after handling. **P301+P312** IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor if you feel unwell. **P501** Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

Danger



Cat. No.	Description
223031	BD Difco™ Listeria O Antigen Type 1 (Slide), 5 mL
223041	BD Difco™ Listeria O Antigen Type 4 (Slide), 5 mL

H317 May cause an allergic skin reaction. **H350** May cause cancer.

P261 Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapors/spray. **P280** Wear protective gloves.

P302+P352 IF ON SKIN: Wash with plenty of water. **P405** Store locked up. **P501** Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

Storage: Store lyophilized and rehydrated **BD Difco** Listeria O Antisera at 2–8 °C.

Store **BD Difco** Listeria O Antigen (Slide) 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.

Examine antigen vials for agglutination before use. Suspensions with agglutination are not usable and should be discarded.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Clinical specimens: *Listeria* can be recovered on selective differential media such as Oxford Agar, Modified Oxford Agar, LPM Agar or PALCAM Medium. For specific recommendations on isolation of *Listeria* from clinical specimens, consult appropriate references.⁸⁻¹⁰ 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 *L. monocytogenes*. After these criteria are met, serological identification can be performed.

Food or dairy samples: *Listeria* can be recovered when samples are processed to recover injured microorganisms and prevent overgrowth of competing microorganisms. Consult appropriate references for recommended procedures for the isolation of *Listeria* from foods.^{6,11,12} Having followed an established protocol, isolate a pure culture of the microorganism and confirm that biochemical test reactions are consistent with the identification of the organism as *L. monocytogenes*. After these criteria are met, serological identification can be performed.

PROCEDURE

Materials Provided: **BD Difco** Listeria O Antiserum Type 1, **BD Difco** Listeria O Antiserum Type 4, **BD Difco** Listeria O Antiserum Poly, **BD Difco** Listeria O Antigen Type 1 (Slide), **BD Difco** Listeria O Antigen Type 4 (Slide).

Materials Required But Not Provided:

Slide Test: **BD Difco** FA Buffer (Dried), agglutination slides, applicator sticks, water bath (80–100 °C), droppers.

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.

Listeria O Antisera: To rehydrate, add 1 mL sterile purified water to each vial. Rotate gently to dissolve contents completely.

Listeria O Antigens (Slide) are ready to use.

Test Procedure

Slide Test

1. Rehydrate **BD Difco** FA Buffer as per label directions.
2. Suspend a loopful of the test isolate growth from a solid noninhibitory agar medium in approximately 5 mL of **BD Difco** FA Buffer.
3. Heat the organism suspension at 80–100 °C (in a water bath) for 1 h.
4. Centrifuge the suspension at 2,000–5,000 RCF for 15–20 min and remove the bulk of the supernatant fluid.
5. Resuspend the organism in the remaining portion of supernatant fluid.
6. Prepare a 1:20 dilution of the desired **BD Difco** Listeria Antiserum in 0.85% NaCl solution.
7. On an agglutination slide, dispense 1 drop of the desired diluted **BD Difco** Listeria Antiserum onto each of two separate areas. Dispense 1 drop of **BD Difco** FA Buffer onto a third area of the same slide. The first drop of antiserum will be used for the test isolate and the second for the positive control. The drop of **BD Difco** FA Buffer will be used for the negative control.
8. Dispense 1 drop of organism suspension from step 5 to the first drop of antiserum.
9. **Positive control:** Dispense 1 drop of homologous **BD Difco** Listeria O Antigen (Slide) to the second drop of antiserum.
10. **Negative control:** Dispense 1 drop of organism suspension from step 5 to the drop of **BD Difco** FA Buffer on the agglutination slide.
11. Rotate the slide for 1–2 min and read for agglutination.

User Quality Control: At the time of use, test both positive and negative antigen controls to check performance of the antiserum, techniques and methodology. If results of the positive control or negative control are not as described, the test is invalid and results cannot be reported.

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

Slide Test

1. 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
2. For the test isolate, a 3+ or greater agglutination within 1–2 min is a positive result.
3. A partial (less than 3+) or a delayed agglutination reaction should be considered negative.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. Serological techniques employing **BD Difco** Listeria O Antisera serve as corroborative evidence for the identification of *L. monocytogenes*. Final identification cannot be made without consideration of morphological, serological and biochemical characterization.
2. 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.
3. Rough culture isolates occur and will agglutinate spontaneously, causing agglutination of the negative control (autoagglutination). If autoagglutination occurs, the culture is rough and cannot be tested. Subculture to a noninhibitory medium, incubate and test the organism again.
4. Agglutination reactions of 3+ or greater in the slide test are interpreted as positive reactions. Cross-reactions resulting in a 1+ or 2+ agglutination are likely since there are somatic antigens shared among different organisms such as staphylococci, enterococci and *Bacillus* species.¹⁰
5. Prolonged exposure of reagents to temperatures other than those specified is detrimental to the products.
6. Exposure of Listeria O Antigens to temperatures below 2 °C can result in autoagglutination. Antigens must be smooth uniform suspensions. Examine antigen vials for agglutination before use. Suspensions with agglutination are not usable and should be discarded.
7. Discard any **BD Difco** Listeria O Antiserum that is cloudy or has a precipitate after rehydration or storage.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. The positive control, using the appropriate Listeria O Antigen, should show 3+ or greater agglutination in the slide test.
2. The negative control should show no agglutination.

Sensitivity of **BD Difco** Listeria O Antisera Types 1, 4 and Poly is determined by demonstrating appropriate reactivity in the slide test, as defined in the "Results" section using the respective

homologous **BD Difco** Listeria O Antigen. Specificity is determined by demonstrating non-reactivity against non-related (heterologous) **BD Difco** Listeria O Antigens.

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
223001	BD Difco ™ Listeria O Antiserum Type 1, 1 mL
223011	BD Difco ™ Listeria O Antiserum Type 4, 1 mL
223021	BD Difco ™ Listeria O Antiserum Poly, 1 mL
223031	BD Difco ™ Listeria O Antigen Type 1 (Slide), 5 mL
223041	BD Difco ™ Listeria O Antigen Type 4 (Slide), 5 mL
223143	BD Difco ™ FA Buffer, Dried, 6 x 10 g
223142	BD Difco ™ FA Buffer, Dried, 100 g

REFERENCES

1. Murray, E.G.D., R.A. Webb and M.B.R. Swann. 1926. A disease of rabbits characterized by large mononuclear leucocytosis caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes* (n. sp.). *J. Path. Bact.* 29:407 439.
2. Monk, J.D., R.S. Clavero, L.R. Beuchat, M.P. Doyle and R.E. Brackett. 1994. Irradiation inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in low and high fat, frozen and refrigerated ground beef. *J. Food Prot.* 57:969 974.
3. Wehr, H.M. 1987. *Listeria monocytogenes* – a current dilemma special report. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 70:769 772.
4. Bremer, P.J., and C.M. Osborne. 1995. Thermal death times of *Listeria monocytogenes* in green shell mussels (*Perna canaliculus*) prepared for hot smoking. *J. Food Prot.* 58:604 608.
5. Patel, J.R., C.A. Hwang, L.R. Beuchat, M.P. Doyle and R.E. Brackett. 1995. Comparison of oxygen scavengers for their ability to enhance resuscitation of heat injured *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot.* 58:244 250.
6. Ryser, E.T., and C.W. Donnelly. 1992. *Listeria*, p. 343–356. In F.P. Downes and K. Ito (ed.), *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
7. Seeliger, H.P.R., and K. Hohn. 1979. Serotyping of *Listeria monocytogenes* and related species, p. 31–49. In T. Bergen and J.R. Norris (ed.), *Methods in microbiology*, vol. 13. Academic Press, London, England.
8. Bille, J., J. Rocourt and B. Swaminathan. 2003. *Listeria* and *Erysipelothrix*, p. 461–471. In P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Pezzlo, M. 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.
10. 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.
11. Association of Official Analytical Chemists. 2001. *FDA Bacteriological analytical manual online*. <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-mm.html>>.
12. Flowers, R. S., W. Andrews, C. W. Donnelly, and E. Koenig. 1993. Pathogens in milk and milk products. In Marshall, R. T., (ed.), *Standard methods for the examination of dairy products*, 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

Technical Information: In the United States contact BD Technical Service and Support at 800-638-8663 or www.bd.com/ds.

