



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**

ANTISSIONOS MAST® ASSURE PARA VIBRIO CHOLERAE

Uso a que se destina

Antíssonos líquidos estáveis para a serotipagem de *Vibrio cholerae* O1 e O139.

APENAS PARA USO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO

Conteúdo: ver o rótulo da embalagem.

Princípios do teste

Quando o antíssonos é misturado com uma estirpe de *V. cholerae* que possui antígenos homólogos aos que se encontram no antíssonos, o antígeno na presença do anticorpo irá produzir uma aglutinação macroscópica. A ausência de antígeno e anticorpo homólogos irá por oposição originar ausência de aglutinação.

Estas reações que combinam antíssonos polivalentes e monovalentes servem para determinar o serotipo da estirpe de um organismo.

Formulação

Os antíssonos MAST ASSURE ANTISERUM são preparados a partir de coelhos hiper-imunizados com estirpes padrão de organismos mortos, que possuem serotipos conhecidos ou antígenos específicos do grupo e contêm como conservante Azida de Sódio a 0.085%.

Estabilidade e Armazenamento

Armazene à temperatura de 2 a 8° C dentro das embalagens e até à data de validade indicada nos rótulos das mesmas. Uma vez aberta uma embalagem de antíssonos MAST® ASSURE ANTISERUM, deve armazená-la à temperatura de 2 a 8°C e pode usá-la até à data de validade indicada no rótulo. **Não congele os reagentes.**

Avisos e precauções

Apenas para uso em diagnóstico in vitro. Siga as recomendações aprovadas para produtos biologicamente perigosos e técnicas assépticas. Só deve ser usado por pessoal de laboratório adequadamente qualificado e treinado. Esterilize todos os resíduos biologicamente perigosos, antes de os eliminar. O conservante de Azida de Sódio pode ser tóxico por ingestão, e quando colocado em contato com o chumbo ou cobre das tubagens pode formar sais altamente explosivos. Deve por isso permitir que os reagentes sejam totalmente drenados usando um fluxo abundante de água. Consulte a "Ficha de dados de segurança" do produto.

Materiais necessários, mas não fornecidos

Acessórios e equipamentos microbiológicos, como ansas, micropipetas, varetas de aplicação, lâminas de vidro limpas para microscópio ou tubos de teste em vidro para amostras, meios de cultura MAST®, incineradores e incubadores, etc. assim como reagentes e aditivos (p.e. solução estéril salina a 0.85%).

Procedimento

Agglutinação em lâmina de organismos vivos

1. Dispense dois volumes entre 5 a 10 µl de solução salina 0.85% estéril (salino) sobre uma lâmina de microscópio cuidadosamente limpa. A lâmina pode ser seccionada recorrendo a um lápis de tinta-da-china. Recorra a um fio de platina ou a uma ansa de inoculação em *loop* e retire 1 a 2 mm de diâmetro de uma colónia fresca de organismos vivos, crescidos em meio de Agar Nutriente e emulsifique-as nas gotas de solução salina, previamente preparadas, de forma a produzir uma turvação visível e uniforme.
2. Coloque uma gota (30 a 40 µl) do antíssonos numa das gotas emulsionadas com o isolado, e na outra emulsão coloque uma gota (30 a 40 µl) de salino como controlo.
Nota: Não permita que o organismo contamine o frasco conta-gotas com antíssonos.
3. Misture os reagentes balançando a lâmina para trás e para a frente durante 60 segundos, tempo em que vai observando a lâmina, sujeita a luz indireta num fundo escuro.
4. A formação distinta de aglomeração ou aglutinação neste período, e inexistência de aglomeração no salino de controlo (auto-aglutinação), deve ser interpretado como sendo um resultado positivo.

Interpretação de resultados

- Os isolados que produzam uma reacção visivelmente positiva com o antíssonos polivalente assumem-se, que são estirpes *V. cholerae* O1.
- O soro polivalente *V. cholerae* contém aglutininas para os Fatores A, B e C. o antíssonos *V. cholerae* serovar Ogawa contém aglutininas para o Factor B. O antíssonos *V. cholerae* serovar Inaba contém aglutininas para o Fator C.

