



Mast Group Ltd.
Mast House, Derby Road,

Mast House, Derby Road,
Bootle, Merseyside, L20 1EA
United Kingdom

United Kingdom
Tel: + 44 (0) 151 472 1444
Fax: + 44 (0) 151 944 1332
email: sales@mast-group.com
Web: www.mast-group.com



Mast Diagnostica GmbH
Feldstrasse 20
DE-23858 Reinfeld

Tel: + 49 (0) 4533 2007 0 Fax: + 49 (0) 4533 2007 68 email: mast@mast-diagnostica.de Web: www.mast-group.com

Germany

Mast Diagnostic

12 rue Jean-Jacques Mention CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1 France

Tél: + 33 (0) 3 22 80 80 67 Fax: + 33 (0) 3 22 80 99 22 email: info@mast-diagnostic.fr Web: www.mast-group.com



# ANTISUERO MAST® ASSURE VIBRIO CHOLERAE

#### Indicaciones de uso

Antisueros líquidos estables para el serotipado de *Vibrio cholerae* O1 y O139.

#### SÓLO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

Contenido: Véase la etiqueta del envase.

#### Principio de la prueba

Cuando se mezclan los antisueros con una cepa de *V. cholerae* que tiene antígenos homólogos a los del antisuero, el antígeno y el anticuerpo producirán aglutinación macroscópica. Si no hay antígenos y anticuerpos homólogos no se producirá aglutinación. Esta reacción con una combinación de antisueros polivalentes y monovalentes se utiliza para determinar el serotipo de la cepa de microorganismo.

### Formulación

Los ANTISUEROS MAST® ASSURE se preparan a partir de conejos hiperinmunizados con cepas estándar de microorganismos muertos que poseen serotipos conocidos o antígenos específicos del grupo y contienen azida sódica al 0,085 % como conservante.

#### Estabilidad y conservación

Guarde sin abrir a 2 a 8°C hasta la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta del envase. Una vez abierto, el ANTISUERO MAST® ASSURE debe conservarse entre 2 a 8°C y puede utilizarse hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. **No congelar los reactivos.** 

#### Advertencias y precauciones

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*. Cumpla las precauciones de riesgo biológico y las técnicas asépticas aprobadas. Sólo debe ser utilizado por personal de laboratorio adecuadamente preparado y cualificado. Esterilice todos los productos de desecho que supongan un peligro biológico antes de su eliminación. El conservante azida sódica puede ser tóxica si se ingiere y puede reaccionar con el plomo y el cobre de las tuberías para formar sales muy explosivas. Deséchela siempre enjuagando con gran cantidad de agua. Consulte la Ficha de seguridad del producto.

#### Material necesario, pero no suministrado

Suministros y equipos microbiológicos convencionales como asas, micropipetas, aplicadores, portaobjetos de vidrio o tubos de ensayo de vidrio limpios, medios de cultivo MAST®, torundas, incineradores e incubadores, etc., así como reactivos y aditivos como disolución salina al 0,85 % estéril.

#### **Procedimiento**

## Aglutinación en portaobjetos de microorganismos vivos

- 1. Dispense dos volúmenes de 5 a 10 μl de disolución salina estéril al 0,85 % (salino) en un portaobjetos microscópico perfectamente limpio. El portaobjetos puede dividirse utilizando un lápiz de Chinagraph. Con un alambre de platino o un asa de inoculación desechable, tome una colonia de 1 a 2 mm de microorganismos vivos de un cultivo reciente en agar nutritivo y emulsiónela en cada gota de disolución salina para producir una turbiedad clara y uniforme.
- 2. Coloque una gota (de 30 a 40  $\mu$ l) de antisuero en uno de los aislados emulsionados y en el otro, una gota (de 30 a 40  $\mu$ l) de disolución salina como control.
  - Nota: No deje que el microorganismo contamine el frasco cuentagotas de antisuero.
- Mezcle los reactivos inclinando hacia atrás y hacia delante el portaobjetos durante 60 segundos mientras observa bajo la luz indirecta con un fondo negro.
- Un agrupamiento o aglutinación claros en este periodo, sin aglutinación en el control salino (auto-aglutinación), debe considerase un resultado positivo.