BD Difco Listeria Antisera and Antigens

Français

APPLICATION

Les **BD Difco** Listeria O Antisera (sérums anti-listeria O **BD Difco**) de types 1, 4 et polyvalents s'utilisent pour l'identification des *Listeria monocytogenes* dans le test d'agglutination sur lame.

Les **BD Difco** Listeria O Antigens de types 1 et 4 (lame) s'utilisent comme témoins positifs dans le test d'agglutination sur lame.

RESUME ET EXPLICATION

Les *Listeria monocytogenes*, décrites pour la première fois en 1926 par Murray, Webb et Swann,¹ constituent, à l'échelle mondiale, un **danger** pour la santé publique et l'industrie alimentaire. Ce microorganisme peut provoquer des maladies chez l'homme et entraîner la mort, en particulier chez les individus immunocompromis et les femmes enceintes.² La première contamination alimentaire par la listériose répertoriée a eu lieu en 1985³ et, depuis, des preuves microbiologiques et épidémiologiques provenant de cas de listériose à la fois sporadiques et épidémiques, ont montré que la principale voie de transmission passe par la consommation d'aliments contaminés par les *L. monocytogenes*.⁴

Le microorganisme a été isolé dans des usines de produits laitiers et de transformation des produits alimentaires ; il est très répandu dans la nature et se rencontre dans une grande variété d'aliments non transformés ainsi que dans la terre, les eaux usées, le fourrage ensilé et les eaux fluviales⁵.

Les espèces de *Listeria* se développent dans un pH de 4,4 à 9,6 et peuvent survivre dans des produits alimentaires ayant un pH situé en dehors de ces paramètres⁶. Les espèces de *Listeria* sont microaérophiles, gram positif, asporogènes, non encapsulées, non ramifiées, régulières, courtes et sont des bacilles motiles. La motilité est plus prononcée à 20 °C.

Les souches d'espèces de *Listeria* sont divisées en sérotypes en fonction des antigènes cellulaires (O) et flagellaires (H).⁷ Treize sérotypes de *L. monocytogenes* sont connus. Chez l'homme, la plupart des maladies sont causées par les sérotypes 1/2a, 1/2b et 4b.⁸

PRINCIPES DE LA METHODE

L'identification des *L. monocytogenes* comprend à la fois la confirmation biochimique et sérologique.

La confirmation sérologique nécessite que le microorganisme (antigène) réagisse à l'anticorps correspondant. Cette réaction *in vitro* entraîne une formation d'agréats macroscopiques appelée agglutination. La réaction homologue souhaitée est rapide, ne dissocie pas (avidité élevée) et lie fermement (affinité élevée).

Des réactions hétérologues sont possibles car un microorganisme (antigène) peut agglutiner un anticorps produit en réponse à d'autres espèces bactériennes. Ces réactions inattendues et, peut-être, imprévues peuvent conduire à une certaine confusion d'identification sérologique. Une réaction d'agglutination homologue positive doit concorder avec l'identification du microorganisme sur la base de ses caractéristiques biochimiques et morphologiques.

L'agglutination de l'antigène somatique dans la lame de test apparaît comme un agrégat granuleux ferme. Les réactions homologues se produisent rapidement et sont élevées (3+). Les réactions hétérologues se forment lentement et sont faibles.

REACTIFS

Les **BD Difco** Listeria O Antisera de types 1, 4 et polyvalents sont des antisérums de lapin polyclonaux lyophilisés, contenant environ 0,1 % d'azide de sodium comme agent conservateur. Les sérums anti-listeria O de types 1 et 4 sont spécifiques aux sérotypes respectifs de *L. monocytogenes* alors que le sérum anti-listeria O polyvalent contient des agglutinines des sérotypes 1 et 4 de *L. monocytogenes*.

Les **BD Difco** Listeria O Antigens de types 1 et 4 (lame) sont des suspensions des sérotypes appropriés de *L. monocytogenes* contenant 0,3 % de formaldéhyde comme conservateur. Lorsque les réactifs sont utilisés conformément à la procédure suggérée, leur rendement est le suivant :

Réactif	Flacon	Nombre de tests
Listeria O Antiserum	1 mL	400 tests sur lame
Listeria O Antigen (lame)	5 mL	100 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



N° réf.	Description
223001	BD Difco Listeria O Antiserum Type 1, 1 mL
223011	BD Difco Listeria O Antiserum Type 4, 1 mL
223021	BD Difco Listeria O Antiserum Poly, 1 mL

H302 Nocif en cas d'ingestion.

P264 Se laver soigneusement après manipulation. **P301+P312** EN CAS D'INGESTION: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. **P501** Éliminer le contenu/récipient conformément aux règlements locaux/régionaux/nationaux/internationaux.

Danger



N° réf.	Description
223031	BD Difco Listeria O Antigen Type 1 (lame), 5 mL
223041	BD Difco Listeria O Antigen Type 4 (lame), 5 mL

H317 Peut provoquer une allergie cutanée. **H350** Peut provoquer le cancer.

P261 Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. **P280** Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. **P302+P352** EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau et au savon. **P405** Garder sous clef. **P501** Éliminer le contenu/récipient conformément aux règlements locaux/régionaux/nationaux/internationaux.

Conservation : Conserver les **BD Difco** Listeria O Antisera lyophilisés et reconstitués entre 2 et 8 °C.

Conserver le **BD Difco** Listeria O Antigen (lame) entre 2 et 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.

Examiner les flacons d'antigènes pour observer si une agglutination s'est produite avant de les utiliser. Éliminer systématiquement ceux qui présentent une agglutination.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Echantillons cliniques : La *Listeria* peut être isolée sur divers milieux différentiels comme une gélose d'Oxford, une gélose modifiée d'Oxford, une gélose LPM ou un milieu PALCAM. Pour obtenir des recommandations spécifiques concernant l'isolation de la *Listeria* dans des échantillons cliniques, consulter les références appropriées.⁸⁻¹⁰ Établir 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 *L. monocytogenes*. Si ces conditions sont remplies, l'identification sérologique peut être effectuée.

Echantillons alimentaires ou de produits laitiers : La *Listeria* peut être isolée lorsque des échantillons sont traités pour isoler des microorganismes lésés et empêcher une croissance excessive des microorganismes concurrents. Consulter les références appropriées pour obtenir les procédures recommandées pour l'isolation de la *Listeria* dans l'alimentation.^{6,11,12} Après avoir suivi un protocole établi, isoler une culture pure du microorganisme et confirmer que les réactions au test biochimique concordent avec l'identification du microorganisme comme étant des *L. monocytogenes*. Si ces conditions sont remplies, l'identification sérologique peut être effectuée.

METHODE

Matériaux fournis : **BD Difco** Listeria O Antiserum Type 1, **BD Difco** Listeria O Antiserum Type 4, **BD Difco** Listeria O Antiserum Poly, **BD Difco** Listeria O Antigen Type 1 (lame), **BD Difco** Listeria O Antigen Type 4 (lame).

Matériaux requis mais non fournis :

Test sur lame : **BD Difco** FA Buffer ([tampon **FA BD Difco**] séché), lames à agglutination, écouvillons, bain-marie (entre 80 et 100 °C), compte-gouttes.

Préparation du réactif : Laisser tous les matériels s'équilibrer à température ambiante avant d'effectuer les tests. S'assurer que la verrerie et les pipettes utilisées sont propres et exemptes de résidus, comme des traces de détergent par exemple.

