

BD Difco™ Vibrio Cholerae Antisera

English: pages 1 – 4 Italiano: pagine 12 – 15
Français : pages 4 – 8 Español: páginas 15 – 19
Deutsch: Seiten 8 – 12

 8085879(04)
2016-03

R_x Only

Contact your local BD representative for instructions. / Свържете се с местния представител на BD за инструкции. / Pokyny vám poskytne místní zástupce společnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Ota yhteyts lähimpään BD:n edustajaan ohjeiden saamiseksi. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőtől. / Нұсқаулар үшін жергілікті BD өкілімен хабарласыңыз. / Lai saņemtu norādījumus, sazinieties ar vietējo BD pārstāvi. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Neem contact op met uw plaatselijke BD-vertegenwoordiger voor instructies. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o representante local da BD para instruções. / Pentru instrucțiuni, contactați reprezentantul local BD. / Для получения указаний обратитесь к местному представителю компании BD. / Inštrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Kontakta närmaste BD-representant för anvisningar. / Talimatlar için yerel BD temsilcinizle temasa geçin. / За інструкціями зверніться до місцевого представника компанії BD.

INTENDED USE

Difco™ *Vibrio Cholerae* antisera are recommended for use in slide agglutination tests for the identification and serotyping of *Vibrio cholerae*.

SUMMARY AND EXPLANATION

V. cholerae is the causative agent of cholera. The spread of the disease is primarily through contaminated water and the fecal-oral route. If not treated, patients with severe cholera may die within five hours from massive fluid and electrolyte loss.¹ Because *Vibrio* spp. are natural inhabitants of aquatic environments, food products, such as uncooked seafoods or seafoods incorrectly handled, can spread infection. Gastrointestinal symptoms of cholera include “rice water stools” caused by a potent enterotoxin. From humans, the primary specimen is feces. Seafood products are frequently tested as vehicles of human infection.

Gardner and Ventkatraman² defined the identification of *Vibrio cholerae* as the recognition of the somatic antigen O1 (O group 1) as evidenced by agglutination with O1 (polyvalent) antiserum.

V. cholerae of the O1 serogroup are divided into serotypes: Ogawa, Inaba and Hikojima.^{1,3} The antigenic factors are:

Serotype	O Antigen Factors
Ogawa	AB
Inaba	AC
Hikojima	ABC

V. cholerae are facultative anaerobes that by microscopic morphology are gram-negative curved or straight bacilli. The microorganisms either require sodium chloride or grow best in its presence. Various special media designed to select and cultivate this microorganism are used in clinical and food microbiology laboratories and for environmental testing.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

Identification of *V. cholerae* includes the isolation of the microorganism, biochemical identification and serological confirmation.

Serological confirmation involves the reaction in which the microorganism (antigen) reacts with its corresponding antibody. This *in vitro* reaction produces macroscopic clumping called agglutination. The desired homologous reaction is rapid, binds strongly (high affinity) and does not dissociate (high avidity).

Because a microorganism (antigen) may agglutinate with an antibody produced in response to some other species, heterologous reactions are possible. Such unexpected and perhaps unpredictable reactions may lead to some confusion in serological identification. Therefore, a positive homologous agglutination reaction should support the morphological and biochemical identification of the microorganism. Homologous reactions occur rapidly and are strong. Heterologous reactions form slowly and are weak.

REAGENTS

Difco *Vibrio Cholerae* antisera are stable, lyophilized polyclonal rabbit *Vibrio cholerae* O1 antisera containing approximately 0.2% sodium azide as a

preservative. **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa and **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba are monospecific absorbed antisera.

Difco Vibrio Cholerae Antiserum Poly and the absorbed **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa and **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba contain the following antibodies:

Antiserum	O Antibodies
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Poly	ABC
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa	B
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Inaba	C

When reconstituted and used as described, each vial of **Difco** Vibrio Cholerae antisera contains sufficient reagent for 60 slide tests.

Warnings and Precautions:

For *in vitro* Diagnostic Use.

This Product Contains Dry Natural Rubber.

Observe aseptic techniques and established precautions against microbiological hazards throughout all procedures. After use, specimens, containers, slides, tubes and other contaminated material must be sterilized by autoclaving. Directions for use should be followed carefully.

WARNING: This product contains sodium azide. Sodium azide is toxic by inhalation, by skin contact, and if swallowed. Contact with acid liberates very toxic gas. After contact with skin, wash immediately with plenty of water. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.

Warning



H302 Harmful if swallowed. **P264** Wash thoroughly after handling. **P301+P312** IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor if you feel unwell. **P501** Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

Storage: Store lyophilized and reconstituted **Difco** Vibrio Cholerae antisera at 2–8 °C. Expiration date applies to product in its intact container when stored as directed.

Prolonged exposure of reagents to temperatures other than those specified is detrimental to the products.

Discard any antiserum that is cloudy or has a precipitate after rehydration or storage unless it can be clarified by centrifugation or filtration and demonstrates proper reactivity with validated positive and negative controls. Gross turbidity indicates contamination and such antisera should be discarded.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Clinical Specimens:

V. cholerae can be recovered from clinical specimens on selective media, such as TCBS (thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose) agar. For specific recommendations, consult appropriate references.⁴⁻⁶ Determine that a pure culture of the microorganism has been obtained and that biochemical test reactions are consistent with the identification of the organism as *V. cholerae*. After these criteria are met, serological identification can be performed.

Food Specimens:

V. cholerae can be recovered from various types of foods, particularly seafood, when samples are processed to prevent overgrowth of competing microorganisms and selective media are used to enhance the growth of the microorganism. Some isolation media have been specifically developed for the food industry. Consult appropriate references for recommended procedures when testing food samples.^{7,8} After following an established protocol, determine that a pure culture of the microorganism has been obtained and that biochemical test reactions are consistent with the identification of the organism as *V. cholerae*. After these criteria are met, the serologic identification can be performed.

The isolate for serological testing should be subcultured from selective media to a nonselective agar, such as Nutrient Agar.

PROCEDURE

Materials Provided: **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly, **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa and **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba.

Materials Required But Not Provided: Agglutination slides, applicator sticks and sterile 0.85% saline.

Reconstitution/Reagent Preparation:

Equilibrate all materials to room temperature before performing the tests. Ensure that all glassware and pipettes are clean and free of residues, such as detergents.

To reconstitute **Difco** Vibrio Cholerae antiserum add 3 mL of sterile 0.85% saline and rotate gently to completely dissolve the contents.

Test isolate for autoagglutination:

1. From the test culture on nonselective media, transfer a loopful of growth to a drop (approximately 35 μ L) of sterile 0.85% saline on a clean slide and emulsify the organism.
2. Rotate the slide for 1 min, then observe for agglutination.
3. If agglutination (autoagglutination) occurs, the culture is rough and cannot be tested. Subculture to nonselective agar, incubate and test the organism again as described in steps 1 and 2.
4. If no agglutination occurs, proceed with testing the organism.

Test Procedure

Use the **Difco**™ Vibrio Cholerae Antiserum Poly to screen possible *V. cholerae* isolates. Continue testing with **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa and **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba.

1. Dispense a drop of the **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum to be tested on an agglutination slide.
2. Transfer a loopful of growth of the test organism to the drop of antiserum and mix thoroughly.
3. Rotate the slide for 1 min and read for agglutination.

User Quality Control

At the time of use, test both positive and negative antigen controls to check performance of the antisera, techniques and methodology.

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent CLSI guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

RESULTS

1. Read and record results as follows:

4+	100% agglutination; background is clear to slightly hazy
3+	75% agglutination; background is slightly cloudy
2+	50% agglutination; background is moderately cloudy
1+	25% agglutination; background is cloudy
–	No agglutination
2. The positive control should show 3+ or greater agglutination.
3. The negative control should show no agglutination.
4. For the test isolates, a 3+ or greater agglutination within 1 min is a positive result.

INTERPRETATION OF RESULTS

1. Positive agglutination using **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly with typical biochemical test results gives presumptive identification of *V. cholerae* O1.
2. Cultures with positive agglutination in **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly may be serotyped using the **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa and **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba. Positive agglutination in both antisera is rare and, when it occurs, is usually interpreted as identifying *V. cholerae* serotype Hikojima.⁹ *V. cholerae* serotype Hikojima is a rare serotype and should be sent to a reference laboratory for further study.
3. Positive agglutination will be immediate and strong. The strongest and most rapid reaction should be used to identify the serotype, because *V. cholerae* O1 strains frequently cross-react slowly or weakly in monospecific antiserum for the other serotype.
4. Isolates that weakly or slowly agglutinate with **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly and not with **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba or **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa are usually considered *V. cholerae* non-O1. The isolate may be sent to a reference laboratory for further study.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. Correct interpretation of serological reactions depends upon culture purity, morphological characteristics and biochemical reactions that are consistent with identification of the microorganism as *V. cholerae*.
2. Serologic methods alone cannot identify the isolate as *V. cholerae*.
3. Excessive heat from external sources (hot bacteriological loop, burner flame, light source, etc.) may prevent a smooth suspension of the microorganism or cause evaporation or precipitation of the test mixture. False positive reactions may occur.
4. Rough culture isolates do occur and will agglutinate spontaneously causing agglutination of the negative control (autoagglutination). Smooth colonies must be selected and tested in serological procedures.
5. **Difco** Vibrio Cholerae antisera have been tested using undiluted cultures taken from agar media. These antisera have not been tested using antigen suspensions in saline or other diluents. If the user applies variations in the recommended steps

each lot of antiserum must be tested with known control cultures to verify expected reactions under the modified procedure.

