



remel

Apogent

Suero Es aglutinante de *Vibrio cholerae*

AGGLUTINATING SERUM

Suero aglutinante de *Vibrio Cholerae*

El suero aglutinante de *Vibrio cholerae* se produce en conejos. Conservante: Fenol al 0,5%. Cada frasco, provisto de dispensador y cuentagotas, contiene suero para realizar entre 40 y 50 ensayos y se suministra listo para su uso.

Durante el almacenamiento el suero puede adquirir una ligera turbidez, la cual no interfiere necesariamente en los resultados ni implica su deterioro. Antes del uso, clarifique el suero mediante centrifugación o filtración (con un filtro de membrana de 0,45 µm). Por el contrario, un aspecto intensamente turbio es señal de contaminación y el suero se debe desechar.

UTILIDAD

El suero aglutinante de *Vibrio cholerae* se utiliza para la identificación serológica de *V. cholerae* con fines epidemiológicos y diagnósticos. El suero polivalente 01 (ZM05/30165001) se utiliza en métodos de cribado por aglutinación en portaobjetos: el suero para los subtipos (ZM06/30165101, ZM07/30165201) se utiliza en ensayos de aglutinación en tubos y en portaobjetos como se describe más adelante.

Los análisis serológicos tienen fines de cribado y deben complementar (nunca sustituir) los análisis con cultivos o procedimientos bioquímicos.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

Se recomienda utilizar suspensiones con formaldehído en los ensayos con tubos, aunque se pueden utilizar suspensiones con solución salina. Se recomienda hervir las suspensiones durante 2 horas y media antes del ensayo de aglutinación en portaobjetos, ya que se reduce el número de reacciones falsas positivas y negativas¹. Los subtipos Inaba y Ogawa del *V. cholerae* están estrechamente relacionados y, por lo tanto, se pueden producir reacciones cruzadas². El suero para los subtipos se ha absorbido para que no se produzcan reacciones cruzadas en los ensayos de aglutinación en portaobjetos. Se pueden producir reacciones cruzadas en los ensayos de aglutinación en tubos, pero se observa una reducción del título de al menos 4 veces el título impreso en la etiqueta del frasco. Se debe tener en cuenta que el vibrión El Tor no se puede distinguir del *V. cholerae* con pruebas serológicas.

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS DEL PROCEDIMIENTO

Los ensayos serológicos se basan en el hecho de que los anticuerpos presentes en suero, que se producen en respuesta a la exposición a los antígenos de las bacterias, aglutinan visiblemente las suspensiones bacterianas que contienen antígenos homólogos.

REACTIVOS

CONTENIDO DEL KIT

Suero aglutinante de <i>Vibrio Cholerae</i>	2 ml
ZM05/30165001	1 frasco cuentagotas (tapón azul)
ZM06/30165101	1 frasco cuentagotas (tapón azul)
ZM07/30165201	1 frasco cuentagotas (tapón azul)

DESCRIPCIÓN, PREPARACIÓN PARA EL USO Y ALMACENAMIENTO

Si desea más información, consulte el apartado **Advertencias y precauciones** en este folleto



Si se almacena a una temperatura entre 2° y 8°C, el suero permanece activo al menos hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del frasco.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

IVD

Para uso en diagnóstico *in vitro*.

Sólo para uso profesional.

Atención: Este producto contiene caucho natural seco.

Para más información sobre los componentes potencialmente peligrosos, consulte la hoja de datos de seguridad del fabricante y el etiquetado de los productos.

PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

1. NOTA: Se han clasificado los organismos de *V. cholerae* en el grupo 2+; manipule estos materiales de acuerdo a las normativas de seguridad vigentes.
2. Después del uso, los materiales no desechables se deben esterilizar. El método adecuado es la esterilización con autoclave a una temperatura de 121°C durante al menos 15 minutos. Los materiales desechables se deben esterilizar con autoclave o incinerar.
3. Las salpicaduras de los materiales potencialmente infecciosos se deben eliminar inmediatamente con papel absorbente y se debe limpiar la zona contaminada con un desinfectante bactericida adecuado o con alcohol al 70%. Los materiales utilizados para limpiar las salpicaduras, incluidos los guantes, se deben eliminar junto con los desechos potencialmente infecciosos.
4. No pipetee con la boca. Utilice guantes desechables y protección para los ojos cuando manipule las muestras y realice el ensayo. Lávese bien las manos cuando haya terminado el análisis.
5. Estos reactivos contienen fenol. Aunque la concentración es baja, el fenol es tóxico por ingestión y en contacto con la piel. No ingiera los reactivos. Si cualquiera de los reactivos entra en contacto con la piel o los ojos, lávese inmediatamente y bien con agua abundante.
6. Manipule los reactivos y las muestras como si fueran materiales potencialmente infecciosos siguiendo los Procedimientos Normalizados de Trabajo.

PRECAUCIONES DE MANIPULACIÓN

1. No utilice el antisuero transcurrida la fecha de caducidad. Se debe evitar la contaminación microbiológica de los antisueros, ya que puede provocar resultados erróneos y afectar al rendimiento de los reactivos.
2. No modifique el procedimiento del ensayo ni la temperatura o el tiempo de incubación.
3. Inmediatamente después del uso, vuelva a almacenar el suero bajo las condiciones antes indicadas.

RECOGIDA, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Se recomienda utilizar cultivos recientes en medios no selectivos, tales como agar nutriente. No utilice TCBS u otro medio selectivo. Para más información sobre la recogida de las muestras y la preparación de los cultivos, se debe consultar un libro especializado.

PROCEDIMIENTO

MATERIALES SUMINISTRADOS

Consulte el apartado **Contenido del kit** en este folleto.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Solución salina al 0,85%.
2. Portaobjetos de vidrio.
3. Asa de recogida de muestras y mechero de Bunsen.
4. Superficie oscura con luz indirecta.
5. Tubos de ensayo y gradillas.
6. Baño termostático ajustable con termómetro.
7. Cronómetro.
8. Formol al 0,5% o solución salina de fenol.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Ensayos de aglutinación en portaobjetos

- Paso 1** Dispense 2 gotas (40 µl cada una) de solución salina en un portaobjetos de vidrio. Con un asa emulsione partes del cultivo con cada gota de solución salina para obtener una suspensión densa.
- Paso 2** Añada, como control, una gota (40 µl) de solución salina a una suspensión y mezcle. Añada a la otra suspensión una gota (40 µl) de antisuero sin diluir y mezcle.
- Paso 3** Agite el portaobjetos durante 1 minuto y compruebe que se produzca la aglutinación. Ésta se puede observar con mayor facilidad si se coloca sobre una superficie oscura con luz indirecta. Deseche el portaobjetos utilizado según las disposiciones vigentes de desinfección y de desecho.

Ensayos de aglutinación en tubos (sólo ZM06/30165101, ZM07/30165201)

- Paso 1** Se puede preparar el antígeno emulsionando el inóculo de un cultivo puro en solución isotónica salina o en solución salina con formol o con fenol al 0,5% hasta obtener una suspensión poco densa (aproximadamente de 10⁹ bacterias/ml).
- Paso 2** Haga diluciones seriadas del antisuero en solución salina en volúmenes de 0,5 ml desde 1:10 hasta 1:320. Se pueden utilizar tubos con fondo redondo de aproximadamente 9 mm x 85 mm.
- Paso 3** Añada en cada tubo 0,5 ml de la suspensión de antígenos. Esto duplica la dilución del antisuero.
- Paso 4** Se debe incluir un tubo de control que contenga sólo suspensión y diluyente de solución salina adecuado.
- Paso 5** Agite e incube los tubos a una temperatura de 50°C durante la noche (entre 16 y 20 horas).
- Paso 6** Compruebe si se ha producido la aglutinación.