Sérums anti-listeria O : Pour reconstituer, ajouter 1 mL d'eau purifiée stérile à chaque flacon. Retourner doucement plusieurs fois pour dissoudre parfaitement le contenu.

Les antigènes de listeria O (lame) sont prêts à l'emploi.

Mode opératoire du test

Test sur lame

1. Reconstituer les **BD Difco** FA Buffer conformément aux instructions de l'étiquette.
2. Mettre en suspension une pleine anse d'isolat à tester prélevé sur une gélose non inhibitrice dans environ 5 mL de **BD Difco** FA Buffer.
3. Chauffer la suspension du microorganisme entre 80 et 100 °C pendant une heure (dans un bain-marie).
4. Centrifuger la suspension entre 2000 et 5000 RCF pendant 15 à 20 min et retirer la majeure partie du liquide surnageant.
5. Remettre le microorganisme en suspension dans la partie restante du liquide surnageant.
6. Préparer une dilution à 1/20 dans une solution de NaCl à 0,85 % du **BD Difco** Listeria Antiserum souhaité.
7. Sur une lame à agglutination, distribuer une goutte du **BD Difco** Listeria Antiserum souhaité dilué dans chacune des deux zones séparées. Distribuer une goutte du **BD Difco** FA Buffer dans une troisième zone de la même lame. La première goutte d'antisérum sera utilisée pour l'isolat à tester et la deuxième pour le témoin positif. La goutte de **BD Difco** FA Buffer sera utilisée pour le témoin négatif.
8. Distribuer une goutte de la suspension du microorganisme prélevée à l'étape 5 à la première goutte de l'antisérum.
9. **Contrôle positif** : Distribuer une goutte de **BD Difco** Listeria O Antigen (lame) homologue à la seconde goutte d'antisérum.
10. **Contrôle négatif** : Distribuer une goutte de la suspension du microorganisme prélevée à l'étape 5 à la goutte du **BD Difco** FA Buffer sur la lame à agglutination.
11. Agiter pendant une à deux minutes par un mouvement de rotation de la lame, puis observer s'il se produit une réaction d'agglutination.

Contrôle de qualité par l'utilisateur : Tester dans la même série des antigènes de contrôles positifs et négatifs pour contrôler les performances de l'antisérum, des techniques et de la méthodologie. Si les résultats du témoin positif ou du témoin négatif ne sont pas comme décrit, le test est non valide et les résultats ne peuvent pas être rapportés.

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 du CLSI et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

RESULTATS

Test sur lame

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. S'agissant de l'isolat à tester, une agglutination de niveau 3+ ou supérieur obtenue en une à deux minutes constitue un résultat positif.
3. Une agglutination partielle (moins de 3+) ou retardée doit être considérée comme étant négative.

LIMITES DE LA PROCEDURE

1. Les techniques sérologiques employant des **BD Difco** Listeria O Antisera servent de tests d'identification de confirmation de *L. monocytogenes*. L'identification finale ne peut pas être effectuée sans prendre en considération la caractérisation morphologique, sérologique et biochimique.
2. 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. Des faux positifs risquent d'être obtenus.
3. Des isolats de culture non purs sont parfois obtenus et provoquent une agglutination spontanée entraînant l'agglutination des témoins négatifs (autoagglutination). Si une autoagglutination se produit, la culture n'est pas pure et ne peut pas être testée. Répliquer sur milieu non-inhibiteur, incubé et retester le microorganisme.
4. Les réactions d'agglutination de 3+ ou supérieures sont interprétées comme des réactions positives. Les réactions croisées résultant d'une agglutination de 1+ ou 2+ sont plus probables étant donné que des antigènes somatiques sont partagés entre différents organismes comme les staphylocoques, les entérocoques et les espèces *Bacillus*.¹⁰
5. L'exposition prolongée des réactifs à des températures autres que les températures spécifiées a un effet adverse sur ceux-ci.
6. L'exposition des antigènes de Listeria O à des températures inférieures à 2 °C peut entraîner une autoagglutination. Les antigènes doivent constituer des suspensions lisses uniformes. Examiner les flacons d'antigènes pour observer si une agglutination s'est produite avant de les utiliser. Éliminer systématiquement ceux qui présentent une agglutination.
7. Jeter tout **BD Difco** Listeria O Antiserum trouble ou présentant un précipité après réhydratation ou conservation.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

1. Le témoin positif, utilisant l'antigène de Listeria O approprié, doit présenter une agglutination de 3+ ou supérieure dans le test sur lame.
2. Le témoin négatif ne doit présenter aucune agglutination.

La sensibilité des **BD Difco** Listeria O Antisera de types 1, 4 et polyvalents se détermine en démontrant une réactivité appropriée dans le test sur lame, comme défini dans la section « Résultats », à l'aide du **BD Difco** Listeria O Antigen homologue. La spécificité est déterminée en démontrant une absence de réactivité contre les groupes non-apparentés des **BD Difco** Listeria O Antigens (hétérologues).

CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
223001	BD Difco Listeria O Antiserum Type 1, 1 mL
223011	BD Difco Listeria O Antiserum Type 4, 1 mL
223021	BD Difco Listeria O Antiserum Poly, 1 mL
223031	BD Difco Listeria O Antigen Type 1 (lame), 5 mL
223041	BD Difco Listeria O Antigen Type 4 (lame), 5 mL
223143	BD Difco FA Buffer, séché, 6 x 10 g
223142	BD Difco FA Buffer, séché, 100 g

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

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

VERWENDUNGSZWECK

BD Difco Listeria O Antisera, Typen 1, 4 und Poly dienen zur Identifizierung von *Listeria monocytogenes* beim Objektträger-Agglutinationstest.

BD Difco Listeria O Antigens, Typen 1 und 4 (Slide) dienen als positive Kontrollen beim Objektträger-Agglutinationstest.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Listeria monocytogenes wurden das erste Mal 1926 von Murray, Webb und Swann,¹ beschrieben und stellen ein weit verbreitetes Problem für die öffentliche Gesundheit und die Nahrungsmittelindustrie dar. Dieser Organismus kann beim Menschen Krankheiten und Tod verursachen, besonders bei immungeschwächten Personen und schwangeren Frauen.² Der erste dokumentierte Ausbruch von Listeriose in Nahrungsmitteln fand 1985³ statt. Seither haben mikrobiologische und epidemiologische Belege aus sowohl sporadischen wie auch epidemischen Listeriosefällen gezeigt, dass die Hauptübertragung durch die Aufnahme von mit *L. monocytogenes* kontaminierten Nahrungsmitteln erfolgt.⁴

Der Organismus wurde von einer Handelsmolkerei und anderen Nahrungsmittel verarbeitenden Anlagen isoliert und ist allgegenwärtig. Er ist in einer Vielzahl unverarbeiteter Nahrungsmittel vorhanden sowie im Boden, im Abwasser, in Silage und Flusswasser.⁵

Listeria spp. wachsen in einem pH-Bereich von 4,4 – 9,6 und überleben in Nahrungsmittelprodukten mit pH-Werten außerhalb dieser Parameter.⁶ *Listeria* spp. sind mikroaerophile, grampositive, nichtkapselnde, nichtverzweigende, reguläre, kurze, motile Stäbchen, die keine Sporen bilden. Die Motilität ist am ausgeprägtesten bei 20 °C.

Listeria spp.-Stämme sind untergliedert in Serumtypen basierend auf zellulären (O) und flagellaren (H) Antigenen.⁷ Es sind dreizehn (13) *L. monocytogenes*-Serumtypen bekannt. Die meisten menschlichen Krankheiten werden von den Serumtypen 1/2a, 1/2b und 4b verursacht.⁸

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Die Identifikation von *L. monocytogenes* umfasst sowohl den biochemischen als auch den serologischen Nachweis.

Für den serologischen Nachweis ist es erforderlich, dass der Mikroorganismus (das Antigen) mit seinem entsprechenden Antikörper reagiert. Bei dieser *In-vitro*-Reaktion kommt es zu makroskopischen Verklumpungen, der sogenannten Agglutination. Die gewünschte homologe Reaktion sollte rasch, ohne Dissoziation (hohe Avidität) und mit starker Bindung (hoher Affinität) erfolgen.