6. Reconstituted **Difco** *Vibrio Cholerae* Antiserum that is cloudy or has a precipitate at any time during its period of use should be discarded.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity of **Difco** *Vibrio Cholerae* antisera is determined by demonstrating appropriate reactivity, as defined in the "Results" section, against a battery of well-characterized homologous *Vibrio cholerae* cultures with known antigenic reactivity (refer to the table below). Specificity is determined by demonstrating non-reactivity against non-related (heterologous) *Vibrio cholerae* cultures.

Cat. No.	Product	Homologous Cultures Tested
224321	<i>Vibrio Cholerae</i> Antiserum Poly	Hikojima 18 Hikojima 18ss Ogawa Bu93 Ogawa 1321 CDC Ogawa 20-A-11 Ogawa 11 CDC Ogawa VRL 628 Inaba 6 Inaba 11 CDC Inaba 35 A3NIH Inaba 6 CDC
224311	<i>Vibrio Cholerae</i> Antiserum Ogawa	Ogawa Bu93 Ogawa 1321 CDC Ogawa 20-A-11 Ogawa 11 CDC Ogawa VRL 628
224301	<i>Vibrio Cholerae</i> Antiserum Inaba	Inaba 6 Inaba 11 CDC Inaba 35 A3NIH Inaba 6 CDC

AVAILABILITY

Cat. No. Description

- 224321 **BD Difco™** *Vibrio Cholerae* Antiserum Poly, 3 mL
 224311 **BD Difco™** *Vibrio Cholerae* Antiserum Ogawa, 3 mL
 224301 **BD Difco™** *Vibrio Cholerae* Antiserum Inaba, 3 mL

REFERENCES

1. World Health Organization. 2001. Weekly Epidemiol. Record. 76: 117-124.
2. Gardner, A.D., and K.V. Venkatraman. 1935. The antigen of the cholera group of vibrios. J. Hyg. 35:262-282.
3. Nobechi, K. 1923. Contributions to the knowledge of *V. cholerae*. 3. Immunological studies upon the types of *V. cholerae*. Sci. Repr. Govt. Inst. Infect. Dis. 2:43-87.
4. Farmer III, J.J., J.M. Janda and K. Birkhead. 2003. *Vibrio*, p. 706-718. In P.R. Murray, E.J. Barron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Pezzlo, M. 1992. Aerobic bacteriology, p.1.0.1-1.20.47. In H. D. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Forbes, B.A., D.F. Sahm, A.S Weissfeld and E.A. Trevino. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis, Mo.
7. Kaysner, C.A., and A. DePaola, Jr. 2001. *Vibrio*, p. 405-420. In F.P Downes and K. Ito (ed.), Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
8. AOAC International. 2001. FDA bacteriological analytical manual online. <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-mm.html>>.
9. Kelly, M.T., F.W. Hickman-Brenner and J.J Farmer III. 1991. *Vibrio*, p. 384-395. In A. Ballows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society of Microbiology, Washington, D.C.

Technical Information: In the United States contact BD Technical Service and Support at 800-638-8663 or www.bd.com/ds.

BD Difco *Vibrio Cholerae* Antisera

Français

APPLICATION

Les **Difco** *Vibrio Cholerae* Antisera (sérums anti-*Vibrio cholerae* **Difco**) sont recommandés pour réaliser les tests d'agglutination sur lame servant à l'identification et au sérotypage de *Vibrio cholerae*.

RESUME ET EXPLICATION

V. cholerae est l'agent pathogène du choléra. La contagion s'effectue principalement par l'absorption d'eau contaminée et la voie oro-fécale. En l'absence de traitement, un patient atteint d'une forme grave du choléra peut décéder dans les cinq heures à la suite de pertes massives d'électrolytes et de liquides biologiques.¹ Comme l'environnement aquatique constitue l'habitat naturel de *Vibrio* spp., les produits alimentaires, parmi lesquels les poissons et fruits de mer crus ou avariés, peuvent transmettre l'infection.

Les symptômes gastro-intestinaux du choléra sont notamment des selles liquides, afécales, ayant l'aspect « d'eau de riz » provoquées par une puissante entérotoxine. Chez l'homme, le principal échantillon est constitué par les fèces. Les poissons et fruits de mer sont fréquemment testés comme vecteurs d'infection potentiels chez l'homme.

Gardner et Ventkatraman² ont défini l'identification de *Vibrio cholerae* comme la reconnaissance de l'antigène somatique O1 (O groupe 1) démontrée par l'agglutination observée avec l'antisérum O1 (polyvalent).

Les *V. cholerae* appartenant au sérogroupe O1 se répartissent en plusieurs sérotypes : Ogawa, Inaba et Hikojima.^{1,3} Les facteurs antigéniques sont :

Sérotype	Facteurs antigène O
Ogawa	AB
Inaba	AC
Hikojima	ABC

Les *V. cholerae* sont des anaérobies facultatifs se présentant à l'analyse histologique sous forme de bacilles droits ou courbes à Gram négatif. Leur croissance est facilitée voire conditionnée par la présence de chlorure de sodium. Différents milieux spéciaux, conçus pour sélectionner et cultiver ce microorganisme, sont utilisés par les laboratoires de microbiologie alimentaire et clinique, et lors de tests de contrôle de l'environnement.

PRINCIPES DE LA METHODE

L'identification de *V. cholerae* comprend l'isolement du microorganisme, son identification biochimique et sa confirmation sérologique.

La confirmation sérologique implique une réaction dans laquelle un antigène du microorganisme réagit avec l'anticorps correspondant. Cette réaction *in vitro* entraîne une formation d'agréats macroscopiques appelée agglutination. La réaction homologue souhaitée est rapide, ne dissocie pas (avidité élevée) et lie fermement (affinité élevée).

Comme l'antigène du microorganisme peut agglutiner un anticorps produit en réponse à une infection par d'autres espèces bactériennes, des réactions hétérologues sont possibles. Ces réactions inattendues et éventuellement imprévisibles peuvent conduire à une identification sérologique imprécise. Ainsi, une réaction d'agglutination homologue positive doit concorder avec l'identification du microorganisme sur la base de ses caractéristiques biochimiques et morphologiques. Les réactions homologues se produisent rapidement et sont fortes. Les réactions hétérologues se forment lentement et sont faibles.

REACTIFS

Les **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum sont des antisérums de lapin polyclonales stables et lyophilisées de *Vibrio cholerae* O1, contenant environ 0,2 % d'azide de sodium (conservateur). Le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa et le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba sont des antisérums rendus monospécifiques par absorption.

Le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa, et le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba rendus monospécifiques par absorption, ainsi que le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum possèdent les anticorps suivants :

Antisérum	Anticorps anti-O
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Poly	ABC
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa	B
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Inaba	C

Convenablement reconstitué et utilisé conformément aux instructions, un flacon de **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum permet de réaliser 60 tests sur lame.

Avertissements et précautions :

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Ce produit contient du caoutchouc naturel sec.

Respecter les techniques d'asepsie et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les échantillons, les récipients, les lames, les tubes et tout autre matériel contaminé. Respecter scrupuleusement le mode d'emploi.

AVERTISSEMENT : Ce produit contient de l'azide de sodium, qui est toxique par inhalation, contact avec la peau ou ingestion. Au contact d'un acide, un gaz

très toxique est dégagé. Après tout contact avec la peau, laver immédiatement à grande eau. L'azide de sodium peut réagir au contact du plomb ou du cuivre des canalisations et former des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination, faire couler un volume d'eau important pour éviter l'accumulation d'azides.

Attention



H302 Nocif en cas d'ingestion. **P264** Se laver soigneusement après manipulation. **P301+P312** EN CAS D'INGESTION: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. **P501** Éliminer le contenu/récipient conformément aux règlements locaux/régionaux/nationaux/internationaux.

Conservation : Conserver les **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum lyophilisés et reconstitués à une température comprise entre 2 et 8 °C.

La date de péremption s'applique au produit contenu dans son emballage intact et conservé conformément aux instructions.

L'exposition prolongée des réactifs à des températures autres que les températures spécifiées a un effet adverse sur ceux-ci.

