



Mast Group Ltd.
Mast House, Derby Road,
Bootle, Merseyside, L20 1EA
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
Germany
Tel: + 49 (0) 4533 2007 0
Fax: + 49 (0) 4533 2007 68
email: mast@mast-diagnostica.de
Web: www.mast-group.com

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



**Mast
Group**

MAST® ASSURE ANTISERUM VIBRIO CHOLERAE

Usò previsto

Antisieri liquidi stabili per la sierotipizzazione di *Vibrio cholerae* O1 e O139.

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

Contenuto: Vedere l'etichetta della confezione

Principio del test

Quando l'antisiero è miscelato con un ceppo di *V. cholerae* che ha antigeni omologhi a quelli presenti negli antisieri, l'antigene e l'anticorpo produrranno un'agglutinazione macroscopica. L'assenza dell'antigene omologo e dell'anticorpo non produrrà alcuna agglutinazione. Questa reazione con una combinazione di antisieri polivalenti e monovalenti viene utilizzata per determinare il sierotipo del ceppo del microrganismo

Formulazione

MAST® ASSURE ANTISERUM è preparato da conigli iperimmunizzati con ceppi standard di microrganismi uccisi in possesso di sierotipi noti o antigeni specifici di gruppo e contengono lo 0,085% di sodio azide come conservante.

Stabilità e conservazione

Conservare non aperto a 2 a 8°C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione. Una volta aperto, MAST® ASSURE ANTISERUM deve essere conservato a 2 a 8°C e può essere utilizzato fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. **Non congelare i reagenti.**

Avvertenze e Precauzioni

Solo per uso diagnostico *in vitro*. Osservare le precauzioni approvate contro i rischi biologici e impiegare tecniche aseptiche. Da utilizzare esclusivamente da personale di laboratorio adeguatamente addestrato e qualificato. Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima dello smaltimento. Il conservante di sodio azide può essere tossico se ingerito e può reagire con il piombo e il rame delle tubature formando sali altamente esplosivi. Smaltire sempre sciacquando con abbondante acqua. Fare riferimento alla scheda di sicurezza del prodotto.

Materiali richiesti ma non forniti

Forniture e attrezzature microbiologiche standard come anse, micropipette, bastoncini applicatori, vetrini per microscopio in vetro pulito o tamponi per provette in vetro, terreni di coltura MAST®, inceneritori e incubatori, ecc., nonché reagenti e additivi come la soluzione salina sterile allo 0,85%.

Procedura

Agglutinazione su vetrino di microrganismi vivi

1. Dispensare due volumi da 5 a 10 µL di soluzione salina sterile allo 0,85% (soluzione salina) su un vetrino da microscopio accuratamente pulito. Il vetrino può essere suddiviso usando una matita. Con un filo di platino o un'ansa di inoculazione monouso, prelevare una colonia da 1 a 2 mm di microrganismi vivi da una coltura fresca su Nutrient Agar ed emulsionare in ciascuna goccia di soluzione salina per produrre una torbidità distinta e uniforme.
2. Mettere una goccia (da 30 a 40 µL) di antisiero su uno degli isolati emulsionati e sull'altra una goccia (30 a 40 µL) di soluzione salina come controllo.

Nota: non permettere al microrganismo di contaminare il flacone contagocce dell'antisiero.

3. Miscelare i reagenti inclinando il vetrino avanti e indietro per 60 secondi mentre lo si osserva sotto luce indiretta su uno sfondo scuro.
4. L'aggregazione o l'agglutinazione distinte in questa fase, senza aggregazione nel controllo salino (autoagglutinazione), deve essere considerata come risultato positivo.