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

Die Agglutination des somatischen Antigens beim Objektträgereinstich zeigt sich als fester, körniger Klumpen. Homologe Reaktionen laufen schnell und heftig ab (3+). Heterologe Reaktionen laufen langsam und schwach ab.

REAGENZIIEN

BD Difco Listeria O Antisera, Typen 1, 4 und Poly sind stabile, lyophilisierte, polyklonale Kaninchen-Antisera und enthalten ca. 0,1 % Natriumazid als Konservierungsmittel. Listeria O Antisera, Typen 1 und 4 sind für die entsprechenden *L. monocytogenes*-Serumtypen spezifisch, wohingegen Listeria O Antiserum Poly Agglutinine für die *L. monocytogenes*-Serumtypen 1 und 4 enthält.

BD Difco Listeria O Antigens, Typen 1 und 4 (Slide) sind Suspensionen von geeigneten *L. monocytogenes*-Serumtypen, die 0,3 % Formaldehyd als Konservierungsmittel enthalten. Wenn die Reagenzien gemäß der empfohlenen Vorgehensweise verwendet werden, können folgende Tests durchgeführt werden:

Reagenz	Fläschchen	Anzahl Tests
Listeria O Antiserum	1 mL	400 Objektträgereinstichs
Listeria O Antigen (Slide)	5 mL	100 Objektträgereinstichs

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, Röhren und sonstiges kontaminiertes Material im Autoklaven zu sterilisieren. Die Gebrauchsanleitung ist sorgfältig zu befolgen.

WARNUNG: Dieses Produkt enthält Natriumazid. Sehr giftig beim Einatmen, bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken. 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



Best.- Nr. Beschreibung

223001 **BD Difco** Listeria O Antiserum Type 1, 1 mL

223011 **BD Difco** Listeria O Antiserum Type 4, 1 mL

223021 **BD Difco** Listeria O Antiserum Poly, 1 mL

H302 Nocivo se ingerito.

P264 Lavarsi accuratamente dopo l'uso. **P301+P312** IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. **P501** Smaltire il prodotto/ recipiente in conformità alle normative locali/regionali/nazionali/internazionali.

Gefahr



Best.- Nr. Beschreibung

223031 **BD Difco** Listeria O Antigen Type 1 (Slide), 5 mL

223041 **BD Difco** Listeria O Antigen Type 4 (Slide), 5 mL

H317 Kann allergische Hautreaktionen verursachen. **H350** Kann Krebs erzeugen

P261 Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. **P280** Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. **P302+P352** BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. **P405** Unter Verschluss aufbewahren. **P501** Inhalt/Behälter gemäß den örtlichen/regionalen/nationalen/internationalen Bestimmungen entsorgen.

Aufbewahrung: Lyophilisierte und rehydrierte **BD Difco** Listeria O Antisera bei 2 bis 8 °C aufbewahren.

BD Difco Listeria O Antigen (Slide) bei 2–8 °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.

Die Antigenfläschchen vor Gebrauch auf Agglutination prüfen. Suspensionen mit Agglutination sind unbrauchbar und zu verwerfen.

PROBENENTNAHME UND-VORBEREITUNG

Klinische Proben: *Listeria* kann aus selektiven differenzierten Medien, wie beispielsweise, Oxford Agar, Modified Oxford Agar, LPM Agar oder PALCAM Medium gewonnen werden.

Für spezifische Empfehlungen zur Isolierung von *Listeria* aus klinischen Proben einschlägige Quellen konsultieren.⁸⁻¹⁰ Sicherstellen, dass eine Reinkultur des Mikroorganismus gewonnen wurde und die biochemischen Testreaktionen der Identifizierung des Organismus als *L. monocytogenes* entsprechen. Wenn diese Kriterien erfüllt sind, kann die serologische Identifizierung durchgeführt werden.

Nahrungsmittel- oder Milchproben: *Listeria* kann gewonnen werden, wenn bei den Proben das Überwachsen durch konkurrierende Mikroorganismen verhindert wird und die Wiedergewinnung verletzter Mikroorganismen gewährleistet ist. Für spezifische Empfehlungen zur Isolierung von *Listeria* aus Nahrungsmitteln einschlägige Quellen konsultieren.^{6,11,12} Nach dem Beachten eines etablierten Protokolls eine Reinkultur des Mikroorganismus isolieren und sicherstellen, dass die biochemischen Testreaktionen der Identifizierung des Organismus als *L. monocytogenes* entsprechen. Wenn diese Kriterien erfüllt sind, kann die serologische Identifizierung durchgeführt werden.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: **BD Difco** Listeria O Antiserum Type 1, **BD Difco** Listeria O Antiserum Type 4, **BD Difco** Listeria O Antiserum Poly, **BD Difco** Listeria O Antigen Type 1 (Slide), **BD Difco** Listeria O Antigen Type 4 (Slide).

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial:

Objekträgertest: **BD Difco** FA Buffer (Dried), Agglutinations-Objekträger, Applikatorstäbchen, Wasserbad (80–100 °C), Pipetten.

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).

Listeria O Antisera: Zum Rehydrieren in jedes Fläschchen 1 mL steriles, destilliertes Wasser geben. Zur vollständigen Auflösung des Inhalts Röhrchen vorsichtig drehen.

Listeria O Antigens (Slide) sind gebrauchsfertig.

Testverfahren

Objektträgertest

1. **BD Difco** FA Buffer gemäß den Anweisungen auf dem Etikett rehydrieren.
2. Eine Öse voll Testisolat-Wachstum eines festen, nichthemmenden Agarmediums in ca. 5 mL **BD Difco** FA Buffer suspendieren.
3. Die Organismussuspension 1 h lang (im Wasserbad) bei 80–100 °C erhitzen.
4. Die Suspension bei 2000 bis 5000/Min 15 bis 20 min suspendieren und den Flüssigkeitsüberstand dann entfernen.
5. Den Organismus in verbleibenden Rest des Flüssigkeitsüberstands nochmals suspendieren.
6. Eine Verdünnung von 1 : 20 des gewünschten **BD Difco** Listeria Antiserum in 0,85%iger NaCl-Lösung vorbereiten.
7. 1 Tropfen des gewünschten, verdünnten **BD Difco** Listeria Antiserum auf jeweils einen separaten Bereich auf dem Agglutinations-Objektträger geben. 1 Tropfen **BD Difco** FA Buffer auf einen dritten Bereich auf dem selben Objektträger geben. Der erste Antiserumtropfen wird für das Testisolat verwendet; der zweite für die positive Kontrolle. Der Tropfen **BD Difco** FA Buffer dient als negative Kontrolle.
8. 1 Tropfen der Organismussuspension aus Schritt 5 dem ersten Antiserumtropfen hinzugeben.
9. **Positive Kontrolle:** Einen Tropfen homologen **BD Difco** Listeria O Antigen (Slide) dem zweiten Tropfen Antiserum hinzufügen.
10. **Negative Kontrolle:** Einen Tropfen der Organismussuspension aus Schritt 5 zu dem Tropfen **BD Difco** FA Buffer auf dem Agglutinations-Objektträger geben.
11. Den Objektträger 1 bis 2 min lang drehen und anschließend im Hinblick auf Agglutination begutachten.

