



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 GRUPPE B STREPTOKOKKEN TYPISIERUNGSANTISEREN

Verwendungszweck

Flüssige, stabile Antiseren zur Serotypisierung von Streptokokken der Gruppe B

NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

Packungsinhalt

Siehe Packungsetikett

Zusammensetzung

MAST® ASSURE ANTISEREN werden aus Kaninchen gewonnen, die mit standardisierten Stämmen von abgetöteten Mikroorganismen mit bekannten Serotypen oder gruppenspezifischen Antigenen hyperimmunisiert wurden und enthalten 0,085 % Natriumazid als Konservierungsmittel.

Lagerung und Haltbarkeit

Ungeöffnet bei 2 bis 8°C bis zum auf dem Packungsetikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Einmal geöffnet müssen die Antiseren bei 2 bis 8°C gelagert werden und können bis zum Verfallsdatum verwendet werden.

Die Reagenzien nicht einfrieren.

Vorsichtsmaßnahmen

Nur zur *In-vitro*-Diagnostik. Die Schutzmaßnahmen für den Umgang mit potenziell infektiösem Material beachten und nur unter sterilen Bedingungen arbeiten. Nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Den Abfall des potenziell infektiösen Materials vor der Entsorgung autoklavieren. Natriumazid (Konservierungsmittel) kann bei Einnahme toxisch sein und mit Blei- oder Kupferwasserleitungen unter Bildung von hoch explosiven Salzen reagieren. Es sollte daher zusammen mit viel Wasser in den Abfluss entsorgt werden. Bitte das Sicherheitsdatenblatt beachten.

Zusätzlich benötigte Materialien

Mikrobiologische Instrumente wie Impfösen, Überimpfungstäbchen, Objektträger, Röhrchen, Tupfer, MAST® Kulturmedien, Bunsenbrenner und Brutschränke sowie

- Sterile 0,85% Kochsalzlösung
- Autoklav, der bei 121°C arbeitet
- Zentrifuge mit einer Drehzahl von 3000 Upm
- Phosphat gepufferte Saline (PBS) pH7,2
- Todd-Hewitt Bouillon.
- Weitere Extraktionsreagenzien, von MAST® als Set (M20209) erhältlich:

Schweinepankreasextrakt	5mL x 4 Fläschchen
pH Einstellungslösung	5mL x 2 Fläschchen
Phenolrotlösung	5mL x 1 Fläschchen

Testdurchführung

Vorbereitung des Organismus

1. Eine Kolonie aus einer zuvor charakterisierten Streptokokken- Reinkultur in 5mL sterile Todd-Hewitt-Bouillon inokulieren und über Nacht bei 29 bis 30°C inkubieren. Hinweis: Inkubation bei 37°C kann zu spontan agglutinierenden Antigensuspensionen führen.
2. Die inkubierte Kultur bei 3000 UPM für 20 Minuten zentrifugieren. Überstand verwerfen und Pellet in 5 mL Todd-Hewitt-Bouillon resuspendieren, 4 Tropfen Trypsin/Schweinepankreasextrakt und 1 Tropfen Phenolrotlösung zugeben. Den pH der Mischung durch tropfenweise Zugabe der pH Einstellungslösung auf 8.0 bis 8.5 verändern, bis die Lösung purpurn ist. Dabei vorsichtig arbeiten, um den pH-Bereich nicht zu überschreiten.

3. Die Mischung im Wasserbad für 1 Stunde bei 37°C inkubieren. Falls die Farbe nach 15 Minuten Scharlachrot oder Gelb ist, den pH mit der pH Einstellungslösung verändern, bis die purpurne Farbe wieder erreicht ist. Die Mischung gelegentlich mischen, um eine homogene enzymatische Verdauung zu erreichen.
4. Bei 3000 UPM für 20 Minuten zentrifugieren. Überstand verwerfen und Pellet in 0,5 mL PBS mit einem Schüttler oder einer Pipette gründlich resuspendieren.
Hinweis Enzymatisch verdaute Bakterienzellen können bis zu 1 Monat bei 2 bis 8°C aufgehoben werden. Zu diesem Zweck sollte die Zellsuspension einige male in PBS gewaschen und in einem kleinen Volumen PBS mit 0,1% Natriumazid resuspendiert werden.

Agglutination

1. Objektträger mit einem Stift in mehrere Felder unterteilen.
2. Je eine Impföse der 0,85% sterilen Kochsalzlösung (als Kontrolle) und eine Impföse der enzymatisch verdauten Bakterien in unterschiedliche Felder geben. 1 Tropfen Antiserum zugeben. **Hinweis:** Den Tropfen frei auf den Objektträger fallen lassen, um eine Kontamination des Antiserums in der Flasche zu verhindern.
3. Die Reagenzien 60 Sekunden durch Hin- und Herbewegen des Objektträgers vermischen. Dabei die Emulsion unter indirektem Licht vor einem dunklen Hintergrund beobachten.
4. Wenn sich in dieser Zeit Agglutinationen oder Klumpen in der Test-, aber nicht in der Kontrolle bilden, gilt dies als positives Ergebnis. Schwache Agglutination sollte als negatives Ergebnis dokumentiert werden.

Interpretation der Ergebnisse

Eine stark positive Reaktion innerhalb einer Minute zeigt eine erfolgreiche Typisierung mit dem entsprechenden Antiserum an. Gelegentlich zeigt ein Stamm positive Reaktionen mit 2 Antisera, z. Bsp. Ia + III oder II + III. Die mit dieser Methode festgestellten Serotypen entsprechen denen des WHO Standard Precipitation Tests, der mit einer Säureextraktion arbeitet.

Grenzen

Es sollte nur von den Kulturen, die bereits anhand ihrer morphologischen und biochemischen Charakteristika als Gruppe B Streptokokken identifiziert wurden, der Serotyp mit diesem Produkt bestimmt werden.

Wenn die Antigen Suspension spontane Agglutination mit des Kochsalzlösung als Kontrolle zeigt, geben Sie 4 Tropfen Trypsinlösung dazu und wiederholen die enzymatische Verdauung bei 50°C. Falls die spontane Agglutination mit Kochsalzlösung danach wieder beobachtet wird, verwenden Sie eine andere Kolonie und wiederholen den Versuch.

Qualitätskontrolle

Die Qualitätskontrolle muss mit mindestens einem positiv reagierenden und einem negativ reagierenden Organismus durchgeführt werden. Wenn die Kontrollreaktion fehlerhaft ist, das Produkt nicht einsetzen. Das Produkt auf Anzeichen von Verfall überprüfen. Wenn die Reagenzien kontaminiert oder trüb sind, diese nicht mehr verwenden.

Referenz

Bibliographie auf Anfrage erhältlich.