Jeter tout antisérum présentant un aspect trouble ou un précipité après la réhydratation ou le stockage, sauf s'il peut être clarifié par centrifugation ou filtration et si sa réactivité est correcte, avec des contrôles validés positifs et négatifs. Une turbidité visible est synonyme de contamination et, dans ce cas, l'antisérum doit être mis au rebut.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Echantillons cliniques :

V. cholerae peut être isolé à partir d'échantillons cliniques sur milieux sélectifs comme la gélose TCBS (thiosulfate-citrate-sels biliaires-saccharose). Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations.⁴⁻⁶ Vérifier la pureté de la culture et s'assurer que les résultats des tests biochimiques concordent avec l'identification du microorganisme comme *V. cholerae*. Si ces conditions sont remplies, l'identification sérologique peut être effectuée.

Echantillons alimentaires :

V. cholerae peut être isolé à partir de divers produits alimentaires, notamment les poissons et fruits de mer, en traitant les échantillons afin d'empêcher une croissance excessive des microorganismes concurrents et en utilisant des milieux sélectifs pour favoriser la croissance du microorganisme. Certains milieux d'isolement ont été mis au point spécialement pour l'industrie alimentaire. Consulter les publications citées en référence pour connaître les méthodes de test recommandées des échantillons alimentaires.^{7,8} Après avoir suivi un protocole établi, vérifier la pureté de la culture et s'assurer que les résultats des tests biochimiques concordent avec l'identification du microorganisme comme *V. cholerae*. Si ces conditions sont remplies, l'identification sérologique peut être effectuée.

L'isolat destiné au test sérologique doit être repiqué à partir du milieu sélectif sur une gélose non sélective telle que la gélose nutritive.

METHODE

Matériaux fournis : **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly, **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa et **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba.

Matériaux requis mais non fournis : Lames à agglutination, écouvillons et sérum physiologique stérile à 0,85 %.

Reconstitution/préparation du réactif :

Laisser le matériel s'équilibrer jusqu'à la température ambiante avant d'effectuer les tests. S'assurer que la verrerie et les pipettes utilisées sont propres et exemptes de résidus, comme des traces de détergent.

Pour reconstituer le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum, ajouter 3 mL de sérum physiologique stérile à 0,85 % et faire tourner doucement jusqu'à dissolution complète du contenu.

Test d'autoagglutination de l'isolat :

1. A l'aide d'un ensementeur, prélever une anse de la culture à analyser sur une boîte de milieu non sélectif, transférer le contenu dans une goutte (environ 35 µL) de sérum physiologique stérile à 0,85 % déposé sur une lame propre et mettre en suspension les microorganismes.
2. Agiter pendant 1 min par un mouvement de rotation de la lame, puis observer s'il se produit une réaction d'agglutination.
3. Si une agglutination se produit (autoagglutination), la culture n'est pas pure et ne peut pas être testée. Repiquer la culture sur gélose non sélective, incuber et tester de nouveau le microorganisme comme expliqué aux étapes 1 et 2.
4. En l'absence d'agglutination, procéder au test du microorganisme.

Mode opératoire du test

Utiliser le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly pour tester les isolats de *V. cholerae* présomptifs. Poursuivre le test avec le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa et le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba.

1. Déposer 1 goutte du **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum à tester sur une lame à agglutination.
2. A l'aide d'un enseigneur, transférer une pleine anse de culture bactérienne à analyser dans la goutte d'antisérum et bien mélanger.
3. Agiter pendant 1 min par un mouvement de rotation de la lame, puis observer s'il se produit une réaction d'agglutination.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Tester dans la même série des antigènes de contrôles positif et négatif pour contrôler les performances de l'antisérum, des techniques et de la méthodologie.

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

RESULTATS

1. Lire et reporter les résultats comme suit :

4+	100 % d'agglutination ; fond clair à légèrement voilé
3+	75 % d'agglutination ; fond légèrement trouble
2+	50 % d'agglutination ; fond moyennement trouble
1+	25 % d'agglutination ; fond trouble
–	Absence d'agglutination
2. Le contrôle positif doit provoquer une agglutination de niveau 3+ ou supérieur.
3. Le contrôle négatif ne doit présenter aucune agglutination.
4. S'agissant des isolats à tester, une agglutination de niveau 3+ ou supérieur en moins d'1 min constitue un résultat positif.

INTERPRETATION DES RESULTATS

1. Un résultat d'agglutination positif avec le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly associé à des résultats de tests biochimiques concordants constitue une identification présomptive de *V. cholerae* O1.
2. Les cultures présentant une agglutination positive avec le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly peuvent être sérotypées en utilisant le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa et le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba. Une agglutination positive avec les deux types d'antisérums est rarement observée ; elle est alors habituellement interprétée comme identifiant le sérotype Hikojima de *V. cholerae*.⁹ L'isolat correspondant à ce sérotype rare de *V. cholerae* doit être envoyé à un laboratoire de référence pour des analyses complémentaires.
3. Une agglutination positive doit intervenir immédiatement et présenter une forte affinité. La réaction montrant la plus forte affinité et la vitesse la plus élevée sera obligatoirement utilisée pour identifier le sérotype, car les souches de *V. cholerae* O1 produisent fréquemment une réaction croisée lente ou de faible affinité avec l'antisérum monospécifique correspondant à l'autre sérotype.
4. Les isolats qui présentent une agglutination faible ou lente avec le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly sans produire d'agglutination avec le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba ou le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa sont habituellement considérés comme des souches *V. cholerae* non O1. L'isolat peut être adressé à un laboratoire de référence pour des analyses complémentaires.

LIMITES DE LA PROCEDURE

1. La pertinence de l'interprétation des réactions sérologiques est fonction de la pureté de la culture et de la concordance des réactions biochimiques et des caractéristiques morphologiques identifiant le microorganisme comme *V. cholerae*.
2. Utilisées seules, les méthodes sérologiques ne suffisent pas à identifier un isolat comme étant *V. cholerae*.
3. Une source de chaleur externe excessive (anse d'enseigneur brûlante, flamme du bec bunsen, source lumineuse, etc.) peut empêcher d'obtenir une suspension fluide du microorganisme ou entraîner une évaporation ou la précipitation du mélange réactionnel. Des faux positifs risquent d'être obtenus.
4. Des isolats de culture non purs sont parfois obtenus et provoquent une agglutination spontanée entraînant l'agglutination du contrôle négatif (autoagglutination). Choisir des colonies lisses et les tester suivant les méthodes sérologiques.
5. Les **Difco** Vibrio Cholerae Antisera ont été testés sur des cultures non diluées prélevées sur milieu gélosé. Ces antisérums n'ont pas été testés sur des suspensions d'antigène réalisées dans du sérum physiologique ou d'autres diluants. Si l'utilisateur apporte des variations aux étapes recommandées, chaque lot d'antisérum doit être testé en utilisant des cultures contrôles

connues, afin de s'assurer que la méthode modifiée permet d'obtenir les résultats escomptés.

6. Eliminer le **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum reconstitué s'il est trouble ou présente un précipité, même temporairement, en cours d'utilisation.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

La sensibilité des **Difco** Vibrio Cholerae Antisera est déterminée en démontrant une réactivité conforme, définie dans la section « Résultats », contre une batterie de cultures homologues bien caractérisées de *Vibrio cholerae*, de réactivité antigénique connue (consulter le tableau ci-dessous). La spécificité est déterminée en démontrant une absence de réactivité contre les groupes non-apparentés de *Vibrio cholerae* (hétérologues).

N° réf.	Produit	Cultures homologues testées
224321	Vibrio Cholerae Antiserum Poly	Hikojima 18 Hikojima 18ss Ogawa Bu93 Ogawa 1321 CDC Ogawa 20-A-11 Ogawa 11 CDC Ogawa VRL 628 Inaba 6 Inaba 11 CDC Inaba 35 A3NIH Inaba 6 CDC
224311	Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa	Ogawa Bu93 Ogawa 1321 CDC Ogawa 20-A-11 Ogawa 11 CDC Ogawa VRL 628
224301	Vibrio Cholerae Antiserum Inaba	Inaba 6 Inaba 11 CDC Inaba 35 A3NIH Inaba 6 CDC

CONDITIONNEMENT

N° réf. Description

224321 **BD Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly, 3 mL

224311 **BD Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa, 3 mL

224301 **BD Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba, 3 mL

REFERENCES : Voir la section « References » dans la notice en anglais.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site www.bd.com/ds.

BD Difco Vibrio Cholerae Antisera

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Difco Vibrio Cholerae Antisera (**Difco**-Vibrio Cholerae-Antiseren) werden für Objektträger-Agglutinationstests zur Identifizierung und Serotypisierung von *Vibrio cholerae* empfohlen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

V. cholerae ist der Erreger der Cholera. Die Ausbreitung dieser Krankheit erfolgt hauptsächlich durch kontaminiertes Wasser und auf fäkal-oralem Wege. Bei ausbleibender Behandlung können schwer an Cholera Erkrankte innerhalb von fünf Stunden infolge massiver Flüssigkeits- und Elektrolytverluste sterben.¹ Da *Vibrio* spp. natürliche Bewohner von Gewässern sind, kann die Infektion durch Lebensmittel, wie bspw. rohen oder falsch gehandhabten Fisch, verbreitet werden.