#### Interpretación de los resultados

- Se asume que los aislados que producen una reacción positiva clara con los antisueros polivalentes son V. cholerae O1.
- El antisuero polivalente anti-*V. cholerae* contiene aglutininas para los factores A, B y C. El antisuero para la serovariedad Ogawa de *V. cholerae* contiene aglutininas para el factor B. El antisuero para la serovariedad Inaba de *V. cholerae* contiene aglutininas para el factor C.

- El ulterior análisis del aislado debe llevarse a cabo como se describe en las etapas 1 a 3, con antisueros monovalentes. Las muestras que exhiban aglutinación sólo con el suero de tipo Inaba deben comunicarse como *V. cholerae* O1 serovariedad Inaba y las muestras que exhiban aglutinación sólo con el suero de tipo Ogawa, deben comunicarse como *V. cholerae* O1 serovariedad Ogawa. Las muestras que exhiben aglutinación con los dos tipos de suero deben comunicarse con *V. cholerae* O1 serovariedad Hikojima (que contiene antígenos para los dos factores, el B y el C) y da una reacción fuerte con los antisueros Ogawa e Inaba. La cepa de tipo Ogawa puede producir trazas de factor C y dar una ligera reacción con el antisuero Inaba.
- El antisuero de la serovariedad Inaba puede mostrar una reacción retardada con el antisuero polivalente en comparación con el antisuero de la serovariedad Ogawa.
- Para algunas cepas de V. cholerae O1 puede no ser posible el serotipado con células vivas. Los resultados negativos con un antisuero polivalente, o donde un antisuero polivalente muestre un resultado positivo y el monovalente uno negativo, deben volver a evaluarse calentando una suspensión de antígeno como se indica a continuación. Cuando el antígeno calentado de una cepa da un resultado negativo con el antisuero polivalente, debe identificarse como una cepa de V. cholerae no O1.
  Suspenda de 3 a 5 veces el tamaño de una cabeza de cerilla de microorganismo en 3 ml de suero salino isotónico y caliente a 121 °C durante 15 minutos o a 100 °C durante 1 hora. Centrifugue la disolución caliente a 900 g durante 20 minutos, deseche el sobrenadante, suspenda el sedimento en 0,5 ml de solución salina isotónica y utilícelo como la suspensión celular caliente.
- V. cholerae O140 (conocido como el serogrupo Hakata) posee el factor C y el D, y se considera un tipo Inaba, según la prueba de serotipado.
- Se ha comunicado que algunas cepas de V. fluvialis poseen el factor C y que Vibrio marino, bioserogrupo 1875, tiene factor B o factor C. Estas cepas pueden distinguirse de V. cholerae mediante pruebas bioquímicas.
- Las muestras que exhiben aglutinación sólo con el suero O139 Bengal deben comunicarse como V. cholerae O139 Bengal.

**Nota:-** debe recordarse que los Vibrios El Tor no pueden distinguirse de *V. cholerae* O1 por medios serológicos.

## Limitaciones de uso

Sólo deben serotiparse con este producto los cultivos de microorganismos identificados como *V. cholerae* mediante características morfológicas y bioquímicas.

Los antisueros polivalentes están pensados para utilizarse únicamente en pruebas de aglutinación rápida en portaobjetos. Los antisueros monovalentes están pensados para utilizarse en pruebas de aglutinación rápida en portaobjetos para ulterior identificación. Los resultados positivos pueden confirmarse mediante pruebas de aglutinación en tubo.

## Control de calidad

El control de calidad debe realizarse al menos con un microorganismo para demostrar una reacción positiva y con un microorganismo para demostrar una reacción negativa. No utilice el producto si las reacciones con los microorganismos de control son incorrectas.

Compruebe si hay signos de deterioro. No utilice los reactivos si están contaminados o turbios.

#### Rendimiento

#### 1. Sensibilidad

Cuando se permite la reacción de una gota de antisuero en un portaobjetos con un serotipo conocido de la cepa de referencia, se observa una aglutinación granular macroscópica.

#### 2. Especificidad

En las pruebas realizadas como se ha descrito, los antisueros respectivos sólo reaccionan con las cepas de referencia correspondientes a los antígenos especificados, mientras que las cepas sin los antígenos correspondientes no muestran aglutinación macroscópica.

## Referencias bibliográficas

Bibliografía a disposición de los interesados.