



Mast Group Ltd.
Mast House, Derby Road, Bootle
Liverpool, 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® ASSURE ANTISERUM GROUP-B STREPTOCOCCI TYPING

Utilisation

Solution stable d'antisérum pour le sérotypage des streptocoques du groupe B.

USAGE IN VITRO UNIQUEMENT

Présentation: voir étiquette sur la boîte.

Formule

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

Stabilité et stockage

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

Ne pas congeler les réactifs.

Précautions d'emploi

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

Matériel nécessaire non fourni

Matériels et équipements microbiologiques standards tels que des anses, bâtonnets applicateurs, des lames d'agglutination pour microscopes en verres, des tubes test en verres, écouvillons, des milieux de culture MAST®, incinérateurs et incubateurs, etc., ainsi que les articles spécifiques tels que:

- une solution saline stérile à 0,85%
- un autoclave capable d'atteindre 121°C
- une centrifugeuse capable d'atteindre 3000 t/m
- PBS de pH 7,2.
- Milieu Todd-Hewitt Broth.
- Des réactifs d'extraction additionnelle disponible, en set MAST® (code produit M20209), comme suis:-
 - extrait pancréatique de porc 5ml x 4 flacons
 - solution d'ajustement du pH 5ml x 2 flacons
 - solution de rouge de Phénol 5ml x 1 flacon

Procédure

Préparation des micro-organismes

1. Prendre une colonie isolée d'une précédente culture de streptocoque caractérisée pure et l'inoculer dans 5ml de bouillon Todd-Hewitt stérile. Incuber pendant une nuit à 29 à 30°C. Remarque: L'incubation à 37°C peut engendrer une agglutination spontanée des antigènes en suspensions.
2. Après incubation, centrifuger la suspension à 3000 t/m pendant 20 minutes. Eliminer le surnageant, puis resuspendre le culot dans 0,5ml de bouillon Todd-Hewitt additionné de 4 gouttes de trypsine, d'une solution d'extrait pancréatique de porc et d'une goutte de solution de phénole rouge comme indicateur du pH. Le pH de la solution doit être ajusté à 8,0 à 8,5 en ajoutant, goutte-à-goutte la solution d'ajustement de pH au mélange jusqu'à ce que la couleur prennent une teinte violet-rouge. Un ajustement soigneux du pH est nécessaire afin de ne pas le dépasser.

3. Incuber le mélange dans un bain-marie pendant 1 heure à 37°C. Observer la solution après 15 minutes d'incubation et si la couleur devient écarlate ou jaune, ajuster à nouveau le pH en obtenant une couleur violet-rouge avec la solution d'ajustement. Agiter la solution régulièrement afin d'assurer une digestion enzymatique homogène.
4. Après incubation, centrifuger à 3000 t/m pendant 20 minutes. Eliminer le surnageant, puis resuspendre le culot dans 0,5ml de PBS en utilisant une pipette ou un vortex pour remettre en suspension le culot.
Remarque: Les cellules bactériennes hydrolysées par l'enzyme peuvent être conservées pendant 1 mois à 2 à 8°C. Dans ce but, la suspension de cellules doivent être lavé plusieurs fois dans un PBS puis remise en suspension dans un petit volume de PBS contenant 0,1% d'azoture de sodium.

Procédure d'agglutination sur lames

1. En utilisant un stylo pour verre, diviser une lame propre en plusieurs zones.
2. Déposer le volume d'une oëse de solution stérile saline (salin) à 0,85% comme contrôle négatif puis la suspension de cellules hydrolysées dans les zones appropriées de la lame. Ajouter une goutte d'antisérum au centre des zones appropriées sur la lame.
Remarque: laisser tomber librement les gouttes d'antisérum fourni avec la bouteille. Ne pas contaminer l'antisérum avec le germe.
3. Mélanger les réactifs en inclinant la lame d'avant en arrière pendant 60 secondes tout en observant sur un fond noir avec une lumière indirecte.
4. Une agglutination nette dans la zone réactive, sans agglutination dans la zone de contrôle (auto-agglutination), doit être considérée comme un résultat positif. Une faible agglutination doit être considérée comme un résultat négatif.

Interprétation des résultats

Une forte réaction positive observée dans la minute indique que le micro-organisme a la spécificité correspondant à l'antisérum donnant la réaction. Très occasionnellement, une souche peut donner une réaction positive avec 2 types d'antisérums, ex: Ia + III ou II + III.

Le sérotype désigné dans cette procédure correspond au sérotype identifié par le test standard de précipitation de l'OMS qui utilise des antigènes extraits par l'acide.

Limites d'utilisation

Seules les cultures de streptocoques du groupe B identifiés par leurs caractères morphologiques et biochimiques peuvent être sérotypés avec ce produit.

Si la suspension d'antigène montre une agglutination spontanée avec la solution saline comme contrôle, ajouter 4 gouttes de trypsine et répéter le traitement enzymatique pendant 20 minutes à 50°C. Si après répétition du traitement, la suspension d'antigènes montre encore une agglutination spontanée avec la solution saline, choisir une autre colonie et répéter la procédure.

Contrôle de qualité

Il est recommandé que le contrôle de qualité soit effectué avec au moins une souche de contrôle positive et au moins une souche de contrôle négative. Ne pas utiliser le produit si les réactions avec les souches de contrôle sont incorrectes. Vérifier les signes de détérioration. Ne pas utiliser des réactifs contaminés ou troubles.

Références

Bibliographie disponible sur demande.