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® ASSURE ANTISERUM CAMPYLOBACTER

Utilisation
Solution stable d'antisérum pour le sérotypage d'antigènes thermostables de *Campylobacter jejuni* par hémagglutination passive.

REACTIFS MAST® ASSURE POUR LA PREPARATION DES GLOBULES ROUGES SENSIBILISES

Réactifs d'extraction d'antigènes bactériens et couplage des antigènes extraits ou globules rouges de poulet. Pour le sérotypage du C*ampylobacter jejuni* par la méthode d'hémagglutination passive.

USAGE IN VITRO UNIQUEMENT

Présentation: voir étiquette sur la boîte.

Formule
MAST® ASSURE CAMPYLOBACTER ANTISERA sont des antisérums 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.

REACTIFS MAST® ASSURE POUR LA PREPARATION DES GLOBULES ROUGES SENSIBILISES contenant les composants suivants:
1. Diluant d'hématies sensibilisées de poulet, prêt à l'emploi. 1x 25ml. Contient des érythrocytes de poulet en suspension dans une solution d'aldéhyde.
2. Réactif d'extraction n° 1, prêt à l'emploi. 1x 13ml. Contient une solution d'acide acétique.
3. Réactif d'extraction n° 2, prêt à l'emploi. 1x 13ml. Contient une solution de nitrite de sodium.
4. Réactif d'extraction n° 3, prêt à l'emploi. 1x 13ml. Contient une solution tamponnée Tris.
5. Solution tampon, prêt à l'emploi. 2x 50ml. Contient une solution tampon PBS.

Les composants 1, 4 et 5 contiennent 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 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 utiliser 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 le 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%
- centrifugeuse capable d'atteindre 7000 t/m.
- microplaque à fond en V
- chambre humide
- Les antisérums MAST® ASSURE CAMPYLOBACTER ANTISERUM (code M42201) sont prévus pour être utilisés avec les réactifs MAST® ASSURE POUR LA PREPARATION DE GLOBULES ROUGES SENSIBILISES.
- LES REACTIFS MAST ASSURE POUR LA PREPARATION DES GLOBULES ROUGES SENSIBILISES sont prévus pour être utilisés avec les antisérums MAST® ASSURE CAMPYLOBACTER ANTISERA.

Procédure
A. Extraction des antigènes bactériens.
1. Préparer 0,25ml de solution saline stérile dans un tube à centrifuger de 1,5ml.
2. En utilisant une oëse bactériologique,émulsifier les cellules bactériennes du bouillon test dans la solution saline (ex : une quantité équivalente à la taille d'une tête d'allumette).
3. Ajouter 0,25ml des réactifs d'extraction n°1 et 2 dans la suspension. Refermer les tubes et mélanger la suspension au vortex. Incuber à température ambiante pendant 10 minutes.
4. Ajouter 0,25ml du réactif d'extraction n° 3 et bien mélanger.
5. Centrifuger le tube pendant 5 minutes à 7000t/m et utiliser le surnageant comme solution d'antigènes bactériens pour la sensibilisation des globules rouges de poulet.

B. Préparation des globules rouges de poulet.
1. S'assurer que les globules rouges fixés de poulet sont pleinement resuspendus avant de les utiliser pour une homogénéité uniforme puis en préparer 0,5ml dans le nombre requis de tubes test.
2. Ajouter 0,5ml de solution tamponnée puis centrifuger le mélange à 3000t/m pendant 10 minutes.
3. Eliminer soigneusement le surnageant puis resuspendre le culot dans 0,5ml de solution tamponnée.

C. Préparation des globule rouges sensibilisés de poulet.
1. Déposer dans un tube (1,5ml) à centrifuger 0,5ml de solution d'antigène bactérienne pour sensibilisation puis 0,5ml de globules rouges de poulet. Reboucher le tube et bien mélanger. Incuber à 37°C pendant 30 minutes. Agiter le tube à intervalle régulier durant l'incubation.
   Remarque: S'assurer que les globules rouges de poulet sont complétement remis en suspension avant de les utiliser pour une bonne homogénéité.
2. Centrifuger le tube à 6000t/m pendant 30 secondes puis éliminer soigneusement le surnageant.
3. Ajouter 1,0ml de solution tamponnée et resuspendre le culot en utilisant un vortex. La solution correspond alors à la suspension de cellules sensibilisées.

D. Procédure d'hémagglutination passive.
1. Déposer une goutte de chaque antisérum dans des puits séparés sur une microplaque à fond en V. Déposer une goutte du sérum de référence dans un puits pour contrôle.
2. Distribuer 25µl de suspension de cellules sensibilisées dans chaque puits. Laisser tomber librement la suspension de cellules sensibilisées dans le puits afin de ne pas le contaminer avec l'antisérum.
3. Mélanger doucement le contenu des puits avec un agitateur à microplaque ou manuellement. Incuber en chambre humide à température ambiante pendant 30 à 60 minutes.
4. Après 30 à 60 minutes, vérifier l'agglutination de chaque puits et interpréter les resultats selon les critères ci-dessous.

Interprétation des résultats
1. Le puits de contrôle contenant le sérum de référence doit montrer une agglutination négative c'est à dire que les globules rouges (GR) ne doivent former qu'un spot concentré au centre du puit. Si le sérum de référence ne donne pas de réaction négative, il doit être retesté ou l'extraction de l'antigène bactérien répétée.
2. Les résultats pour l'antisérum de sérotypage individuel doivent être interprétés selon le tableau ci-dessous.

Resultat	Aspect	Interprétation
Les GR forment un spot concentré au centre du puits.		-
Les GR agglutinent mais ne couvre pas la surface du puits.		+
Les GR agglutinent sur la totalité de la surface du puits, mais il y a encore un spot de visible au centre du puits.		++
Agglutination complète des GR avec absence de spot au centre du puits.		+++

3. Un isolement bactérien produisant une réaction positive définie (+, ++ ou +++) avec un antisérum spécifique est supposé être une souche de *Campylobacter jejuni* portant des facteurs antigènes représentés par ce groupe d'antisérum. Si l'isolement bactérien produit une réaction positive avec plus d'un antisérum, cela doit être considéré comme une souche de type complexe.

Les antisérums sont classés selon le système de groupement et de numérotation de Penner comme suit:

Groupe A: 1, 44	Groupe K: 12	Groupe Y: 37
Groupe B: 2	Groupe L: 15	Groupe Z: 38
Groupe C: 3	Groupe N: 18	Groupe Z: 41
Groupe D: 4, 13,16, 43, 50	Groupe O: 19	Groupe Z: 45
Groupe E: 5	Groupe P: 21	Groupe Z: 52
Groupe F: 6, 7	Groupe R: 23, 36, 53	Groupe Z: 55
Groupe G: 8	Groupe S: 27	Groupe Z: 57
Groupe I: 10	Groupe U: 31	Référence
Groupe J: 11	Groupe V: 32	

Limites d'utilisation
Seuls les isolements de C*ampylobacter jejuni* identifiés par leurs caractères morphologiques et biochimiques peuvent être sérotypés avec ce produit. Tous les isolements de *Campylobacter jejuni* doivent être cultivés sur des géloses de sang à 42°C pendant 48 heures dans des conditions de microaérobie avant de commencer les procédures.

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 tous signes de détérioration.Ne pas utiliser des réactifs contaminés ou troubles.

Références
Bibliographie disponible sur demande.

IFU175 FR 07/20 V8
MAST is a Registered Trademark