

***E. coli* O-104** антисыворотка

для *in vitro* диагностики

Применение

Диагностическая антисыворотка *E. coli* производства датского Государственного института сывороток предназначена для полного либо частичного серотипирования методом агглютинации убитой кипячением культуры

Описание

Диагностическая антисыворотку *E. Coli* O104 получают путем иммунизации кроликов. Антисыворотка поставляется во флаконах по 3 мл (низкий титр) или по 1 мл (высокий титр) (консервант - азид натрия). При необходимости перекрестные реакции можно исключить методом адсорбции.

Принцип метода

Когда бактериальная культура смешивается со специфичной антисывороткой к бактериальным поверхностным компонентам, клетки бактерий, вступая в межмолекулярное взаимодействие антиген-антитело, образуют между собой агрегации (агглютинации). Обычно это предстает невооруженному глазу в виде скоплений в суспензии.

Необходимые материалы (в комплекте не поставляются)

Агаризованная питательная среда (например, мясопептонный агар)

Питательный мясной бульон

Инокуляционная петля

Пипетки

Пипетка Пастера

Стеклянные пробирки (пробирки Видаля)/ микротитрационный планшет с округлыми лунками либо предметное стекло

Физиологический раствор, рН 7.4

Водяная баня либо инкубатор, поддерживающий температуру 50-52°C

Инкубатор, поддерживающий температуру 37°C

Водяная баня, поддерживающая температуру свыше 90°C

Процедура

Общее

Физиологический раствор используется в качестве негативного контроля и должен оставаться негативным. Если негативный контроль становится положительным (агглютинируется), то штамм агглютинируется автоматически.

Агглютинация убитой кипячением культуры с O антисывороткой (O-агглютинация)

Подготовка культуры

1. С агаризованной питательной среды отбирают одну колонию и пересевают в мясной бульон, после чего инкубируют в течение ночи при температуре 37°C.
2. Затем бульонную культуру кипятят при температуре свыше 90°C в течение 1 часа.

3. Прокипятив, культуру выдерживают на столе при комнатной температуре в течение 1 часа, прежде чем она будет использована, для того, чтобы образовался осадок в виде бактериального дебриса.

Прокипяченная культура может храниться при температуре 4°C, но перед использованием обязательно должна быть несколько раз перевернута, а затем выдержана на столе при комнатной температуре в течение часа.

Постановка реакции

1. Смешайте 80 мкл O 104 антисыворотки для микротитрационных планшетов (рекомендуется) или 3 капли O антисыворотки (приблизительно 180 мкл) для стеклянных пробирок с равным количеством прокипяченной культуры.

Высокотитрированная O антисыворотка должна разводиться перед использованием. Рекомендуемое рабочее разведение напечатано на этикетке.

2. Микротитрационные планшеты или стеклянные пробирки инкубируются во влажной среде при температуре 50-52°C в течение ночи.
3. Результаты реакции просматриваются на следующий день перед источником света напротив черного фона (непрямое освещение).

Микротитрационные планшеты не разрешается трясти до того как реакция будет определена, в то время как стеклянные пробирки необходимо сильно встряхнуть, прежде чем определить реакцию.

4. На микротитрационных планшетах положительная реакция видна как «серый ковер», покрывающий дно лунки. Если реакция отрицательная, бактериальная суспензия видна как маленькое белое пятно в центре лунки.

В стеклянных пробирках положительная реакция выглядит как грануляция. Негативная реакция проявляется в постоянстве гомогенной мутной суспензии молочного цвета.

(Титр сыворотки определялся с использованием микротитрационных планшетов и не проверялся на стеклянных пробирках)

Хранение и срок годности

Хранить при температуре 2-8°C в темном месте. Срок годности указан на упаковке. Из-за осадка липопротеинов иногда после длительного хранения возможно помутнение. Осадок и/или загрязнение можно удалить при помощи стерильной фильтрации (0.22 мкм) с последующим центрифугированием (10 000g).

Техническая поддержка

Штаммы *E. coli*, которые не удается типировать, могут быть направлены для дальнейшего исследования в Международный центр по эшерихиозным заболеваниям (ВОЗ): Дания, Копенгаген С, 2300, ул. Артиллеривей, 5.

Пожалуйста, справляйтесь об изменениях в инструкции.