



Mast Group Ltd.
Mast House, Derby Road,
Bootle, Merseyside, L20 1EA
United Kingdom
Tel: + 44 (0) 151 472 1444
Fax: + 44 (0) 151 944 1332
email: sales@mast-group.com
Web: www.mast-group.com



Mast Diagnostica GmbH
Feldstrasse 20
DE-23858 Reinfeld
Germany
Tel: + 49 (0) 4533 2007 0
Fax: + 49 (0) 4533 2007 68
email: mast@mast-diagnostica.de
Web: www.mast-group.com

Mast Diagnostic
12 rue Jean-Jacques Mention
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1
France
Tél: + 33 (0) 3 22 80 80 67
Fax: + 33 (0) 3 22 80 99 22
email: info@mast-diagnostic.fr
Web: www.mast-group.com



**Mast
Group**

MAST® ASSURE GROUP-B STREPTOCOCCI TYPING ANTISERA

Uso previsto

Antisueros líquidos y estables para la serotipificación de Estreptococos del Grupo-B.

SOLAMENTE PARA USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*

Contenido

Ver etiqueta del envase.

Composición

Los MAST® ASSURE ANTISERA son preparados de conejos hiperinmunizados con cepas estándar de microorganismos muertos que poseen serotipos conocidos o grupos específicos de antígenos y contienen azide de sodio al 0.085% como conservante.

Almacenamiento y caducidad

Almacenar sin abrir a 2 a 8°C hasta la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta del envase. Una vez abierto, MAST® ASSURE ANTISERA debe ser almacenado a 2 a 8°C y puede ser utilizado hasta la fecha de caducidad dada en la etiqueta. **No volver a congelar los reagentes.**

Advertencias y precauciones

Exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*. Observar las precauciones de seguridad y utilizar técnicas asépticas. Debe ser utilizado solo por personal de laboratorio cualificado y con experiencia. Antes del desecho, esterilizar todo el material biológico.

El conservante de azide de sodio puede ser tóxico si se ingiere y puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre para formar sales altamente explosivas. Desechar siempre tirando de la cisterna para que se vaya por el desagüe con gran cantidad de agua. Referirse a la hoja de seguridad del producto.

Materiales requeridos pero no proporcionados

Accesorios y productos estándar para análisis microbiológico y equipos como por ejemplo: lazos, palillos aplicadores, portas de cristal para microscopio limpios, tubos de ensayo de cristal, hisopos, medios de cultivo MAST® incineradores e incubadores, etc.... así como componentes específicos como:

- solución salina estéril al 0.85%
- autoclave capaz de alcanzar 121°C
- centrifugador capaz de llegar a 3000 rpm.
- tampón de fosfato salino (PBS) pH 7.2.
- Todd-Hewitt Broth Medium.
- reagentes adicionales de extracción disponibles de MAST como un conjunto (Código del producto M20209), como sigue:- Extracto pancreático de cerdo 5ml x 4 vial
Solución de ajuste de Ph 5ml x 2 viales
Solución de Fenol Rojo 5ml x 1 vial

Procedimiento

Preparación de microorganismos

1. Coger una colonia aislada de un cultivo de Estreptococos previamente caracterizado e inocular en 5ml de Todd-Hewitt Broth. Incubar durante toda la noche a 29 a 30°C.
Nota: La incubación a 37°C puede resultar en aglutinación espontánea de las suspensiones de antígeno.
2. Después de la incubación, centrifugar el cultivo en un centrifugador a 3000 rpm durante 20 minutos. Desechar el sobranse líquido, volver a suspender el sedimento en 0.5ml de Todd-Hewitt Broth, 4 gotas de tripsina/solución de extracto pancreático de cerdo y 1 gota de solución de Fenol rojo como indicador de pH. El pH de la mezcla debe ser ajustado a 8.0 a 8.5 añadiendo la solución de ajuste de pH gota a gota a la mezcla hasta que el color se convierta en morado rojizo. Se requiere un ajuste de pH cuidadoso para no sobrepasarse.

3. Incubar la mezcla al baño maría durante 1 hora a 37°C. Observar la mezcla después de 15 minutos de incubación y si el color cambia a escarlata o amarillo, ajustar el pH de vuelta a un color morado rojizo con la solución de ajuste del pH. Agitar la mezcla periódicamente para asegurarse una digestión enzimática homogénea.
4. Después de la incubación, centrifugar el cultivo en un centrifugador a 3000 rpm durante 20 minutos. Desechar el sobranse líquido, después volver a suspender el sedimento en 0.5ml de PBS usando una pipeta o mezclador vortex para asegurarse incluso la resuspensión del sedimento.
Nota: Las células bacterianas de enzimas digeridas pueden ser guardadas hasta un máximo de 1 mes a 2 a 8°C. Para este propósito, la suspensión de células debe ser lavada unas pocas veces en PBS y vuelta a suspender en un pequeño volumen de PBS que contenga azide de sodio al 0.1%.

Procedimiento de aglutinación en porta

1. Usando un lápiz de chinagraph o para cristal, dividir un porta de cristal limpio en varias partes.
2. Colocar un lazo estéril lleno de solución salina estéril al 0.85% (salino) como control y suspensión digerida de microorganismo en las áreas designadas del porta de cristal. Añadir una gota de los antisueros de tipificación requeridos en el centro de las secciones designadas en el porta de cristal. Nota: Dejar que el antisuero caiga libremente del cuentagotas proporcionado con la botella. No contaminar el antisuero con microorganismo.
3. Mezclar los reagentes inclinando el porta de acá para allá durante 60 segundos mientras lo vemos bajo luz indirecta y contra un fondo oscuro.
4. Un claro agrupamiento o aglutinación durante este periodo, si no hay agrupamiento en el salino de control (auto-aglutinación), debe ser reconocida como un resultado positivo. La aglutinación débil debe ser registrada como negativa.

Interpretación de resultados

Una fuerte reacción positiva observada en 1 minuto indica que el microorganismo tiene el tipo de especificidad representado por los antisueros que dan la reacción. Muy ocasionalmente una cepa puede dar una reacción positiva con 2 sueros de tipificación e.j. Ia + III o II + III.

El serotipo designado en este procedimiento corresponde con el serotipo identificado por el examen estándar de precipitación WHO, que usa antígenos con ácido extraído.

Limitaciones de uso

Solamente los cultivos identificados como Estreptococos Grupo-B por características morfológicas y bioquímicas pueden ser serotipados con este producto.

Si la suspensión de antígeno muestra aglutinación espontánea usando salino como control, añadir 4 gotas más de solución de tripsina y repetir la digestión enzimática durante 20 minutos a 50°C. Si se repite la digestión y la solución de antígeno aún muestra aglutinación espontánea con salino, seleccionar otra colonia y repetir el procedimiento.

Control de calidad

Se recomienda que el control de calidad se lleve a cabo con al menos un microorganismo que demuestre una reacción positiva y al menos otro que demuestre una reacción negativa. No usar el producto si las reacciones con los microorganismos de control son incorrectas. Comprobar si hay signos de deterioro. No usar reagentes si están contaminados o turbios.

Referencias

Bibliografía disponible si se requiere.