Qualitätssicherung durch den Anwender: Bei Anwendung sowohl positive als auch negative Antigen-Kontrollen durchführen, um die Leistung der Antiseren, die Techniken und die Methodik zu überprüfen. Wenn die Ergebnisse der positiven Kontrolle oder negativen Kontrolle nicht wie beschrieben ausfallen, ist der Test ungültig und die Ergebnisse können nicht gemeldet 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

Objektträgertest

1. 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
2. Bei dem Testisolat stellt eine innerhalb von 1 bis 2 min erfolgende Agglutination des Grades 3+ oder stärker ein positives Ergebnis dar.
3. Eine teilweise (weniger als 3+) oder verzögerte Agglutinationsreaktion ist als negativ zu bewerten.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

1. Serologische Techniken unter Verwendung von **BD Difco** Listeria O Antisera liefern nur einen zusätzlichen Hinweis auf das Vorliegen von *L. monocytogenes*. Für die endgültige Identifizierung müssen morphologische, serologische und biochemische Eigenschaften berücksichtigt werden.
2. 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.
3. Grobe Kulturisolate sind möglich; sie agglutinieren spontan und führen zur Agglutination der negativen Kontrolle (Autoagglutination). Falls es zu einer Autoagglutination kommt, ist die Kultur grob und nicht zum Testen geeignet. Eine Subkultur auf einem nichthemmenden Medium anlegen, inkubieren, und den Organismus erneut testen.
4. Agglutinationsreaktionen von 3+ oder mehr im Objektträgertest werden als positive Reaktionen gewertet. Kreuzreaktionen in einer Agglutination der Stärke 1+ oder 2+ sind wahrscheinlich, da somatische Antigene von verschiedenen Organismen, wie beispielsweise Staphylokokken, Enterokokken und *Bacillus*-Spezies¹⁰, gemeinsam verbraucht werden.
5. Werden die Reagenzien längere Zeit anderen Temperaturen ausgesetzt als vorgeschrieben, ist dies den Produkten abträglich.
6. Durch Einwirkung von Temperaturen unter 2 °C auf Listeria O Antigenen kann es zu einer Autoagglutination kommen. Antigene müssen eine glatte, gleichmäßige Suspension ergeben. Die Antigenfläschchen vor Gebrauch auf Agglutination prüfen. Suspensionen mit Agglutination sind unbrauchbar und zu verwerfen.
7. Wolkiges **BD Difco** Listeria O Antiserum oder solches, das nach dem Rehydrieren oder der Aufbewahrung Niederschläge zeigt, ist zu entsorgen.

LEISTUNGSMERKMALE

1. Die positive Kontrolle sollte im Objektträgertest, unter Verwendung des entsprechenden *Listeria* O Antigen, eine Agglutination des Grades 3+ oder stärker aufweisen.
2. Die negative Kontrolle darf keine Agglutination aufweisen.

Die Sensibilität von **BD Difco** *Listeria* O Antiserum, Typ 1, 4 und Poly wird durch Nachweis der entsprechenden Reaktivität im Objektträgertest (wie im Abschnitt „Ergebnisse“ beschrieben) mithilfe des entsprechenden homologen **BD Difco** *Listeria* O Antigen bestimmt. Die Spezifität wird durch Nachweis der Nichtreaktivität gegenüber nicht-verwandten (heterologen) **BD Difco** *Listeria* O Antigen bestimmt.

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
223001	BD Difco <i>Listeria</i> O Antiserum Type 1, 1 mL
223011	BD Difco <i>Listeria</i> O Antiserum Type 4, 1 mL
223021	BD Difco <i>Listeria</i> O Antiserum Poly, 1 mL
223031	BD Difco <i>Listeria</i> O Antigen Type 1 (Slide), 5 mL
223041	BD Difco <i>Listeria</i> O Antigen Type 4 (Slide), 5 mL
223143	BD Difco FA Buffer, Dried, 6 x 10 g
223142	BD Difco FA Buffer, Dried, 100 g

LITERATURNACHWEIS: S. „References“ im englischen Text.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder www.bd.com/ds.

BD Difco *Listeria* Antisera and Antigens

Italiano

USO PREVISTO

BD Difco *Listeria* O Antiserum Tipi 1, 4 e Poly sono utilizzati per l'identificazione di *Listeria monocytogenes* nel test di agglutinazione su vetrino.

BD Difco *Listeria* O Antigeni Tipi 1 e 4 (vetrino) sono utilizzati come controlli positivi nel test di agglutinazione su vetrino.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Descritta per la prima volta nel 1926 da Murray, Webb e Swann,¹ *Listeria monocytogenes* è una problematica diffusa che affligge l'igiene pubblica e i settori alimentari. Questo organismo può causare la malattia e la morte per gli esseri umani, in particolare per gli individui immunocompromessi e le donne in gravidanza.² La prima epidemia di listeriosi veicolata da alimenti è stata registrata nel 1985³ e, da allora, la dimostrazione microbiologica ed epidemiologica derivante da casi sporadici ed epidemici di listeriosi ha evidenziato che la principale modalità di trasmissione è il consumo di generi alimentari contaminati da *L. monocytogenes*.⁴

L'organismo è stato isolato da caseifici commerciali e altri impianti di trasformazione alimentare ed è onnipresente in natura, essendo diffuso in una grande varietà di alimenti non trasformati nonché nel suolo, negli scarichi fognari, nel foraggio stoccato e nelle acque fluviali.⁵

Le specie *Listeria* crescono in presenza di una gamma di pH che varia tra 4,4 e 9,6 e sopravvivono in prodotti alimentari con livelli di pH esterni ai parametri citati.⁶ (Le specie *Listeria*) Sono microrganismi a bastoncino mobili, corti, regolari, microaerofili, gram-positivi, asporigeni, non-incapsulati, non-ramificanti. La mobilità è maggiormente accentuata a 20 °C.

Le famiglie appartenenti alle specie *Listeria* si suddividono in sierotipi basati su antigeni cellulari (O) e flagellati (H).⁷ Sono noti tredici sierotipi di *L. monocytogenes*. La maggior parte dei disturbi negli esseri umani è provocata dai sierotipi 1/2a, 1/2b e 4b.⁸

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

L'identificazione di *L. monocytogenes* comprende la conferma biochimica e sierologica.

La conferma sierologica richiede che il microrganismo (antigene) reagisca 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, imprevedibili e forse ingenerare confusione nel riconoscimento sierologico. Una reazione di agglutinazione positiva tra omologhi deve essere consistente con l'identificazione morfologica e biochimica del microrganismo.

Nella prova in vetrino l'agglutinazione somatica appare come un consistente grumo granulare. Le reazioni tra omologhi hanno un rapido svolgimento e sono resistenti (3+). Le reazioni tra eterologhi sono deboli e la loro formazione è lenta.

REAGENTI

BD Difco *Listeria* O Antiserum Tipi 1, 4 e Poly sono antisieri policlonali di coniglio liofilizzati, contenenti circa 0,1% di sodio azide come conservante. *Listeria* O Antiserum Tipi 1 e 4 sono specifici per i rispettivi sierotipi di *L. monocytogenes* mentre *Listeria* O Antiserum Poly contiene agglutinine per i sierotipi 1 e 4 di *L. monocytogenes*.

BD Difco *Listeria* O Antigeni Tipi 1 e 4 (Vetrino) sono sospensioni di sierotipi di *L. monocytogenes* adatti contenenti 0,3% di formaldeide come conservante. Se utilizzati secondo la procedura prescritta, i reagenti avranno il seguente rendimento:

Reagente	Flacone	Numero di test
Listeria O Antiserum	1 mL	400 test su vetrino
Listeria O Antigen (Slide)	5 mL	100 test su vetrino

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Questo prodotto contiene gomma naturale secca.

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

AVVERTENZA: Questo prodotto contiene sodio azide, sostanza tossica se inalata, a contatto con la pelle o ingerita. 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



N. di cat.

Descrizione

- 223001 **BD Difco** Listeria O Antiserum Tipo 1, 1 mL
 223011 **BD Difco** Listeria O Antiserum Tipo 4, 1 mL
 223021 **BD Difco** Listeria O Antiserum Poly, 1 mL

H302 Nocivo se ingerito.

P264 Lavarsi accuratamente dopo l'uso. **P301+P312** IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. **P501** Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alle normative locali/regionali/nazionali/internazionali.