Interpretazione dei risultati

- Gli isolate che producono una reazione positive distinta con gli antisieri polivalenti sono considerati *V. cholerae* O1.
- L'antisiero polivalente *V. cholerae* contiene agglutinine per i fattori A, B e C. *V. cholerae* serovar Ogawa antisierum contiene agglutinine per il fattore B. *V. cholerae* serovar Inaba antisierum contiene agglutinine per il fattore C.
- Eseguire ulteriori test dell'isolato come descritto nei passaggi da 1 a 3, con antisieri monovalenti. I campioni che mostrano l'agglutinazione solo con il siero di tipo Inaba devono essere riportati

come *V. cholerae* O1 serovar Inaba e i campioni che mostrano l'agglutinazione solo con il siero tipo Ogawa dovrebbero essere segnalati come *V. cholerae* O1 serovar Ogawa. I campioni che mostrano l'agglutinazione con entrambi i tipi di siero dovrebbero essere segnalati come "Il ceppo di tipo Ogawa potrebbe produrre una traccia del Fattore C e dare una leggera reazione con l'antisiero di Inaba". *V. cholerae* O1 serovar Hikojima (che contiene antigeni per entrambi i fattori B e C) dà una forte reazione con entrambi gli antisieri di Ogawa e Inaba.

- L'antisiero Inaba potrebbe mostrare una reazione ritardata con l'antisiero polivalente rispetto all'antisiero di Ogawa.
- La sierotipizzazione con cellule vive potrebbe non essere possibile con alcuni ceppi di *V. cholerae* O1. Risultati negativi con antisiero polivalente, o in cui un antisiero polivalente mostra un risultato positivo e il monovalente negativo, dovrebbero essere ritestati riscaldando una sospensione antigenica come indicato di seguito. Quando l'antigene riscaldato di un ceppo dà un risultato negativo con l'antisiero polivalente deve essere identificato come ceppo di colera non-O1 V. Risospendere da 3 a 5 colonie in 3 mL di soluzione fisiologica e riscaldare a 121°C per 15 minuti o 100°C per 1 ora. Centrifugare la soluzione a 900g per 20 minuti, eliminare il surmatante, risospendere il pellet in 0.5 mL di soluzione salina fisiologica ed utilizzare come soluzione fisiologica riscaldata.
- Il *V. cholerae* O140 (denominato sierogruppo Hakata) possiede il Fattore C e D ed è considerato un tipo Inaba, basato sul test della sierotipizzazione.
- Alcuni ceppi di *V. fluvialis* sono segnalati per possedere il Fattore C. Marine Vibrio bioserogruppo 1875 è segnalato per possedere il Fattore B o C. Questi ceppi sono distinguibili da *V. cholerae* con test biochimici.
- I campioni che mostrano l'agglutinazione solo con il siero O139 Bengal devono essere riportati come *V. cholerae* O139 Bengal.

Nota: va ricordato che El Tor Vibrios non può essere distinto da *V. cholerae* O1 con mezzi sierologici.

Limitazioni d'uso

Solo le colture di microrganismi identificati come *V. cholerae* per caratteristiche morfologiche e biochimiche devono essere sierotipizzate con questo prodotto.

Gli antisieri polivalenti sono destinati esclusivamente ai test di rapida agglutinazione su vetrino.

Gli antisieri Monovalenti sono destinati all'uso nei test di agglutinazione rapida su vetrino per un'ulteriore identificazione.

Risultati positivi possono essere confermati da test di agglutinazione in provetta.

Controllo qualità

Il controllo qualità deve essere eseguito con almeno un microrganismo per dimostrare una reazione positiva ed almeno un microrganismo per dimostrare una reazione negativa. Non utilizzare il prodotto se le reazioni con i microrganismi di controllo non sono corrette. Verificare la presenza di segni di deterioramento. Non utilizzare i reagenti se sono contaminati o torbidi,

Prestazione

1. Sensibilità

Quando una goccia di antisiero viene lasciata reagire su di un vetrino con un sierotipo noto di un ceppo di riferimento, si osserva agglutinazione granulare macroscopica.

Specificità

Nei test eseguiti come descritto, i rispettivi antisieri reagiscono solo con ceppi di riferimento corrispondenti agli antigeni specificati, mentre i ceppi con antigeni non corrispondenti non mostrano agglutinazione macroscopica.

Referenze

Bibliografia disponibile su richiesta