RESULTADOS

Aglutinación en portaobjetos

La aglutinación debe ser densa y claramente visible transcurrido 1 minuto. En la suspensión de control no se debe apreciar aglutinación. Si ésta se produce, la suspensión no es adecuada para el análisis con este método.

Aglutinación en tubos

En una reacción positiva, se debe observar claramente una aglutinación granulada.

En una reacción negativa y en el control de solución salina, la suspensión no debe cambiar de aspecto. Tenga en cuenta que después de varias horas de incubación (entre 16 y 20 horas) la suspensión se sedimenta y se debe resuspender golpeando suavemente el tubo.

La presencia de aglutinación en el tubo de control implica una suspensión poco homogénea, la cual no es adecuada para el ensayo.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda analizar el antisuero según las instrucciones descritas utilizando cultivos positivos y negativos ya analizados.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El título del suero es la última dilución en la que se observa una aglutinación. Un título igual o semejante al que figura impreso en la etiqueta del frasco indica homología.

En la mayoría de los casos, los títulos iguales o inferiores a 1:20 no son significativos. Sin embargo, en el caso del suero para el serotipo Inaba del *Vibrio cholerae*, la absorción necesaria para que el suero sea específico, suele producir una actividad baja homóloga, por lo cual, un título de 1:20 puede ser un título significativo.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El uso exclusivo de ensayos serológicos no proporciona identificaciones definitivas, por lo que se deben realizar ensayos bioquímicos confirmatorios adicionales.

En caso de obtener resultados incoherentes mediante el ensayo de aglutinación en portaobjetos, se recomienda hervir los cultivos para reducir las reacciones inespecíficas.

RESULTADOS PREVISTOS

Aglutinación visible en presencia de cultivos homólogos.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL FUNCIONAMIENTO

El suero polivalente 01 (ZM05/30165001) debe indicar una aglutinación visible con el ensayo en portatubos de los subtipos del *V. cholerae*. En el suero Ogawa e Inaba se debe observar una aglutinación clara con el ensayo de aglutinación en tubos y en portatubos de los subtipos Ogawa e Inaba del *V. cholerae*. Se debe tener en cuenta que el vibrión El Tor no se puede distinguir del *V. cholerae* y, por lo tanto, se deben realizar ensayos bioquímicos.




BIBLIOGRAFÍA

- 1 **Isaacson, M.** (1975). Practical aspects of a cholera surveillance programme. *S.A. Med. J.*, **49**, 1699.
- 2 **Wilson, G.S. and Miles, A.A.** (1975). *Vibrio cholerae* antigenic structure. Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity, 6th ed., London, E. Arnold. Page 664.

ENVASE

REF	ZM05/30165001.....	2 ml
	ZM06/30165101.....	2 ml
	ZM07/30165201.....	2 ml

Legenda de los símbolos

REF	Nº del catálogo
IVD	Dispositivos médicos de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Consultar instrucciones de uso (IFU)
	Límites de temperatura (Temp. de almacenamiento)
LOT	Código del lote (nº de lote)
	Utilizar antes de (fecha de caducidad)
TITRE	La última dilución presenta aglutinaciones positivas



IFU C06ZM05ES,
revisado el 21 de abril de 2004

Impreso en el Reino Unido

Fabricante:

Remel Europe Ltd.
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT
UK

Para obtener asistencia técnica póngase en contacto con su distribuidor local.



SISTEMAS AVANZADOS DE ANÁLISIS, S.L.
CIF: B-47700026
C/ Cardenal Torquemada, 24
Tel. 983 251 143 • 637 596 017
47010 VALLADOLID
www.analisisavanzados.com

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, USA
Número gratuito: (800) 255-6730; Servicios técnicos: (800) 447-3641; Recepción de pedidos: (800) 447-3635
Teléfono local/internacional: (913) 888-0939 / Fax internacional: (913) 895-4128
Sitio Web: www.remel.com Correo electrónico: remel@remel.com