Pericolo



N. di cat.

Descrizione

- 223031 **BD Difco** Listeria O Antigen Tipo 1 (Vetrino), 5 mL
 223041 **BD Difco** Listeria O Antigen Tipo 4 (Vetrino), 5 mL

H317 Può provocare una reazione allergica cutanea. **H350** Può provocare il cancro.

P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. **P280** Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. **P302+P352** IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone. **P405** Conservare sotto chiave. **P501** Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alle normative locali/regionali/nazionali/internazionali.

Conservazione – Conservare **BD Difco** Listeria O Antiserum liofilizzati e reidratati a 2–8 °C.

Conservare **BD Difco** Listeria O Antigen (Vetrino) a 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.

Prima dell'utilizzo, esaminare l'agglutinazione dei flaconi di antigene. Le sospensioni che presentano agglutinazione non sono stabili e devono essere scartate.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Accuratezza clinica – I *Listeria* possono essere recuperati su supporto differenziale selettivo come, Oxford Agar, Modified Oxford Agar, LPM Agar o PALCAM Medium. Per specifiche informazioni sull'isolamento di *Listeria* da campioni clinici, consultare gli opportuni riferimenti.⁸⁻¹⁰ Stabilire che la coltura del microorganismo sia pura e che le reazioni biochimiche siano coerenti con l'identificazione dell'organismo come *L. monocytogenes*. Una volta soddisfatti questi criteri, è possibile eseguire l'identificazione sierologica.

Campioni alimentari o caseari – E' possibile rintracciare i *Listeria* nel caso in cui i campioni siano lavorati per recuperare microrganismi lesionati e per impedire lo sviluppo eccessivo dei microrganismi concorrenti. Per le procedure prescritte relative all'isolamento di *Listeria* da alimenti, consultare gli opportuni riferimenti.^{6,11,12} Dopo aver seguito una procedura predeterminata, isolare una coltura pura del microorganismo e confermare che le reazioni biochimiche siano coerenti con l'identificazione dell'organismo come *L. monocytogenes*. Una volta soddisfatti questi criteri, è possibile eseguire l'identificazione sierologica.

PROCEDIMENTO

Materiali forniti – **BD Difco** Listeria O Antiserum Tipo 1, **BD Difco** Listeria O Antiserum Tipo 4, **BD Difco** Listeria O Antiserum Poly, **BD Difco** Listeria O Antigen Tipo 1 (Vetrino), **BD Difco** Listeria O Antigen Tipo 4 (Vetrino).

Materiali necessari ma non forniti

Test su vetrino – BD Difco FA Buffer (Essiccato), piastre di agglutinazione, stick di applicazione, bagnomaria (80–100 °C), contagocce.

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 detersivi o altro.

Listeria O Antisera – per reidratare, dispensare in ogni flacone 1 mL di acqua depurata sterile. Roteare delicatamente per dissolvere completamente il contenuto.

Listeria O Antigeni (Vetrino) sono pronti all'uso.

Procedura del test

Test su vetrino

1. Reidratare **BD Difco FA Buffer** seguendo le istruzioni riportate sull'etichetta.
2. Sospendere un'aliquota di crescita dell'isolato di prova da un terreno agar solido non inibitorio in 5 mL circa di **BD Difco FA Buffer**.
3. Riscaldare la sospensione dell'organismo a 80–100 °C (a bagnomaria) per 1 h.
4. Centrifugare la sospensione a 2.000 – 5.000 RCF per 15 – 20 min e rimuovere la massa compatta del fluido supernatante.
5. Sospendere nuovamente l'organismo nella parte rimanente del fluido supernatante.
6. Preparare una diluizione 1:20 del **BD Difco Listeria Antiserum** desiderato in una soluzione allo 0,85% di NaCl.
7. Su una piastra di agglutinazione, dispensare 1 goccia del **BD Difco Listeria Antiserum** desiderato diluito su ciascuna delle due aree separate. Dispensare 1 goccia di **BD Difco FA Buffer** su una terza area della stessa piastra. La prima goccia di antisiero sarà utilizzata per l'isolato di prova e la seconda per il controllo positivo. La goccia di **BD Difco FA Buffer** sarà utilizzata per il controllo negativo.
8. Dispensare 1 goccia di sospensione dell'organismo dalla fase 5 sulla prima goccia di antisiero.
9. **Controllo positivo** – Dispensare 1 goccia del **BD Difco Listeria O Antigen** (Vetrino) omologo sulla seconda goccia di antisiero.
10. **Controllo negativo** – Dispensare 1 goccia di sospensione dell'organismo dalla fase 5 sulla goccia di **BD Difco FA Buffer** sulla piastra di agglutinazione.
11. Roteare la piastra per 1 – 2 min e poi leggere il risultato di agglutinazione.

Controllo di qualità a cura dell'utente – Al momento dell'uso, testare gli antigeni di controllo positivo e negativo per verificare le performance dell'antisiero, le tecniche e la metodologia. Se i risultati del controllo positivo e del controllo negativo si discostano da quelli descritti, il test è da considerarsi non valido e non è possibile registrare i risultati.

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

Test su vetrino

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. Per il test dell'isolato, si considera positivo un risultato di agglutinazione pari a 3+ o superiore entro 1 – 2 min.
3. Un'agglutinazione parziale (minore di 3+) o ritardata, si considera un risultato negativo.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. Le tecniche sierologiche che utilizzano **BD Difco Listeria O Antisera** servono come dimostrazione corroborante dell'identificazione di *L. monocytogenes*. Non è possibile effettuare l'identificazione finale senza considerare la caratterizzazione morfologica, sierologica e biochimica.
2. 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 microorganismo o causare evaporazione o precipitazione della miscela da testare e dar luogo a reazioni false positive.
3. Le colture non omogenee di isolati sono soggette ad agglutinazione spontanea con conseguente agglutinazione dei controlli negativi (autoagglutinazione). Se si verifica autoagglutinazione, la coltura è disomogenea e non può essere analizzata. Eseguire una subcoltura su un terreno non inibitorio, incubare e rianalizzare l'organismo.
4. Le reazioni di agglutinazione di 3+ o superiori, per quanto riguarda il test su vetrino sono da interpretare come reazioni positive. Reazioni incrociate prodotte in agglutinazioni da 1+ o 2+ sono probabili a causa degli antigeni somatici condivisi da organismi differenti come stafilococchi, enterococchi e specie *Bacillus*.¹⁰
5. L'esposizione prolungata dei reagenti a temperature diverse da quelle indicate può danneggiare i prodotti.

- L'esposizione di *Listeria* O Antigeni a temperature inferiori a 2 °C può produrre autoagglutinazione. Gli antigeni devono trovarsi in sospensioni uniformi ed omogenee. Prima dell'utilizzo, esaminare l'agglutinazione dei flaconi di antigene. Le sospensioni che presentano agglutinazione non sono stabili e devono essere scartate.
- Eliminare il **BD Difco** *Listeria* O Antiserum torbido o che presenta un precipitato dopo la reidratazione o la conservazione.

PERFORMANCE

- Il controllo positivo con il *Listeria* O Antigen adatto, nel test su vetrino deve evidenziare un'agglutinazione pari a 3+ o superiore.
- Il controllo negativo non deve evidenziare alcuna agglutinazione.

La sensibilità dei **BD Difco** *Listeria* O Antiseri Tipi 1, 4 e Poly viene determinata dimostrando un'adeguata reattività nel test su vetrino, come definito nella sezione "Risultati", utilizzando l'omologo **BD Difco** *Listeria* O Antigen. La specificità è determinata dimostrando la non reattività con gruppi non legati al **BD Difco** *Listeria* O Antigeni (eterologhi).

DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
223001	BD Difco <i>Listeria</i> O Antiserum Tipo 1, 1 mL
223011	BD Difco <i>Listeria</i> O Antiserum Tipo 4, 1 mL
223021	BD Difco <i>Listeria</i> O Antiserum Poly, 1 mL
223031	BD Difco <i>Listeria</i> O Antigen Tipo 1 (Vetrino), 5 mL
223041	BD Difco <i>Listeria</i> O Antigen Tipo 4 (Vetrino), 5 mL
223143	BD Difco FA Buffer, Essiccato, 6 x 10 g
223142	BD Difco FA Buffer, Essiccato, 100 g

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

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

BD Difco *Listeria* Antiseri and Antigeni

Español

USO PREVISTO

BD Difco *Listeria* O Antiseri (antisueros para *Listeria* O) tipos 1, 4 y Poly se utilizan para identificar *Listeria monocytogenes* en la prueba de aglutinación en portaobjetos.

BD Difco *Listeria* O Antigeni tipos 1 y 4 (portaobjetos) se utilizan como controles positivos en la prueba de aglutinación en portaobjetos.

RESUMEN Y EXPLICACION

Descrita por primera vez en 1926 por Murray, Webb y Swann¹, *Listeria monocytogenes* supone un problema generalizado para la salud pública y las industrias alimentarias. Este organismo puede causar enfermedad y muerte en los seres humanos, particularmente en las personas inmunodeprimidas y las mujeres embarazadas². El primer brote por vía alimentaria detectado de listeriosis fue en 1985³ y, desde ese entonces, las pruebas microbiológicas y epidemiológicas de listeriosis, tanto de casos esporádicos como epidémicos, han demostrado que la vía principal de transmisión es a través de los alimentos contaminados con *L. monocytogenes*⁴.

El organismo se ha aislado en plantas de elaboración de productos lácteos y otros productos alimentarios; es omnipresente en el medio ambiente natural y se encuentra en un amplio espectro de alimentos sin procesar, así como en el suelo, alcantarillados, ensilaje y aguas fluviales⁵.

Listeria spp. se cultiva en un intervalo de pH de 4,4 – 9,6 y sobrevive en productos alimentarios con niveles de pH fuera de estos parámetros⁶. *Listeria* spp. son bacilos microaerofílicos, gram positivos, asporógenos, no encapsulados, no ramificados, regulares y cortos. La movilidad es más pronunciada a una temperatura de 20 °C.

Las cepas de *Listeria* spp. se dividen en serotipos basados en antígenos celulares (O) y flagelares (H)⁷. Se conocen trece serotipos de *L. monocytogenes*. La mayoría de las enfermedades humanas son causadas por los serotipos 1/2a, 1/2b y 4b⁸.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La identificación de *L. monocytogenes* incluye confirmación tanto bioquímica como serológica.

La confirmación serológica requiere que el microorganismo (antígeno) reaccione con su correspondiente anticuerpo. Esta reacción *in vitro* produce la formación de grumos microscópicos 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 un anticuerpo producido como respuesta a alguna otra especie, son posibles las reacciones heterólogas. Dichas reacciones imprevistas y posiblemente impredecibles pueden causar confusión en la identificación serológica. Una reacción de aglutinación homóloga positiva debería apoyar la identificación morfológica y bioquímica del microorganismo.

La aglutinación del antígeno somático en la prueba en portaobjetos aparece como una aglutinación granular firme. Las reacciones homólogas son rápidas y fuertes (3+). Las reacciones heterólogas son débiles y lentas.

REACTIVOS

BD Difco Listeria O Antiserum tipos 1, 4 y Poly son antisueros policlonales de conejo liofilizados que contienen aproximadamente 0,1% de azida sódica como conservante. Listeria O Antiserum Tipos 1 y 4 son específicos para los serotipos respectivos de *L. monocytogenes* mientras Listeria O Antiserum Poly contiene aglutininas para *L. monocytogenes*, serotipos 1 y 4.

BD Difco Listeria O Antigen tipos 1 y 4 (portaobjetos) son suspensiones de los serotipos apropiados de *L. monocytogenes* con formaldehído al 0,3% como conservante. Cuando se utilizan de acuerdo al procedimiento sugerido, los reactivos dan los siguientes resultados:

Reactivo	Frasco	Número de pruebas
Listeria O Antiserum	1 mL	400 pruebas en portaobjetos
Listeria O Antigen (portaobjetos)	5 mL	100 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 muestras, envases, portaobjetos, tubos y demás material contaminado en autoclave. Es necesario seguir al pie de la letra las instrucciones de uso.

ADVERTENCIA: Este producto contiene azida sódica, que 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



N° de cat. Descripción

223001 **BD Difco** Listeria O Antiserum tipo 1, 1 mL

223011 **BD Difco** Listeria O Antiserum tipo 4, 1 mL

223021 **BD Difco** Listeria O Antiserum Poly, 1 mL

H302 Nocivo en caso de ingestión.

P264 Lavarse concienzudamente tras la manipulación. **P301+P312** EN CASO DE

INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. **P501** Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.

Peligro



N° de cat. Descripción

223031 **BD Difco** Listeria O Antigen tipo 1(portaobjetos), 5 mL

223041 **BD Difco** Listeria O Antigen tipo 4 (portaobjetos), 5 mL

H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel. **H350** Puede provocar cáncer.

P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. **P280** Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. **P302+P352** EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. **P405** Guardar bajo llave. **P501** Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.

Almacenamiento: Almacenar **BD Difco** Listeria O Antiserum, liofilizados y rehidratados, a una temperatura de 2–8 °C.

Almacenar **BD Difco** Listeria O Antigen (portaobjetos) 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.

Antes de utilizar los frascos de antígeno, examinarlos para detectar aglutinación. Las suspensiones que presenten aglutinación no son utilizables y deberán ser desechadas.

RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Muestras clínicas: *Listeria* puede recuperarse de medios de diferenciación selectivos tales como el agar Oxford, agar Oxford modificado, agar LPM o medio PALCAM. Consultar las referencias correspondientes para obtener recomendaciones específicas acerca del aislamiento de *Listeria* de muestras clínicas⁹⁻¹⁰. Determinar que se ha obtenido un cultivo puro del microorganismo y que las reacciones de las pruebas bioquímicas sean acordes con la identificación del organismo como *L. monocytogenes*. Después de haberse satisfecho estos criterios, se podrá realizar la identificación serológica.

Muestras alimentarias o lácteas: Puede recuperarse *Listeria* cuando las muestras se procesan para recuperar microorganismos lesionados y evitar el crecimiento excesivo de microorganismos competidores. Consultar las referencias apropiadas para obtener los procedimientos recomendados para el aislamiento de *Listeria* a partir de alimentos^{6,11,12}. Al seguir el protocolo establecido, aislar un cultivo puro del microorganismo y confirmar que las reacciones de pruebas bioquímicas son acordes con la identificación del organismo como perteneciente a la especie *L. monocytogenes*. Después de haberse satisfecho estos criterios, se podrá realizar la identificación serológica.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: **BD Difco** Listeria O Antiserum tipo 1, **BD Difco** Listeria O Antiserum tipo 4, **BD Difco** Listeria O Antiserum Poly, **BD Difco** Listeria O Antigen tipo 1 (portaobjetos), **BD Difco** Listeria O Antigen tipo 4 (portaobjetos).

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS:

Prueba en portaobjetos: **BD Difco** FA Buffer (deshidratado), portaobjetos de aglutinación, aplicadores, baño María (80–100 °C), droppers.

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.

Listeria O Antisera: Para rehidratar, agregar 1 mL de agua purificada estéril a cada frasco. Girar suavemente para disolver el contenido por completo.

Listeria O Antigens (portaobjetos) están listos para usar.

