



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 CHOLERAЕ

Utilisation

Antisérums liquides et stables pour le sérotypage de *Vibrio cholerae* O1 et O139.

USAGE IN VITRO UNIQUEMENT

Présentation : voir étiquette sur la boîte.

Principe du test

Lorsque l'antisérum est mélangé à une souche de *V. cholerae* qui possède des antigènes homologues à ceux de l'antisérum, l'antigène et l'anticorps produisent une agglutination macroscopique. L'absence d'antigène et d'anticorps homologues ne produira aucune agglutination. Cette réaction avec une combinaison d'antisérums polyvalents et monovalents est utilisée pour déterminer le sérotype de la souche.

Formule

Les antisérums MAST® ASSURE ANTISERUM sont préparés à partir de lapins hyperimmunisés avec des souches inactivées possédant des sérotypes ou des antigènes de groupes spécifiques connus. La solution contient 0,085% d'azoture de sodium comme conservateur

Stabilité et stockage

Conserver fermé à 2 à 8°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la boîte. Avant et après ouverture, les antisérums MAST® ASSURE ANTISERUM stockés à 2 à 8°C sont stables et peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette de la boîte.

Ne pas congeler les réactifs.

Précautions d'emploi

Usage *in vitro* uniquement. Respecter les précautions d'usage contre les risques biologiques et les conditions d'aseptie. Ne doit être utilisé que par un personnel de laboratoire correctement formé et qualifié. Stériliser tous les déchets biocontaminés avant de les jeter. L'azoture de sodium, utilisé comme conservateur, peut être toxique lorsqu'il est ingéré. Il peut réagir avec le plomb et le cuivre des canalisations pour former des sels explosifs. Rincer abondamment à l'eau. Se référer à la fiche de sécurité du produit.

Matériel nécessaire non fourni

Matériel et équipements microbiologiques standards tels que des anses, des micropipettes, des marqueurs, des lames d'agglutination pour microscope en verre, des milieux de culture MAST®, des incinérateurs et des incubateurs, etc. mais aussi des réactifs et des additifs dont une solution saline stérile à 0,85%.

Procédure

Agglutination sur lame de germes vivants

1. Diviser une lame propre en zones à m'aide d'un marqueur et déposer 5 à 10 µl de solution saline stérile à 0,85% dans chaque zone. Avec une anse de platine ou jetable, prélever une colonie de 1 à 2 mm à partir d'une culture fraîche sur gélose nutritive et mélanger dans chaque goutte de solution saline pour obtenir une suspension homogène.
2. Déposer une goutte d'antisérum polyvalent (30 à 40 µl) par goutte d'isolat émulsifié à tester et une goutte de solution saline (30 à 40 µl) pour le contrôle.
Remarque: Ne pas contaminer le compte-goutte du flacon d'antisérum.
3. Mélanger les réactifs en agitant la lame d'avant en arrière pendant 60 secondes tout en l'observant sous une lumière indirecte en contraste de phase.
4. Une agglutination nette dans la zone de test durant cette période, avec absence d'agrégation dans la solution saline de contrôle (auto-agglutination) correspond à un résultat positif.

Interprétation des résultats

- L'isolat donnant une réaction positive avec un antisérum polyvalent est présumé appartenir à *V. cholerae* O1.
- L'antisérum *V. cholerae* polyvalent contient des agglutinines pour les facteurs A, B et C. L'antisérum *V. cholerae* sérovar Ogawa contient des agglutinines pour le facteur B. L'antisérum *V. cholerae* sérovar Inaba contient des agglutinines pour le facteur C.
- D'avantage de test doivent être effectués avec des antisérums monovalents comme décrit dans les étapes 1 à 3. Les échantillons qui produisent une agglutination uniquement avec des sérums Inaba

doivent être considérés comme des *V. cholerae* portant l'antigène O1 sérovar Inaba. Les échantillons qui produisent une agglutination uniquement avec des sérums Ogawa doivent être considérés comme des *V. cholerae* portant l'antigène O1 sérovar Ogawa. Les échantillons produisant une agglutination avec les deux types de sérum doivent être notés, comme les souches de type Ogawa peuvent produire des traces de facteur C et donner une légère réaction avec l'antisérum Inaba. *V. cholerae* O1 sérovar Hikojima (qui contient des antigènes des deux facteurs B et C) présente une forte réaction avec les antiséras Ogawa et Inaba.

- avec l'antisérum polyvalent par rapport à l'antisérum sérovar Ogawa.
- Le sérotypage avec des cellules vivantes peut ne pas être possible avec certaines souches de *V. cholerae* O1. Les résultats négatifs avec un antisérum polyvalent, ou lorsqu'un antisérum polyvalent présente un résultat positif et le monovalent un résultat négatif, doivent être retestés en chauffant une suspension d'antigène comme indiqué ci-dessous. Lorsque l'antigène chauffé d'une souche donne un résultat négatif avec un antisérum polyvalent, il doit être identifié comme une souche de *V. cholerae* non-O1. Suspendre 3 à 5 fois la taille d'une tête d'allumette d'organisme dans 3 mL de solution physiologique saline et chauffer à 121°C pendant 15 minutes ou à 100°C pendant 1 heure. Centrifuger la solution chauffée à 900 g pendant 20 minutes, jeter le surnageant, suspendre le culot dans 0,5 mL de solution physiologique et utiliser comme suspension cellulaire chauffée.
- *V. cholerae* O140 (appelé séro groupe Hakata) possède les facteurs C et D et est considéré comme un type Inaba, d'après le test de sérotypage.
- Certaines souches de *V. fluvialis* possèdent le facteur C. Le biosérogroupe 1875 de *Vibrio Marin* 1875 possède le facteur B ou C. Ces souches se distinguent de *V. cholerae* lors des tests biochimiques.
- Les échantillons donnant une agglutination uniquement avec le sérum O139 Bengal doivent être considérés comme des *V. cholerae* portant l'antigène o139 Bengal.

Remarque : Ne pas oublier que les *Vibrio* El Tor ne peuvent pas être distingués de *V. cholerae* O1 par les techniques sérologiques.

Limites d'utilisation

Seules les souches identifiées comme *V. cholerae* par leurs caractères morphologiques et biochimiques peuvent être sérotypées avec ce produit.

Les antisérums polyvalents sont utilisés pour le typage par agglutination rapide sur lame uniquement. Les antisérums monovalents sont utilisés pour le typage par agglutination rapide sur lame pour d'avantage d'identifications.

Les résultats positifs peuvent être confirmés par des tests d'agglutination en tube.

Contrôle de qualité

Le contrôle de qualité devrait être effectué avec au moins une souche de contrôle positive et au moins une souche de contrôle négative. Ne pas utiliser le produit si les réactions avec les souches de contrôle sont incorrectes.

Ne pas utiliser des réactifs contaminés ou troubles.

Performance

1. Sensibilité

Lorsqu'on laisse réagir 1 goutte d'antisérum sur une lame avec un sérotype connu d'une souche de référence, on observe une agglutination macroscopique granulaire.

2. Spécificité

Dans les tests effectués comme décrit, les antisérums respectifs ne réagissent qu'avec des souches de référence correspondant aux antigènes spécifiés, tandis que les souches avec des antigènes non correspondants ne présentent aucune agglutination macroscopique.

Références

Bibliographie disponible sur demande.