



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 CHOLERAEE

Verwendungszweck

Flüssiges Antiserum zur Serotypisierung von *Vibrio cholerae* O1 und O139.

NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

Lieferumfang: Siehe Packungsetikette.

Testprinzip

Wenn die Antiseren mit einem der *V. cholerae* Stämme, die Antigene homolog zu denen in den Antiseren besitzen, gemischt werden, bilden Antigen und Antikörper makroskopische Agglutination. Sind keine homologen Antigene und Antikörper vorhanden, findet keine Agglutination statt. Diese Reaktion - bestehend aus einer Kombination von polyvalenten und monovalenten Antiseren - wird verwendet, um den Serotyp des zu testenden Organismus zu bestimmen.

Zusammensetzung

MAST® ASSURE ANTISEREN werden aus hyperimmunisierten Kaninchen mit Standardstämmen inaktivierter Organismen gewonnen, die einen bekannten Serotyp oder Gruppen-spezifische Antigene besitzen sowie aus 0.085 % Natriumazid als Konservierungsstoff.

Stabilität und Lagerung

Ungeöffnete Reagenzien bei 2 bis 8°C bis zum auf dem Packungsetikette aufgedruckten Verfallsdatum lagern. Nach dem Öffnen sollte das MAST® ASSURE ANTISERUM bei 2 bis 8°C gelagert und nur bis zu dem auf dem Packungsetikette aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden.

Reagenzien nicht einfrieren.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

Nur zur *In-vitro*-Diagnostik. Die Schutzmaßnahmen für den Umgang mit potenziell infektiösem Material beachten und nur unter sterilen Bedingungen arbeiten. Nur von geschultem Personal durchzuführen. Den Abfall des potenziell infektiösen Materials vor der Entsorgung sterilisieren. Das Antriumazid kann bei Verzehr toxisch wirken. Zudem besteht die Gefahr, dass es mit Blei und Kupfer reagiert und so hoch explosive Salze entstehen. Immer mit ausreichend Wasser im Abfluss entsorgen. (s. Sicherheitsdatenblatt).

Zusätzlich benötigtes Material

Mikrobiologisches Standardmaterial und Ausstattung, wie z.B. Impfföhen, Tupfer, Objektträger, MAST® Kulturmedien, Inkubatoren, Reagenzien und Zusätze, wie z.B. 0,85 %-ige Salzlösung.

Durchführung

Objektträgeragglutination lebender Organismen

- Zweimal 5 bis 10 µL einer 0,85 %-ige Kochsalzlösung vorsichtig auf einem Objektträger verteilen. Mittels Platindraht oder Impfföse 1 bis 2 mm einer Kolonie jedes Testorganismus von einer frischen Agarplatte picken. Diese dann in den Kochsalzlösungen suspendieren, um eine deutliche Trübung zu erhalten.
- 30 bis 40 µL des Antiserums auf eine der suspendierten Isolate geben und 30 bis 40 µL Kochsalzlösung als Kontrolle auf das andere Isolat. **Hinweis:** Hierbei das Antiserumfläschchen nicht mit Testorganismus kontaminieren.
- Reagenzien durch 60 Sekunden Schwenken des Objektträgers mischen, wobei dieser unter indirektem Licht vor schwarzem Hintergrund beobachtet werden soll.
- Verklumpung oder Agglutination innerhalb dieser 60 Sekunden (keine Verklumpung in der Kontrolle) bedeutet ein positives Ergebnis.

Interpretation der Ergebnisse

- Isolate, die eine eindeutig positive Reaktion mit den polyvalenten Antiseren zeigen, können als *V. cholerae* O1 erfasst werden.
- Das polyvalente *V. cholerae*-Antiserum enthält Agglutine für die Faktoren A, B und C.
- Das *V. cholerae*-Serovar Ogawa-Antiserum enthält Agglutine für den Faktor B. Das *V. cholerae*-Serovar Inaba-Antiserum enthält Agglutine für den Faktor C.
- Weiterführende Testungen der Isolate sollten wie in Schritt 1 bis 3 beschrieben mit monovalenten Antiseren durchgeführt werden. Proben, die nur mit dem Inaba-Serum Agglutination aufweisen, sollten als *V. cholerae* O1 Serovar Inaba und Proben, die nur mit dem Ogawa-Serum Agglutination zeigen, sollten als *V. cholerae* O1

Serovar Ogawa erfasst werden. Proben, die mit beiden Serumtypen Agglutination zeigen, sollten ebenfalls erfasst werden, da die Ogawa-Stämme eine geringe Menge an Faktor C produzieren könnten und so zu einer schwachen Reaktion mit dem Inaba-Antiserum führen. *V. cholerae* O1-Serovar Hikoijima (enthält Antigene für Faktor B und C) zeigt eine starke Reaktion mit dem Ogawa- und dem Inaba-Antiserum.