Procedimiento de análisis

Prueba en portaobjetos

1. Rehidratar **BD Difco** FA Buffer conforme a las instrucciones de la etiqueta.
2. Suspender un asa llena del crecimiento del aislado de prueba de un medio de agar sólido no inhibidor en aproximadamente 5 mL de **BD Difco** FA Buffer.
3. Calentar la suspensión de organismo a 80–100 °C (en baño María) durante 1 h.
4. Centrifugar la suspensión a 2.000 – 5.000 RCF durante 15 – 20 min y retirar el grueso del líquido sobrenadante.
5. Volver a suspender el organismo en la porción restante del líquido sobrenadante.
6. Preparar una solución de 1:20 de **BD Difco** Listeria Antiserum deseado en una solución de NaCl al 0,85%.
7. En un portaobjetos de aglutinación, colocar 1 gota del **BD Difco** Listeria Antiserum diluido deseado en cada una de las dos áreas diferentes. Colocar una gota de **BD Difco** FA Buffer en la tercera área del mismo portaobjetos. La primera gota de antisuero se utilizará para el aislado de prueba y la segunda, para el control positivo. La gota de **BD Difco** FA Buffer se utilizará para el control negativo.
8. Colocar 1 gota de suspensión de organismo del paso 5 a la primera gota de antisuero.
9. **Control positivo:** Colocar 1 gota de **BD Difco** Listeria O Antigen (portaobjetos) homólogo a la segunda gota de antisuero.
10. **Control negativo:** Colocar 1 gota de suspensión de organismo del paso 5 a la gota de **BD Difco** FA Buffer en el portaobjetos de aglutinación.
11. Girar el portaobjetos durante 1 – 2 min y efectuar la lectura para determinar si se ha producido aglutinación.

Control de calidad del usuario: En el momento del uso, analizar los cultivos de control tanto positivos como negativos para comprobar el rendimiento de los antisueros, las técnicas y la metodología. Si los resultados de la prueba para el control positivo o negativo no resultan tal como se describen, la prueba no es válida y los resultados no se pueden informar.

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 del control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones del CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

RESULTADOS

Prueba de portaobjetos

1. Efectuar la lectura y registrar los resultados de la siguiente forma:

4+	100% de aglutinación (fondo transparente a ligeramente lechoso)
3+	75% de aglutinación (fondo ligeramente turbio)
2+	50% de aglutinación (fondo moderadamente turbio)
1+	25% de aglutinación (fondo turbio)
–	Sin aglutinación
2. Para las cepas aisladas de análisis, un valor de aglutinación de 3+ o más al cabo de 1 – 2 min indica un resultado positivo.

- Una aglutinación parcial (menos de 3+) o demorada debe considerarse como reacción negativa.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Las técnicas serológicas que utilizan **BD Difco** Listeria O Antisera sirven para corroborar la identificación de *L. monocytogenes*. No se puede realizar una identificación final sin considerar la caracterización morfológica, serológica y bioquímica.
- 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.
- Efectivamente ocurren cepas aisladas de cultivos rugosos, las cuales se aglutinarán espontáneamente, lo que causa la aglutinación de los controles negativos (autoaglutinación). Si ocurre autoaglutinación, el cultivo es rugoso y no se podrá analizar. Realizar un subcultivo en un medio no inhibitorio, incubar y repetir la prueba del organismo.
- Las reacciones de aglutinación de 3+ o más se interpretan como reacciones positivas. Las reacciones cruzadas que generan aglutinación de 1+ o 2+ son posibles, dado que existen antígenos somáticos en común entre diferentes organismos, tales como estafilococos, enterococos y la especie *Bacillus*.
- Una exposición prolongada de los reactivos a temperaturas diferentes a las especificadas es perjudicial para los productos.
- La exposición de Listeria O Antigenes a temperaturas por debajo de 2 °C puede causar autoaglutinación. Los antígenos deben ser suspensiones uniformes homogéneas. Inspeccionar los frascos de antígenos en busca de aglutinación antes de su utilización. Las suspensiones que presenten aglutinación no son utilizables y deberán ser desechadas.
- Descartar cualquier **BD Difco** Listeria O Antiserum turbio o con precipitación después de la rehidratación o almacenamiento.

CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO

- El control positivo con el Listeria O Antigen apropiado debe mostrar una aglutinación de 3+ o más en la prueba en portaobjetos.
- El control negativo no debe mostrar ningún indicio de aglutinación.

La sensibilidad de **BD Difco** Listeria O Antisera tipos 1, 4 y Poly se determina al demostrar una reactividad apropiada en la prueba en portaobjetos, como se define en la sección "Resultados", utilizando el **BD Difco** Listeria O Antigen homólogo. La especificidad se determina al demostrar la falta de reactividad frente a **BD Difco** Listeria O Antigenes no relacionados (heterólogos).

DISPONIBILIDAD

N° de cat. Descripción

223001	BD Difco Listeria O Antiserum tipo 1, 1 mL
223011	BD Difco Listeria O Antiserum tipo 4, 1 mL
223021	BD Difco Listeria O Antiserum Poly, 1 mL
223031	BD Difco Listeria O Antigen tipo 1(portaobjetos), 5 mL
223041	BD Difco Listeria O Antigen tipo 4 (portaobjetos), 5 mL
223143	BD Difco FA Buffer, deshidratado, 6 x 10 g
223142	BD Difco FA Buffer, deshidratado, 100 g

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

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



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabbicante / Аткарушы / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производител / Výrobca / Proizvođač / Tillverkare / Üretici / Виробник




Use by / Използвайте до / Spotřebujte do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / Upotrijebiti do / Felhasználhatóig dátuma / Usare entro / Дейін пайдаланура / Naudokite iki / Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Использовать до / Použite do / Upotrebiti do / Använd före / Son kullanma tarihi / Використати до ліне

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
 ГТТТ-ММ-ДД / ГТТТ-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)
 ЖӨЖӨК-АА-КК / ЖӨЖӨК-АА / (АА = айдың соңы)
 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 = slutten 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)
 ГТТТ-ММ-ДД / ГТТТ-ММ (ММ = конец месяца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiacja)
 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-ДД / PPPP-MM (ММ = кінець місяця)


REF Catalog number / Каталоген номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Kataloginumber / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Каталог номери / Katalogo numeris / Kataloga numurs / Katalogus number / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталору / Katalogové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом


EC REP Authorized Representative in the European Community / Оторизиран представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret repræsentant i De Europæiske Fællesskaber / Autorisierter 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 / Autorizuirani predstavnik u Evropskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségekben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / 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 / Representantul autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavništvo v Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Автура Топлудугу Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС

IVD *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 meditsiinaparatuur / Dispositif médical de diagnostic *in vitro* / Medicinska pomagala za *In vitro* Diagnostiku / *In vitro* diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica *in vitro* / Жасанды жағдайда жүргізетін медициналық диагностика аспабы / *In vitro* diagnostikos prietaisas / Medicīnas ierīces, 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 *in vitro* / Medicīnska romēcka na diagnostiku *in vitro* / Medicīnski uređaj za *in vitro* dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för *in vitro*-diagnostik / In Vitro Diagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский прибор для диагностики *in vitro*

 Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperaturri piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шектеу / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperaturilimiet / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ograničenje temperature / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sıcaklık sınırlaması / Обмеження температури

LOT 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 / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Kod partii (seria) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (лот) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партії

 Contains 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> тесттері үшін жеткілікті / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor "n" testen / Inholder tilstrekkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conteúdo suficiente para <n> testes / Conținut suficient pentru <n> teste / Достаточнo для <n> тестов(а) / Obsah vystačí na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test için yeterli malmeye içerir / Вистачить для аналізів: <n>

 Consult Instructions for Use / Направете справка в инструктите 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 / Konisti upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i brugsanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultați instrucțiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / Poglečajte uputstvo za upotrebu / Se brugsanvisningen / Kullanım Talimatları'na başvurun / Див. інструкції з використанням

CONTROL Control / Контролно / Kontrola / Kontrol / Kontrolle / Μέτρησης / Kontroll / Contrôle / Controllo / Бақылау / Kontrolé / Kontrolle / Controle / Controllo / Контроль / kontroll / Контроль



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



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

Difco is a trademark of Difco Laboratories, Inc., a subsidiary of Becton, Dickinson and Company.

BD and BD Logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2016 BD