Zu den gastrointestinalen Symptomen von Cholera zählen die durch ein starkes Enterotoxin ausgelösten sogenannten „Reiswasserstühle“. Die hauptsächlichste Human-Probenart ist Stuhl. Häufig werden Fisch- und Schalentierprodukte als Träger von Human-Infektionserregern getestet.

Gardner und Ventkatraman² definierten die Identifizierung von *Vibrio cholerae* als die Erkennung des Körperantigens O1 (O-Gruppe 1), ersichtlich aus der Agglutination mit (polyvalentem) O1-Antiserum.

V. cholerae der Serogruppe O1 wird in folgende Serotypen unterteilt: Ogawa, Inaba und Hikojima.^{1,3} Die Antigenfaktoren sind:

Serotyp	O-Antigenfaktoren
Ogawa	AB
Inaba	AC
Hikojima	ABC

V. cholerae sind fakultativ anaerobe Organismen, die unter dem Mikroskop die Morphologie gramnegativer gekrümmter oder gerader Bazillen zeigen. Diese Mikroorganismen benötigen Natriumchlorid bzw. wachsen in dessen Gegenwart optimal. In klinischen und Lebensmittel-Mikrobiologielabors sowie beim Testen von Umweltproben werden verschiedene spezielle Medien für die Selektierung und Kultivierung dieses Mikroorganismus verwendet.

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Die Identifizierung von *V. cholerae* umfasst die Isolierung des Mikroorganismus, die biochemische Identifizierung und die serologische Bestätigung.

Als serologischer Nachweis zählt die Reaktion, bei der der Mikroorganismus (Antigen) mit dem entsprechenden Antikörper reagiert. Bei dieser *In-vitro*-Reaktion kommt es zur makroskopischen Verklumpungen, der sogenannten Agglutination. Die gewünschte homologe Reaktion sollte rasch, mit starker Bindung (hoher Affinität) und ohne Dissoziation (hohe Avidität) erfolgen.

Da ein Mikroorganismus (Antigen) auch mit Antikörpern agglutinieren kann, die als Reaktion auf andere Spezies gebildet wurden, sind heterologe Reaktionen möglich. Derartige unerwartete und evtl. unvorhersehbare Reaktionen können bei der serologischen Identifizierung einige Verwirrung stiften. Daher sollte eine positive homologe Agglutinationsreaktion die morphologische und biochemische Identifizierung des Mikroorganismus unterstützen. Homologe Reaktionen laufen schnell und heftig ab. Heterologe Reaktionen laufen langsam und schwach ab.

REAGENZIEN

Difco Vibrio Cholerae Antisera sind stabile, lyophilisierte, polyklonale Kaninchen-*Vibrio cholerae*-O1-Antisera und enthalten ca. 0,2% Natriumazid als Konservierungsmittel. Das **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa und das **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba sind monospezifische absorbierte Antisera.

Das **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly und das absorbierte **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa sowie das absorbierte **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba enthalten die folgenden Antikörper:

Antiserum	O-Antikörper
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Poly	ABC
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa	B
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Inaba	C

Bei korrekter Rekonstituierung und vorschriftsmäßiger Anwendung enthält jedes Fläschchen **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum eine ausreichende Reagenzienmenge für 60 Objektträger-Tests.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-vitro-Diagnostikum.

Dieses Produkt enthält Naturkautschuk (getrocknet).

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung aseptischer Arbeitsweise und der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen erfolgen. Nach Gebrauch sind Proben, Behälter, Objektträger, Röhrchen und sonstiges kontaminiertes Material im Autoklaven zu sterilisieren. Die Gebrauchsanleitung ist sorgfältig zu befolgen.

WARNUNG: Dieses Produkt enthält Natriumazid, das beim Einatmen, bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken sehr giftig ist. Bei Kontakt mit Säure entstehen hochgiftige Gase. Bei Kontakt mit der Haut sofort mit viel Wasser abwaschen. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferleitungen reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen mit sehr viel Wasser nachspülen, um Ansammlungen von Azid zu vermeiden.

Achtung



H302 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. **P264** Nach Gebrauch gründlich waschen. **P301+P312** BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. **P501** Inhalt/Behälter gemäß den örtlichen/regionalen/nationalen/internationalen Bestimmungen entsorgen.

Aufbewahrung: Lyophilisierte und rekonstituierte **Difco** Vibrio Cholerae Antisera bei 2–8 °C aufbewahren.

Das Verfallsdatum gilt für das im unversehrten Behälter aufbewahrte Produkt bei Einhaltung der Lagervorschriften.

Werden die Reagenzien längere Zeit anderen Temperaturen ausgesetzt als vorgeschrieben, ist dies den Produkten abträglich.

Trübe Antisera oder solche, die nach Rehydrierung oder Aufbewahrung Niederschläge zeigen, sind zu entsorgen, es sei denn, sie können durch Zentrifugieren und Filtrieren geklärt werden und zeigen einwandfreie Reaktivität mit validierten positiven und negativen Kontrollen. Starke Trübung ist ein Hinweis auf Kontamination und Antisera, die diese aufweisen, sollten entsorgt werden.

PROBENENTNAHME UND -VORBEREITUNG

Klinische Proben:

V. cholerae kann aus klinischen Proben auf Selektiv-Medien (wie bspw. TCBS [Thiosulfat-Zitrat-Gallensalz-Saccharose-Agar]) gewonnen werden. Spezifische Empfehlungen sind der einschlägigen Literatur zu entnehmen.⁴⁻⁶ Sicherstellen, dass eine Reinkultur des Mikroorganismus gewonnen wurde und die biochemischen Testreaktionen der Identifizierung des Organismus als *V. cholerae* entsprechen. Sind diese Kriterien erfüllt, kann die serologische Identifizierung durchgeführt werden.

Nahrungsmittelproben:

V. cholerae kann aus verschiedenen Lebensmitteln, insbesondere Fisch und Schalentieren, gewonnen werden, wenn die Proben zur Vermeidung von Überwachsung durch konkurrierende Mikroorganismen behandelt und Selektiv-Medien zur Förderung des interessierenden Mikroorganismus-Wachstums verwendet werden. Einige Isolat-Medien wurden speziell für die Lebensmittelindustrie entwickelt. Empfohlene Verfahren für das Testen von Nahrungsmittelproben sind der einschlägigen Literatur zu entnehmen.^{7,8} Nach der exakten Durchführung eines anerkannten Protokolls sicherstellen, dass eine Reinkultur des Mikroorganismus gewonnen wurde und die biochemischen Testreaktionen der Identifizierung des Organismus als *V. cholerae* entsprechen. Sind diese Kriterien erfüllt, kann die serologische Identifizierung durchgeführt werden.

Isolate für serologische Tests sollten aus Subkulturen des Selektiv-Mediums auf einem nicht selektiven Agar, wie bspw. einem Nähr-Agar, gewonnen werden.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly, **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa und **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Agglutinations-Objektträger, Applikatorstäbchen und sterile 0,85%ige Kochsalzlösung.

Rekonstituierung/Vorbereitung der Reagenzien:

Vor der Testdurchführung alle Materialien Raumtemperatur annehmen lassen. Sicherstellen, dass alle gläsernen Utensilien und Pipetten sauber sind und keine Rückstände aufweisen (wie z.B. von Reinigungsmitteln).

Zum Rekonstituieren des **Difco** Vibrio Cholerae Antiserums 3 mL sterile 0,85%ige Kochsalzlösung zugeben und behutsam drehen, um den Inhalt vollständig zu lösen.

Testen des Isolats im Hinblick auf Autoagglutination:

1. Eine Impföse voll Wachstum von der Testkultur auf nichtselektiven Medien zu einem Tropfen (ca. 35 µL) steriler 0,85%iger Kochsalzlösung auf einen sauberen Objektträger transferieren und den Organismus emulgieren.
2. Den Objektträger 1 min lang drehen und anschließend im Hinblick auf Agglutination begutachten.
3. Falls es zu einer Agglutination (Autoagglutination) kommt, ist die Kultur grob und nicht zum Testen geeignet. Eine Subkultur auf nichtselektivem Agar anlegen, inkubieren, und den Organismus erneut testen, wie in den Schritten 1 und 2 beschrieben.
4. Kommt es nicht zu einer Agglutination, mit dem Testen des Organismus fortfahren.

Testverfahren

Das **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly für das Screening auf mögliche *V. cholerae*-Isolate verwenden. Den Test mit dem **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa und dem **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba fortsetzen.

1. Einen Tropfen des zu testenden **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum auf einen Agglutinations-Objektträger abgeben.
2. Eine Impföse voll Testorganismus-Wachstum zu dem Tropfen Antiserum transferieren und gut mischen.
3. Den Objektträger 1 min lang drehen und anschließend im Hinblick auf Agglutination begutachten.

