

ESCHERICHIA COLI ANTISERUMAS

ENTEROPATOGENINIŲ *ESCHERICHIA COLI* (EPEC) SEROTIPAVIMUI

IVD

1- KLINIKINĖ VERTĖ

Kai kurie *Escherichia coli* tipai gali sukelti diarėją. Klasifikuojami pagal veikimo mechanizmą:

- Enterotoksigeninė *E.coli* (ETEC) sukelia į cholera panašią diarėją. Diagnozuojama pagal šilumai jautrų enterotoksina (LT) ar šilumai atsparų enterotoksina (ST).
- Enteroinvazinė *E.coli* (EIEC) sukelia į dizenteriją panašius simptomus. Diagnozuojama invaziniu testu (HeLa ląstelių kultūroje, arba teigiamu Sereny testu, atliekamu lašinant bakterijų kultūros suspensiją jūrų kiaulytei į akis).
- **Enteropatogeninė *E.coli* (EPEC)** sukelia diarėjos epidemijas, dažniausiai vaikams nuo vienerių iki 2 metų. Jos produkuoja toksinus, kurie yra aktyvūs ant Vero ląstelių (iš to kilęs pavadinimas Vero toksinas arba VT), tuom skiriasi nuo *Shigella dysenteriae* sekretuojamų toksinų.

EPEC jungiasi prie epitelinų ląstelių plonajame žarnyne ir pažeidžia gaurelius.

Yra koreliacija tarp bakterijos serotipo ir patogeniškumo.

2- TESTO OBJEKTAS

Escherichia coli antiserumai yra naudojami užaugintų kultūroje enteropatogeninių *Escherichia coli* serologinei identifikacijai agliutinacijos ant stiklo metodu.

3- PRINCIPAS

Testas pagrįstas specifinio serumo agliutinacija su atitinkamais bakterijų antigenais.

Judrios *E. coli* serotipas nustatomas pagal O ir H antigenus, ir jeigu yra – K antigenus.

H antigenų identifikavimas trunka kelias dienas ir rutininėje praktikoje sunkiai įgyvendinamas.

Norint gauti greitesnį rezultatą, EPEC serotipavimui rutininėje praktikoje identifikuojamas O antigenas (nors keli O + H serotipai, su varijuojančiu patogeniškumu, turi O specifiškumą).

- Vakarų Europoje randamos devynios O serogrupės:

0111	086	0125
055	0119	0126
026	0127	0128

- Kitos trys serogrupės (taip pat ir O124, kuris atitinka enteroinvazines atmainas) sutinkamos daug rečiau:

0124	0114	0142
------	------	------

Antiserumai gaunami imunizuojant triušius su 18-a formalinu išaktyvuotų nejudrių kultūrų variantų (H).

4- ĮPAKAVIMAS

Polivalentiniai ir monovalentiniai serumai pateikti 3 ml buteliukuose (60 testų).

Polivalentinis serumas		
Escherichia coli nanovalentinis serumas	9 serotipų mišinys (O111 + O55 + O26 + O86 + O119 + O127 + O125 + O126 + O128)	kodas 57411

Polivalentiniai serumai		
Escherichia coli trivalentis antiserumas I	(O111 + O55 + O26)	kodas 57331
Escherichia coli trivalentis antiserumas II	(O86 + O119 + O127)	kodas 57341
Escherichia coli trivalentis antiserumas III	(O125 + O126 + O128)	kodas 57351
Escherichia coli trivalentis antiserumas IV	(O114 + O124 + O142)	kodas 57361

Monovalentiniai serumai					
Escherichia coli monovalentinis antiserumas	O124	kodas 57201	Escherichia coli monovalentinis antiserumas	O125	kodas 57261
Escherichia coli monovalentinis antiserumas	O26	kodas 57211	Escherichia coli monovalentinis antiserumas	O126	kodas 57271
Escherichia coli monovalentinis antiserumas	O55	kodas 57221	Escherichia coli monovalentinis antiserumas	O127	kodas 57281
Escherichia coli monovalentinis antiserumas	O86	kodas 57231	Escherichia coli monovalentinis antiserumas	O128	kodas 57291
Escherichia coli monovalentinis antiserumas	O111	kodas 57241	Escherichia coli monovalentinis antiserumas	O114	kodas 57301
Escherichia coli monovalentinis antiserumas	O119	kodas 57251	Escherichia coli monovalentinis antiserumas	O142	kodas 57311

5- LAIKYMAS

Serumai laikomi +2-8 °C, nesant užteršimo išlieka stabilūs iki galiojimo laiko pabaigos (net po atidarymo).