- Das Inaba-Antiserum kann möglicherweise eine verspätete r Reaktion mit dem polyvalenten Antiserum im Vergleich zum Ogawa-Antiserum zeigen.
- Das Serotyping mit lebenden Zellen ist gegebenenfalls mit einigen Stämmen von *V. cholerae* O1 nicht möglich. Negative Ergebnisse mit dem polyvalenten Antiserum oder in Fällen, bei denen ein polyvalentes Antiserum ein positives und ein monovalentes Antiserum ein negatives Ergebnis zeigt, sollten erneut getestet werden. Dazu die Antigen-suspension wie unten beschrieben erhitzen. Führt das Erhitzen des Antigens eines Stammes zu einem negativen Ergebnis mit einem polyvalenten Antiserum, lässt dies auf einen nicht-O1 *V. cholerae*-Stamm schließen.
- Eine Streichholzkopf-große Kolonien 3 bis 5 Mal in 3 mL einer physiologischen Kochsalzlösung suspendieren und für 15 Minuten bei 121 °C oder für 1 h bei 100 °C erhitzen. Die erhitzte Suspension bei 900 g für 20 Minuten zentrifugieren, den Überstand verwerfen, das Pellet in 0,5 mL einer physiologischen Kochsalzlösung resuspendieren und wie die erhitzte Zellesuspension verwenden.
- V. cholerae* O140 (ist der Serogruppe Hakata zugeordnet) besitzt den Faktor C und D und wird – basierend auf dem Serotyping-Test – als Inaba-Typ bezeichnet.
- Einige *V. fluvialis*-Stämme werden als Faktor C-positiv geführt. Der marine *Vibrio* Bioserogruppentyp 1875 besitzt entweder Faktor B oder C. Eine Differenzierung dieser Stämme von *V. cholerae* wird durch biochemische Test erreicht.
- Teststämmen, die eine Agglutination ausschließlich mit O139 Bengal-Serum zeigen, sollten als *V. cholerae* O139 Bengal erfasst werden.

Hinweis: Eine Differenzierung zwischen El Tor Vibrios und *V. cholerae* O1 ist anhand serologischer Tests nicht möglich.

Limitierungen

Es sollten ausschließlich Testorganismen, die anhand morphologischer und biochemischer Eigenschaften bereits als *V. cholerae* identifiziert wurden, mit diesem Kit auf ihren Serotyp analysiert werden. Die polyvalenten Antiseren sind ausschließlich zur Anwendung im Agglutinationstest geeignet. Monovalente Antiseren werden zur weiterführenden Identifikation zur Anwendung im Agglutinationstest verwendet. Positive Ergebnisse müssen gegebenenfalls durch Röhrchenagglutinationstest bestätigt werden.

Qualitätskontrolle

Die Qualitätskontrolle muss mit mindestens einem positiven und einem negativen Kontrollorganismus durchgeführt werden, um eine positive bzw. negative Reaktion aufzuzeigen. Das Produkt nicht verwenden, sofern die Reaktionen mit den Kontrollorganismen ungenügende Ergebnisse liefern. Reagenzien auf Anzeichen von Verfall prüfen. Reagenzien nicht verwenden, sofern sie kontaminiert oder trüb sind.

Leistungsspektrum

1. Sensitivität

Wenn 1 Tropfen des Antiserums auf dem Objektträger mit einem Referenzstamm bekannten Serotyps reagiert, kann makroskopische Agglutination beobachtet werden.

2. Spezifität

In Tests, die wie beschrieben durchgeführt werden, reagieren die Antiseren nur mit den Referenzstämmen entsprechend der aufgeführten Antigene. Stämme ohne entsprechende Antigene zeigen keine makroskopische Agglutination.

Literaturhinweise

Literatur auf Anfrage erhältlich.