Qualitätssicherung durch den Anwender

Bei der Anwendung sowohl positive als auch negative Antigen-Kontrollen testen, um die Leistung der Antiseren, die Techniken und die Methodik zu überprüfen.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten CLSI-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

ERGEBNISSE

1. Die Ergebnisse werden folgendermaßen abgelesen und dokumentiert:
 - 4+ 100%ige Agglutination; Hintergrund klar bis leicht trüb
 - 3+ 75%ige Agglutination; Hintergrund leicht wolkig
 - 2+ 50%ige Agglutination; Hintergrund mäßig wolkig
 - 1+ 25%ige Agglutination; Hintergrund wolkig
 - Keine Agglutination

- Die positive Kontrolle sollte eine Agglutination des Grades 3+ oder stärker aufweisen.
- Die negative Kontrolle darf keine Agglutination aufweisen.
- Bei den Test-Isolaten stellt eine innerhalb 1 min erfolgende Agglutination des Grades 3+ oder stärker ein positives Ergebnis dar.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

- Eine positive Agglutination bei Verwendung von **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly mit typischen biochemischen Testergebnissen stellt eine präsumtive Identifizierung von *V. cholerae*-O1 dar.
- Bei Kulturen mit positiver Agglutination in **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly kann der Serotyp unter Verwendung von **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa und **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba bestimmt werden. Eine positive Agglutination in beiden Antiseren ist selten. Wenn es dazu kommt, wird dies gewöhnlich als Identifizierung von *V. cholerae* des Serotyps Hikojima gewertet.⁹ Der *V. cholerae*-Serotyp Hikojima ist ein seltener Serotyp und sollte zur weiteren Untersuchung an ein Referenzlabor eingereicht werden.
- Eine positive Agglutination erfolgt sofort und in ausgeprägter Form. Zur Identifizierung des Serotyps ist die stärkste und schnellste Reaktion heranzuziehen, da *V. cholerae*-O1-Stämme im monospezifischen Antiserum des anderen Serotyps häufig langsame oder schwache Kreuzreaktionen ergeben.
- Schwach oder langsam mit **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly und nicht mit **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba oder **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa agglutinierende Isolate werden gewöhnlich als *V. cholerae* des Typs Nicht-O1 eingestuft. Diese Isolate können zur weiteren Untersuchung an ein Referenzlabor eingereicht werden.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

- Eine korrekte Interpretation der serologischen Reaktionen ist abhängig von der Reinheit der Kultur, morphologischen Eigenschaften und biochemischen Reaktionen, die der Identifizierung des Mikroorganismus als *V. cholerae* entsprechen.
- Serologische Methoden allein sind nicht ausreichend zur Identifizierung des Isolats als *V. cholerae*.
- Übermäßige Wärme aus externen Quellen (heiße bakteriologische Öse, Brennerflamme, Lichtquelle u. dgl.) kann die glatte Suspension des Mikroorganismus verhindern oder zum Verdunsten oder Ausfällen des Testgemischs führen. Es kann zu falsch positiven Reaktionen kommen.
- Grobe Kulturisolate können auftreten; sie agglutinieren spontan und führen zur Agglutination der negative Kontrolle (Autoagglutination). Es sind glatte Kolonien zu wählen und mit serologischen Verfahren zu testen.
- Die **Difco** Vibrio Cholerae Antiseren wurden unter Verwendung unverdünnter Kulturen auf Agar-Medien getestet. Diese Antiseren wurden nicht mit Antigen-Suspensionen in Kochsalzlösung oder sonstigen Verdünnungsmitteln getestet. Weicht der Anwender von den empfohlenen Schritten ab, ist jede Antiserum-Charge mit bekannten Kontrollkulturen zu testen, um die zu erwartenden Reaktionen bei dem modifizierten Verfahren zu bestätigen.
- Erscheint das rekonstituierte **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum zu irgendeinem Zeitpunkt während seiner Verwendung wolkig oder weist Ausfällungen auf, ist es zu entsorgen.

LEISTUNGSMERKMALE

Die Empfindlichkeit von **Difco** Vibrio Cholerae Antiseren wird, wie im Abschnitt „Ergebnisse“ beschrieben, durch Demonstration der entsprechenden Reaktivität gegen eine Reihe gut charakterisierter homologer *Vibrio cholerae*-Kulturen mit bekannter Antigen-Reaktivität (siehe Tabelle unten) bestimmt. Die Spezifität wird durch Nachweis der Nichtreaktivität gegenüber nicht-verwandten (heterologen) *Vibrio cholerae*-Kulturen bestimmt.

Best.- Nr.	Produkt	Getestete homologe Kulturen
224321	Vibrio Cholerae Antiserum Poly	Hikojima 18 Hikojima 18ss Ogawa Bu93 Ogawa 1321 CDC Ogawa 20-A-11 Ogawa 11 CDC Ogawa VRL 628 Inaba 6 Inaba 11 CDC Inaba 35 A3NIH Inaba 6 CDC
224311	Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa	Ogawa Bu93 Ogawa 1321 CDC Ogawa 20-A-11 Ogawa 11 CDC Ogawa VRL 628
224301	Vibrio Cholerae Antiserum Inaba	Inaba 6 Inaba 11 CDC Inaba 35 A3NIH Inaba 6 CDC

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

224321 **BD Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly, 3 mL

224311 **BD Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa, 3 mL

224301 **BD Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba, 3 mL

LITERATUR: Siehe den Abschnitt „References“ im englischen Text.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder www.bd.com/ds.

BD Difco Vibrio Cholerae Antisera

Italiano

USO PREVISTO

L'uso degli antisieri **Difco** Vibrio Cholerae è indicato nei test di agglutinazione su vetrino per l'identificazione e la sierotipizzazione di *Vibrio cholerae*.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

V. cholerae è l'agente eziologico del colera. La malattia si trasmette principalmente attraverso l'acqua contaminata e la via oro-fecale. Se non trattati, i pazienti affetti da colera in forma grave possono morire entro cinque ore a causa della cospicua perdita idro-elettrolitica.¹ Poiché i batteri *Vibrio* spp. sono abitanti naturali dell'ambiente acquatico, l'infezione può essere trasmessa da prodotti alimentari quali prodotti ittici crudi o impropriamente trattati.

I sintomi gastrointestinali del colera includono feci "ad acqua di riso" dovute a una potente enterotossina. Per l'uomo, le feci costituiscono il campione primario. I prodotti ittici sono spesso testati come veicoli di infezione nell'uomo.

Gardner e Ventkatraman² hanno definito l'identificazione di *Vibrio cholerae* come il riconoscimento dell'antigene somatico O1 (O gruppo 1) evidenziato mediante agglutinazione con antisiero O1 (polivalente).

I microrganismi *V. cholerae* del sierogruppo O1 si suddividono nei sierotipi Ogawa, Inaba e Hikojima.^{1,3} I fattori antigenici sono i seguenti.

Sierotipo	Fattori dell'antigene O
Ogawa	AB
Inaba	AC
Hikojima	ABC

I microrganismi *V. cholerae* sono anaerobi facoltativi che alla morfologia microscopica appaiono gram-negativi curvi o dritti. I microrganismi necessitano di cloruro di sodio o crescono meglio in sua presenza. Nei laboratori clinici e di microbiologia alimentare e di analisi ambientali, si usano svariati terreni speciali concepiti per la selezione e la coltura di questi microrganismi.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

L'identificazione di *V. cholerae* include l'isolamento del microrganismo, l'identificazione biochimica e la conferma sierologica.

La conferma sierologica comporta la reazione in cui il microrganismo (antigene) reagisce con il corrispondente anticorpo. Questa reazione *in vitro* determina la formazione di grumi macroscopici, definita agglutinazione. La reazione omologa desiderata è rapida, sviluppa forti legami (alta affinità) e non si dissocia (elevata avidità).

Poiché un microrganismo (antigene) può agglutinare un anticorpo prodotto in risposta ad alcune altre specie, vi è la possibilità di reazioni eterologhe. Data la loro natura inattesa e imprevedibile possono provocare qualche confusione in sede di identificazione sierologica. Una reazione positiva di agglutinazione omologa deve pertanto supportare l'identificazione morfologica e biochimica del microrganismo. Le reazioni omologhe si sviluppano rapidamente e sono forti, mentre quelle eterologhe si sviluppano lentamente e sono deboli.

REAGENTI

Gli antisieri **Difco** Vibrio Cholerae sono antisieri policlonali di coniglio di *Vibrio cholerae* O1, stabili e liofilizzati, contenenti 0,2% di sodio azide circa come conservante. **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa e **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba sono antisieri assorbiti monospecifici.

Difco Vibrio Cholerae Antiserum Poly, **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa assorbito e **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba assorbito contengono i seguenti anticorpi.

Antisiero	Anticorpi O
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Poly	ABC
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa	B
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Inaba	C

Ogni flacone di antisieri **Difco** Vibrio Cholerae, se ricostituito e usato come descritto, contiene reagente sufficiente per 60 test su vetrino.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Questo prodotto contiene gomma naturale secca.