6- REIKALINGOS, BET NETIEKIAMOS PRIEMONĖS

- Stiklo plokštelė
- Plastikinė arba platinos kilpelė
- Fiziologinis tirpalas

7- SAUGUMO REIKALAVIMAI

- Visada laikytis instrukcijų ir imtis atsargumo priemonių nuo mikrobiologinio pavojaus laikant ir eliminuojant agliutinacijos reakcijos medžiagas bei biologinius produktus.
- Serumai savo sudėtyje turi < 0,1 % natrio azido, kuris su švinu ar variu nuotekų vamzdžiuose gali sudaryti sprogus junginius.
- Reagentų neskiesti.

8- ATLIKIMAS

Serotipavimas atliekamas identifikavus, išskyrus gryną *E.coli* kultūrą, naudojant neselektyvią terpę.

Atlikti kontrolinį testą su fiziologiniu tirpalu:

- Kilpele paimame *E. coli* kultūros.
- Sumaišome su lašu fiziologinio tirpalo, gauname homogenišką tirpalą. Neturi būti jokios agliutinacijos su fiziologiniu tirpalu. Jei stebima agliutinacija, vadinasi, tai yra save agliutinuojančios bakterijos ir reakcijos su antiserumais negali būti atliekamos.
- Užlašinti vieną lašą antiserumo ant plokštelės.
- Kilpele paimame *E. coli* kultūros
- Suspenduoti bakterijas antiserumo laše, gaunant homogenišką suspensiją, palaipsniui pridedant daugiau bakterijų.
- Vertinti mišinį akimi virš tamsaus paviršiaus arba virš įgaubto veidrodžio.

9- REZULTATŲ ĮVERTINIMAS

Teigiama reakcija – atsiranda greita, aiški agliutinacija. Bet kokia agliutinacija atsiradusi vėliau kaip po **5 sekundžių** yra nevertinama.

10- TESTO ATLIKIMO/KOKYBĖS KONTROLĖ

Escherichia coli antiserumo aktyvumas yra kontroliuojamas šiomis padermėmis:

		Serumai																
		O111	O55	O26	Trivalentis I	O86	O119	O127	Trivalentis II	O125	O126	O128	Trivalentis III	O124	O114	O142	Trivalentis IV	Nonavalentinis
E. coli padermės	O111	+			+													+
	O55		+		+													+
	O26			+	+													+
	O86					+			+									+
	O119						+		+									+
	O127							+	+									+
	O125									+			+					+
	O126										+		+					+
	O128											+	+					+
	O124													+			+	
	O114														+		+	
	O142															+	+	

+ teigiama reakcija → staigi agliutinacija

11- GAMYBOS KOKYBĖS KONTROLĖ

Visi reagentai yra paruošti pagal mūsų Kokybės kontrolės sistemą, pradedant nuo recepto neparuoštos medžiagos iki galutinio komercinio produkto. Su kiekviena partija yra atliekami kokybės kontrolės testai ir į prekybą yra išleidžiamos tik tos partijos, kurios atitinka visus kriterijus. Užrašai apie kiekvienos partijos produkciją ir kontrolę yra saugomi Bio-Rad.

12- VARTOJIMO APRIBOJIMAI

- Bakterijos rūšies nustatymas turi būti atliekamas prieš nustatant serogrupes.
- Kai kurios padermės gali būti agliutinuojamos tik nonavalentiniu ir trivalentiniais serumais, bet neagliutinuojamos monovalentiniais serumais. Šis nespecifinis fenomenas susijęs su dideliu baltymų kiekiu monovalentiniuose serumuose. Identifikacija turi remtis tik specifine agliutinacija su vienu iš monovalentinių serumų.
- Uždelsta, dažniausiai švelni agliutinacija neturi jokios diagnostinės vertės. Ji gali atsirasti dėl padermių turinčių O antigenų dalį, būdingą enteropatogeninėms E. coli. Panaši švelni agliutinacija visuose serumuose rodo padermės R statusą. Šios padermės taip pat pačios save agliutina fiziologiniame tirpale.
- Šią agliutinaciją geriau atlikti su kultūromis užaugintomis ant gliukozės ar laktozės terpių, nei užaugintų ant standartinio maitinamojo agaro.
- Yra bendrų antigeninių faktorių tarp O86 ir O127 serogrubių. Šios padermės stipriai agliutina homologinius serumus ir vėliau, su daug mažesniu intensyvumu, heterologinius serumus.



Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33



09/2003