- O isolado posteriormente deve ser submetido a testes adicionais com antíssonos monovalentes, seguindo-se as indicações contidas nos passos 1 a 3. As amostras que evidenciaram aglutinação exclusivamente com o soro tipo Inaba devem ser reportadas como *V. cholerae* O1 serovar Inaba, e as amostras, que demonstraram aglutinação exclusivamente com soros do tipo Ogawa devem ser reportadas como *V. cholerae* O1 serovar Ogawa. Deve ainda reportar as amostras, que aglutinaram com ambos os soros como sendo estirpes do tipo Ogawa, que podem produzir vestígios do Factor C, e originar uma reacção leve com o antíssonos Inaba *V. cholerae* O1 serovar Hikojima (que contém antígenos para ambos os Factores B e C) e origina uma forte reacção com ambos os antíssonos Ogawa e Inaba.
- O antíssonos serovar Inaba pode ter uma reacção mais demorada com o antíssonos polivalente quando comparamos com o tempo de reacção do antíssonos serovar Ogawa.
- A serotipagem com células vivas pode não ser possível em algumas estirpes de *V. cholerae* O1. Os resultados negativos com os antíssonos polivalentes, ou sempre que um antíssonos polivalente demonstre um resultado positivo e o antíssonos monovalente um resultado negativo, deve voltar a testar com uma suspensão aquecida do antígeno conforme a seguir se indica. Caso o antígeno aquecido de uma estirpe origine um resultado negativo, na presença de um antíssonos polivalente deve ser identificado como não sendo uma estirpe do tipo - O1 *V. cholerae*. Suspenda uma quantidade de colónias do organismo equivalente a 3 a 5 vezes o volume de uma cabeça de fósforo, em 3ml de solução fisiológica salina e aqueça-a até 121°C durante 15 minutos ou em alternativa 100°C durante 1 hora. Centrifuge a solução aquecida à velocidade de 900 g durante 20 minutos, descarte o líquido sobrenadante, suspenda o *pellet* em 0.5 ml de solução fisiológica salina e use a suspensão aquecida com as células.
- A estirpe *V. cholerae* O140 (designada como serogrupo Hakata) possui os Fatores C e D e é considerada como sendo do tipo Inaba, com base no teste de serotipagem.
- Algumas estirpes *V. fluvialis* foram reportadas como possuindo o Fator C. O bioserogrupo Marinho *Vibrio bioserogroup* 1875 tem sido reportado como possuindo ambos os Fatores B e C. Estas estirpes nos testes bioquímicos são distintas de *V. cholerae*.
- As amostras que aglutinam exclusivamente com o soro Bengal O139 devem ser reportadas como sendo *V. cholerae* O139 Bengal.

Nota: - Deve recordar-se que ao recorrer exclusivamente a métodos serológicos, os vibrios do tipo Tor não se distinguem dos vibrios *V. cholerae* O1.

Limitações de uso

Apenas culturas de organismos que foram identificadas como sendo *V. cholerae* por testes morfológicos e bioquímicos devem ser serotipadas com este produto.

Os antíssonos Polivalentes destinam-se ao uso exclusivo em testes rápidos de aglutinação em lâminas. Os antíssonos Monovalentes destinam-se ao uso em testes rápidos de aglutinação em lâminas, e seguem para uma identificação posterior.

Os resultados positivos podem ser confirmados por aglutinação em tubo.

Controlo de Qualidade

O controlo de qualidade deve ser efetuado, com pelo menos um organismo para demonstrar uma reacção positiva, e com pelo menos outro organismo para evidenciar uma reacção negativa. Não use o produto se as reacções com os organismos de controlo se apresentarem incorretas. Verifique se existem sinais de deterioração. Não use os reagentes caso estes se encontrem contaminados ou turvos.

Desempenho

1. Sensibilidade

Quando se permite que uma gota de antíssonos reaja numa lâmina com um conhecido serotipo de uma estirpe referência, observa-se uma aglutinação granular macroscópica.

2. Especificidade

Nos testes efetuados conforme a descrição, os antíssonos reagem especificamente com as estirpes de referência, que correspondem aos antígenos específicos; enquanto as estirpes, que apresentem antígenos não correspondentes não apresentam aglutinação macroscópica.

Referências

A Bibliografia encontra-se disponível a pedido.