Durante tutte le procedure, adottare tecniche asettiche e seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici. Dopo l'uso, sterilizzare in autoclave campioni, contenitori, vetrini, provette e tutti gli altri materiali contaminati. Seguire attentamente le istruzioni per l'uso.

AVVERTENZA: Questo prodotto contiene sodio azide, tossica per inalazione, ingestione e a contatto con la pelle. A contatto con acido, libera gas estremamente tossici. In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente e abbondantemente con acqua. La sodio azide può reagire con il piombo e il rame delle tubature, formando azidi metalliche altamente esplosive. Eliminare la sodio azide facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi per impedire l'accumulo di azidi.

Attenzione



H302 Nocivo se ingerito. **P264** Lavarsi accuratamente dopo l'uso. **P301+P312** IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. **P501** Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alle normative locali/regionali/nazionali/internazionali.

Conservazione - Conservare gli antisieri **Difco** Vibrio Cholerae liofilizzati e ricostituiti a 2-8 °C.

La data di scadenza si riferisce al prodotto in confezione integra e conservato come prescritto.

L'esposizione prolungata dei reagenti a temperature diverse da quelle indicate può danneggiare i prodotti.

Eliminare gli antisieri torbidi o che presentano un precipitato dopo la reidratazione o la conservazione, a meno che non possano essere chiarificati tramite centrifugazione o filtrazione e mostrino una reattività adeguata a controlli positivi e negativi validati. Gli antisieri che presentano una torbidità macroscopica sono contaminati e pertanto devono essere eliminati.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Campioni clinici

V. cholerae può essere recuperato da campioni clinici su terreni selettivi, come per esempio agar TCBS (tiosolfato-citrato-sali biliari-saccarosio). Per raccomandazioni specifiche, consultare la documentazione appropriata.⁴⁻⁶ Verificare che sia stata ottenuta una coltura pura del microorganismo e che le reazioni biochimiche siano congruenti con l'identificazione del microorganismo come *V. cholerae*. Una volta soddisfatti questi criteri, è possibile eseguire l'identificazione sierologica.

Campioni alimentari

V. cholerae può essere recuperato da svariati generi di alimenti, in particolare prodotti ittici, purché i campioni siano trattati per evitare la crescita eccessiva di microrganismi competitivi e si utilizzino terreni selettivi per migliorare la crescita del microorganismo. Sono stati sviluppati alcuni terreni di isolamento specifici per l'industria alimentare. Per le procedure raccomandate per i test di campioni alimentari, consultare la documentazione appropriata.^{7,8} Adottare un protocollo prestabilito e verificare che sia stata ottenuta una coltura pura del microorganismo e che le reazioni biochimiche siano congruenti con l'identificazione del microorganismo come *V. cholerae*. Una volta soddisfatti questi criteri, è possibile eseguire l'identificazione sierologica.

L'isolato per i test sierologici deve essere posto in subcoltura da un terreno selettivo a un agar non selettivo, come per esempio Nutrient Agar.

PROCEDURA

Materiali forniti - **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly, **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa e **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba.

Materiali richiesti ma non forniti - Vetrini per agglutinazione, bastoncini applicatori e soluzione fisiologica sterile allo 0,85%.

Ricostituzione/Preparazione dei reagenti

Prima di eseguire i test, lasciare equilibrare tutti i materiali a temperatura ambiente. Assicurarsi che la vetreria e le pipette siano pulite e prive di residui di detersivi o altro.

Per ricostituire l'antisiero **Difco** Vibrio Cholerae, dispensare 3 mL di soluzione fisiologica sterile allo 0,85% e roteare delicatamente per dissolvere completamente il contenuto.

Test di agglutinazione dell'isolato

1. Dalla coltura su terreno non selettivo, trasferire un'ansata di crescita su una goccia (circa 35 μL) di soluzione fisiologica sterile allo 0,85% su un vetrino pulito ed emulsionare il microorganismo.
2. Rotare il vetrino per 1 min e osservare quindi l'agglutinazione.
3. Se si verifica agglutinazione (autoagglutinazione), la coltura è disomogenea e non può essere testata. Eseguire una subcoltura su agar non selettivo, incubare e ritestare il microorganismo come descritto nei punti 1 e 2.
4. In assenza di agglutinazione, procedere al test del microorganismo.

Procedura del test

Usare **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly per lo screening di possibili isolati di *V. cholerae*. Proseguire il test con gli antisieri **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa e **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba.

1. Dispensare su un vetrino di agglutinazione una goccia dell'antisiero **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum da testare.
2. Trasferire un'ansata di crescita del microorganismo da testare sulla goccia di antisiero e mescolare accuratamente.
3. Rotare il vetrino per 1 min e verificare quindi l'agglutinazione.

Controllo di qualità a cura dell'utente

Al momento dell'uso, testare entrambi i controlli di antigene positivo e negativo per verificare prestazioni degli antisieri, tecniche e metodologia.

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità in uso nel laboratorio. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI in merito.

RISULTATI

1. Leggere e registrare i risultati come segue.

4+	100% di agglutinazione (sfondo da trasparente a leggermente opaco)
3+	75% di agglutinazione (sfondo leggermente torbido)
2+	50% di agglutinazione (sfondo moderatamente torbido)
1+	25% di agglutinazione (sfondo torbido)
–	Nessuna agglutinazione
2. Il controllo positivo deve evidenziare una agglutinazione pari o superiore a 3+.
3. Il controllo negativo non deve evidenziare alcuna agglutinazione.
4. Per il test degli isolati, una agglutinazione pari o superiore a 3+ entro 1 min rappresenta un risultato positivo.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

1. Una agglutinazione positiva con l'antisiero **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly, con risultati di test biochimici tipici, fornisce identificazione presuntiva di *V. cholerae* O1.
2. Le colture con agglutinazione positiva con l'antisiero **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly possono essere sierotipizzate usando **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa and **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba. L'agglutinazione positiva in entrambi gli antisieri è rara e, quando si verifica, viene generalmente interpretata come identificativa di *V. cholerae* sierotipo Hikojima.⁹ *V. cholerae* sierotipo Hikojima è raro e deve essere inviato a un laboratorio di riferimento per ulteriori studi.
3. L'agglutinazione positiva è immediata e forte. Per identificare il sierotipo, è opportuno utilizzare la reazione più rapida e forte, in quanto i ceppi di *V. cholerae* O1 spesso cross-reagiscono lentamente o debolmente nell'antisiero monospecifico per l'altro sierotipo.
4. Gli isolati che evidenziano agglutinazione debole o lenta con l'antisiero **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly e non con gli antisieri **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba or **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa sono generalmente considerati come *V. cholerae* non-O1. Questi isolati possono essere inviati a un laboratorio di riferimento per ulteriori studi.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. La corretta interpretazione delle reazioni sierologiche dipende dalla purezza della coltura, dalla congruità delle caratteristiche morfologiche e reazioni biochimiche con l'identificazione del microorganismo come *V. cholerae*.
2. Le sole metodiche sierologiche non consentono di identificare l'isolato come *V. cholerae*.
3. Il calore eccessivo da fonti esterne (ansa batteriologica calda, fiamma di bruciatore, sorgente di illuminazione, ecc.) può impedire la formazione di una sospensione omogenea del microorganismo o causare evaporazione o precipitazione della miscela da testare e dar luogo a reazioni falsamente positive.
4. Le colture disomogenee di isolati sono soggette ad agglutinazione spontanea, con conseguente agglutinazione dei controlli negativi (autoagglutinazione). Le colture omogenee devono essere selezionate e testate in procedure sierologiche.

5. Gli antisieri **Difco** *Vibrio Cholerae* sono stati testati utilizzando colture non diluite prelevate da terreni agar. Questi antisieri non sono stati testati con sospensioni di antigeni in soluzione fisiologica o altri diluenti. Se l'utente apporta variazioni alle fasi raccomandate, ogni lotto di antisiero deve essere testato con colture di controllo conosciute per verificare le reazioni attese con la procedura modificata.
6. Durante qualsiasi fase d'impiego, gettare gli antisieri **Difco** *Vibrio Cholerae* che presentano torbidità o precipitati.

PRESTAZIONI METODOLOGICHE

La sensibilità degli antisieri **Difco** *Vibrio Cholerae* viene determinata dimostrando la reattività appropriata, definita nella sezione "Risultati", a fronte di una serie di colture *Vibrio cholerae* omologhe ben caratterizzate, con reattività antigenica nota (vedere la tabella più avanti). La specificità viene determinata dimostrando la non reattività a fronte di colture *Vibrio cholerae* non correlate (eterologhe).

N. di cat.	Prodotto	Culture omologhe testate
224321	<i>Vibrio Cholerae</i> Antiserum Poly	Hikojima 18 Hikojima 18ss Ogawa Bu93 Ogawa 1321 CDC Ogawa 20-A-11 Ogawa 11 CDC Ogawa VRL 628 Inaba 6 Inaba 11 CDC Inaba 35 A3NIH Inaba 6 CDC
224311	<i>Vibrio Cholerae</i> Antiserum Ogawa	Ogawa Bu93 Ogawa 1321 CDC Ogawa 20-A-11 Ogawa 11 CDC Ogawa VRL 628
224301	<i>Vibrio Cholerae</i> Antiserum Inaba	Inaba 6 Inaba 11 CDC Inaba 35 A3NIH Inaba 6 CDC

DISPONIBILITÀ

N. di cat. Descrizione

224321 **BD Difco** *Vibrio Cholerae* Antiserum Poly, 3 mL

224311 **BD Difco** *Vibrio Cholerae* Antiserum Ogawa, 3 mL

224301 **BD Difco** *Vibrio Cholerae* Antiserum Inaba, 3 mL

BIBLIOGRAFIA: Vedere la sezione "References" nel testo inglese.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito www.bd.com/ds.

BD Difco Vibrio Cholerae Antisera

Español

USO PREVISTO

Difco *Vibrio Cholerae* Antisera (antisueros **Difco** para *Vibrio Cholerae*) se recomiendan para uso en pruebas de aglutinación en portaobjetos para la identificación y determinación del serotipo de *Vibrio cholerae*.

RESUMEN Y EXPLICACION

V. cholerae es el agente causante del cólera. La transmisión de la enfermedad se produce principalmente por medio de agua contaminada y la vía fecal-oral. Si no se la trata, los pacientes con casos graves de cólera pueden morir dentro de las cinco horas como consecuencia de pérdidas masivas de fluidos y electrolitos¹. Dado que las especies *Vibrio* son habitantes naturales de entornos acuáticos, los productos alimentarios, tales como mariscos sin cocinar o mariscos manipulados de manera incorrecta, pueden transmitir la infección.

Los síntomas gastrointestinales del cólera incluyen "heces acuosas blanquecinas" causadas por una enterotoxina potente. La muestra principal de los seres humanos proviene de las heces. Los mariscos se analizan frecuentemente como vehículos de la infección humana.

Gardner y Ventkatraman² definieron la identificación de *Vibrio cholerae* como el reconocimiento del antígeno somático O1 (O grupo 1), tal como se evidencia por la aglutinación con el antisero O1 (polivalente).

Las especies *V. cholerae* del serogrupo O1 se dividen en los serotipos: Ogawa, Inaba e Hikojima^{1,3}. Los factores antigénicos son:

Serotipo	Factores del antígeno O
Ogawa	AB
Inaba	AC
Hikojima	ABC

Las especies *V. cholerae* son anaerobios facultativos que al microscopio muestran una morfología de bacilos gram negativos curvados o rectos. Los microorganismos requieren cloruro de sodio, o crecen mejor en su presencia. Se utilizan diversos medios especiales diseñados para seleccionar y cultivar este microorganismo en laboratorios de microbiología clínicos y alimentarios, además de realizar análisis medioambientales.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La identificación de *V. cholerae* incluye el aislamiento del microorganismo, la identificación bioquímica y la confirmación serológica.

La confirmación serológica se produce mediante la reacción en la que el microorganismo (antígeno) reacciona con el anticuerpo correspondiente. Esta reacción *in vitro* produce la formación de grumos macroscópicos denominada aglutinación. La reacción homóloga deseada es rápida, de unión fuerte (alta afinidad) y no disociativa (alta avidéz).

Dado que un microorganismo (antígeno) puede aglutinarse con un anticuerpo producido como respuesta a alguna otra especie, son posibles las reacciones heterólogas. Dichas reacciones imprevistas y posiblemente impredecibles pueden causar confusión en la identificación serológica. Por consiguiente, una reacción de aglutinación homóloga positiva debería apoyar la identificación morfológica y bioquímica del microorganismo. Las reacciones homólogas son fuertes y rápidas. Las reacciones heterólogas son débiles y lentas.

REACTIVOS

Difco Vibrio Cholerae Antisera son antisueros O1 de *Vibrio cholerae* de conejo, estables, liofilizados y policlonales, que contienen aproximadamente 0,2% de azida sódica como conservante. **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa y **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba son antisueros monoespecíficos absorbidos.

Difco Vibrio Cholerae Antiserum Poly y los **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa y **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba absorbidos poseen los siguientes anticuerpos:

Antisuero	Anticuerpos O
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Poly	ABC
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa	B
Difco Vibrio Cholerae Antiserum Inaba	C

Cuando se rehidrata correctamente y se utiliza según lo descrito, cada frasco de **Difco** Vibrio Cholerae Antisera proporciona una cantidad suficiente de reactivo para realizar 60 pruebas en portaobjetos.

Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Este producto contiene goma natural seca.

Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todo el proceso. Después del uso, se deberán esterilizar muestras, envases, portaobjetos, tubos y demás material contaminado en autoclave. Es necesario seguir al pie de la letra las instrucciones de uso.

ADVERTENCIA: Este producto contiene azida sódica, la cual es tóxica en caso de inhalación, contacto con la piel e ingestión. El contacto con ácidos libera un gas muy tóxico. En caso de contacto con la piel, lavar de inmediato el área afectada con abundante agua. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Al eliminar el material por el desagüe, utilizar un gran volumen de agua para evitar la acumulación de azidas.

Atención



H302 Nocivo en caso de ingestión. **P264** Lavarse concienzudamente tras la manipulación. **P301+P312** EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. **P501** Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.

Almacenamiento: Conservar los **Difco** Vibrio Cholerae Antisera liofilizados y rehidratados a 2–8 °C.

La fecha de caducidad se aplica al producto conservado en su envase intacto de la forma indicada.

Una exposición prolongada de los reactivos a temperaturas diferentes de las especificadas es perjudicial para los productos.

Descartar los antisueros que tengan turbidez o que presenten precipitados después de la rehidratación o el almacenamiento a menos que se puedan aclarar por centrifugado o filtración y demuestren una reactividad correcta con controles positivos y negativos validados. Una turbidez macroscópica indica contaminación; por lo tanto, esos antisueros deben descartarse.

RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Muestras clínicas:

Es posible recuperar *V. cholerae* a partir de muestras clínicas en medios selectivos, tal como agar tiosulfato-citrato-sales biliares-sucrosa (TCBS). Consultar las referencias correspondientes para obtener recomendaciones específicas⁴⁻⁶. Determinar que se haya obtenido un cultivo puro del microorganismo y que las reacciones de las pruebas bioquímicas sean coherentes con la identificación del organismo como *V. cholerae*. Después de haberse satisfecho estos criterios, se podrá realizar la identificación serológica.

Muestras de alimentos:

Es posible recuperar *V. cholerae* a partir de diversos tipos de alimentos, en particular mariscos, cuando se procesan las muestras para evitar el crecimiento excesivo de microorganismos competitivos, y se utilizan medios selectivos para fomentar el crecimiento del microorganismo. Algunos medios de aislamiento se han desarrollado específicamente para la industria alimenticia. Consultar las referencias correspondientes para obtener los procedimientos recomendados al analizar muestras de alimentos^{7,8}. Después de seguir un protocolo establecido, determinar que se ha obtenido un cultivo puro del microorganismo y que las reacciones de las pruebas bioquímicas son acordes con la identificación del organismo como *V. cholerae*. Una vez satisfechos estos criterios, se podrá realizar la identificación serológica.

Se debe realizar un subcultivo de la cepa aislada para las pruebas serológicas desde medios selectivos a un agar no selectivo, tal como agar nutriente.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: Difco Vibrio Cholerae Antiserum Poly, Difco Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa y Difco Vibrio Cholerae Antiserum Inaba.

Materiales necesarios pero no suministrados: Portaobjetos de aglutinación, aplicadores y solución salina estéril al 0,85%.

Rehidratación/Preparación del reactivo:

Equilibrar todos los materiales a temperatura ambiente antes de realizar las pruebas. Asegurarse de que los materiales de vidrio y las pipetas estén limpios y libres de residuos, como, por ejemplo, detergente.

Para rehidratar el Difco Vibrio Cholerae Antiserum , añadir 3 mL de solución salina estéril al 0,85% y girar suavemente para disolver el contenido por completo.

Análisis de la cepa aislada para determinar la autoaglutinación

1. A partir de un cultivo de prueba en agar no selectivo, transferir un asa llena de crecimiento a una gota (aproximadamente 35 µL) de solución salina estéril al 0,85% en un portaobjetos limpio y emulsionar el organismo.
2. Girar el portaobjetos durante 1 min y luego observar para determinar si se ha producido aglutinación.
3. Si ocurre la aglutinación (autoaglutinación), el cultivo es rugoso y no se podrá analizar. Realizar un subcultivo en agar no selectivo, incubarlo y repetir la prueba del organismo tal como se describe en los pasos 1 y 2.
4. Si no ocurre ningún tipo de aglutinación, realizar el análisis del organismo.

Procedimiento de análisis

Utilizar Difco Vibrio Cholerae Antiserum Poly para realizar pruebas de detección de posibles aislados de *V. cholerae*. Continuar el análisis con Difco Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa y Difco Vibrio Cholerae Antiserum Inaba.

1. Colocar una gota de Difco Vibrio Cholerae Antiserum a ser analizado en un portaobjeto de aglutinación.
2. Transferir un asa llena de crecimiento del organismo de prueba a la gota de antisuero y mezclar bien.
3. Girar el portaobjeto durante 1 min y efectuar la lectura para determinar si se ha producido aglutinación.

Control de calidad del usuario

En el momento de uso, aplicar controles de antígeno tanto positivo como negativo para comprobar el rendimiento de los antisueros, las técnicas y la metodología.

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional aplicable, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

RESULTADOS

1. Leer y registrar los resultados de la siguiente forma:
 - 4+ 100% de aglutinación (fondo transparente a ligeramente lechoso)
 - 3+ 75% de aglutinación (fondo ligeramente turbio)
 - 2+ 50% de aglutinación (fondo moderadamente turbio)
 - 1+ 25% de aglutinación (fondo turbio)
 - Sin aglutinación
2. El control positivo debe indicar una aglutinación de 3+ o mayor.
3. El control negativo no debe mostrar ningún indicio de aglutinación.
4. Para las cepas aisladas de la prueba, un valor de aglutinación de 3+ o más al cabo de 1 min indica un resultado positivo.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

1. La aglutinación positiva utilizando **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly con resultados típicos de prueba bioquímica proporciona una identificación presuntiva de *V. cholerae* O1.
2. Es posible determinar el serotipo de los cultivos con una aglutinación positiva en **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly usando **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa y **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba. La aglutinación positiva en ambos antisueros es rara y, cuando ocurre, por lo general se interpreta como identificante del serotipo Hikojima de *V. cholerae*⁹. El serotipo Hikojima de *V. cholerae* es un serotipo raro y debe ser enviado a un laboratorio de referencia para efectuar estudios posteriores.
3. La aglutinación positiva será inmediata y fuerte. La reacción más fuerte y rápida se deberá utilizar para identificar el serotipo, porque las cepas O1 de *V. cholerae* con frecuencia tienen reacciones cruzadas lentas o débiles en el antisuero mono-específico para el otro serotipo.
4. Las cepas aisladas que se aglutinan débil o lentamente con **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly y no con **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba ni **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa por lo general se consideran *V. cholerae* no O1. La cepa aislada se podría enviar a un laboratorio de referencia para efectuar estudios posteriores en ella.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. La interpretación correcta de las reacciones serológicas depende de la pureza del cultivo, de sus características morfológicas y de las reacciones bioquímicas acordes con la identificación del microorganismo como perteneciente a la especie *V. cholerae*.
2. Los métodos serológicos por sí solos no pueden identificar el aislado como *V. cholerae*.
3. El calor excesivo proveniente de fuentes externas (asa bacteriológica caliente, llama del mechero, fuente de luz, etc.) podría impedir una suspensión uniforme del microorganismo o causar la evaporación o precipitación de la mezcla de análisis. Pueden ocurrir reacciones positivas falsas.
4. Efectivamente ocurren cepas aisladas de cultivos rugosos, las cuales se aglutinarán espontáneamente, causando la aglutinación de los controles negativos (autoaglutinación). Es necesario seleccionar y analizar colonias uniformes en los procedimientos serológicos.
5. Se han analizado los **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum usando cultivos sin diluir tomados a partir de medios de agar. Estos antisueros no han sido analizados usando suspensiones de antígenos en solución salina o en otros diluyentes. Si el usuario aplica variaciones en los pasos recomendados, cada lote de antisuero se deberá analizar con cultivos de control conocidos para verificar las reacciones esperadas bajo el procedimiento modificado.
6. Se deberá desechar el **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum rehidratado que tenga un aspecto turbio o que contenga precipitado en cualquier momento durante su período de uso.

CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO

La sensibilidad de **Difco** Vibrio Cholerae Antiserum se determina al demostrar una reactividad apropiada, como se define en la sección "Resultados", frente a un conjunto de cultivos de *Vibrio cholerae* homólogos bien caracterizados, con reactividad antigénica conocida (consultar la tabla a continuación). La especificidad se determina al demostrar la falta de reactividad frente a cultivos no relacionados (heterólogos) de *Vibrio cholerae*.

Nº de cat.	Producto	Cultivos homólogos analizados
224321	Vibrio Cholerae Antiserum Poly	Hikojima 18 Hikojima 18ss Ogawa Bu93 Ogawa 1321 CDC Ogawa 20-A-11 Ogawa 11 CDC Ogawa VRL 628 Inaba 6 Inaba 11 CDC Inaba 35 A3NIH Inaba 6 CDC
224311	Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa	Ogawa Bu93 Ogawa 1321 CDC Ogawa 20-A-11 Ogawa 11 CDC Ogawa VRL 628
224301	Vibrio Cholerae Antiserum Inaba	Inaba 6 Inaba 11 CDC Inaba 35 A3NIH Inaba 6 CDC

DISPONIBILIDAD

Nº de cat. Descripción

224321 **BD Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Poly, 3 mL

224311 **BD Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Ogawa, 3 mL

224301 **BD Difco** Vibrio Cholerae Antiserum Inaba, 3 mL

REFERENCIAS: Véase la sección "References" en el texto inglés.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com/ds.



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabbicante / Аткарушы / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производител / Výrobca / Proizvođač / Tillverkare / Üretici / Виробник



Use by / Използвайте до / Spotřebujte do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / Uptrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейін пайдалануға / Naudokite iki / Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes før / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Исползовать до / Použít do / Uptrebiti do / Använd före / Son kullanna tarihi / Використати до/line

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
ГТТГ-ММ-ДД / ГТТГ-ММ (ММ = края на месеца)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned)
JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)
EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)
AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)
ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)
AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)
ЖӨЖӨК-АА-КК / ЖӨЖӨК-АА / (АА = айдың соңы)
MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mēnesio pabaiga)
GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigas)
JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = sluttan av måneden)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)
AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii)
ГТТГ-ММ-ДД / ГТТГ-ММ (ММ = конец месяца)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (ММ = koniec mesiaca)
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (ММ = kraj meseca)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (ММ = slutet av månaden)
YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)
PPPP-MM-ДД / PPPP-MM (ММ = кінець місяця)



Catalog number / Каталоген номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Katalooginumber / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Каталог нөмірі / Katalogo numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталогу / Katalógové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом



Authorized Representative in the European Community / Оторизиран представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret repræsentant i De Europæiske Fællesskaber / Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatus esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizuirani predstavnik u Evropskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Representante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentantul autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavníštvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС



In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsiiniparatuur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska pomagala za In vitro Dijagnostiku / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жүргізетін медициналық диагностика аспабы / In vitro diagnostikos prietaisai / Medicīnas ierīces, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Medicīnska romčicka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Diyagnostik Tibbi Cihaz / Медичний пристрій для діагностики in vitro



Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperaturi piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шектеу / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperaturilimiet / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ohraničenje teploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sicaklık sınırlaması / Обмеження температури



Batch Code (Lot) / Код на партидата / Kód (číslo) šarže / Batch-kode (lot) / Batch-Code (Charge) / Κωδικός παρτίδας (παρτίδα) / Código de lote (lote) / Partii kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Топтама коды / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Kod partii (seria) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (лот) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партії



Contains sufficient for <n> tests / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Dostatečně množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις / Contenido suficiente para <n> pruebas / Küllaldane <n> testide jaoks / Contenu suffisant pour <n> tests / Sadržaj za <n> testova / <n> teszthez elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / <n> тесттері үшін жеткілікті / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor "n" testen / Innholder tilstrekkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conținut suficient pentru <n> teste / Достаточно для <n> тестов(а) / Obsah vystačí na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test için yeterli miktarda içerir / Вистачить для аналізів: <n>



Consult Instructions for Use / Направете справка в инструкциите за употреба / Prostudujte pokyny k použití / Se brugsanvisningen / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultar las instrucciones de uso / Lúgeda kasutusjuhendit / Consulter la notice d'emploi / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i brugsanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultați instrucțiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používání / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se brugsanvisningen / Kullanım Talimatları'na başvurun / Див. інструкції з використання



Control / Контролно / Kontrola / Kontrol / Kontrolle / Μάρτυρας / Kontroll / Contrôle / Controllo / Бақылау / Kontrolé / Kontrolle / Controle / Controllo / Контроль / kontroll / Контроль



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

Australian Sponsor:

Becton Dickinson Pty Ltd.
4 Research Park Drive
Macquarie University Research Park
North Ryde, NSW 2113
Australia

Difco is a trademark of Difco Laboratories, Inc., a subsidiary of Becton, Dickinson and Company. BD and BD Logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2016 BD