



**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

Antiseri liquidi stabili per la sierotipizzazione di Streptococchi di Gruppo B.

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

### Contenuto

Vedi l'etichetta della confezione

### Formulazione

I MAST® ASSURE ANTISERUM sono preparati da conigli iperimmunizzati con ceppi standard di microrganismi uccisi che possiedono sierotipi noti o antigeni gruppo-specifici. Contengono sodio azide allo 0,085% come conservante.

### Conservazione e validità

Conservare la confezione originale, ben sigillata, a 2 a 8°C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione. Dopo l'apertura, i MAST® ASSURE ANTISERUM devono essere conservati a 2 a 8°C e possono essere utilizzati fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. **Non congelare i reagenti.**

### Avvertenze e Precauzioni

Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*. Rispettare le precauzioni di sicurezza ed impiegare tecniche asettiche. Deve essere utilizzato solo da personale di laboratorio opportunamente qualificato. Prima dell'eliminazione, sterilizzare tutti i materiali biologici pericolosi. Il conservante sodio azide può essere tossico per ingestione e può reagire con le tubazioni di piombo e rame formando sali altamente esplosivi. Smaltire irrorando sempre con abbondante acqua. Consultare la scheda di sicurezza del prodotto.

### Materiali richiesti ma non forniti

Attrezzature e prodotti per analisi microbiologiche di base, per esempio: anse, stick applicatori, vetrini puliti per microscopia, provette di vetro, tamponi, terreni di coltura MAST®, tamponi, inceneritori, termostati, ecc., come pure, specificatamente:

- Soluzione fisiologica sterile 0,85%
- Autoclave con capacità di mantenere 121°C
- Centrifuga capace di raggiungere 3000 rpm.
- Tampone fosfato (PBS) pH 7,2
- Todd-Hewitt Broth Medium.
- Altri reagenti di estrazione disponibili come kit MAST® (Cod.: M20209), come segue:
 

Estratto pancreatico suino	5ml x 4 flaconcini
Soluzione rettifica pH	5ml x 2 flaconcini
Soluzione rosso fenolo	5ml x 1 flaconcino

### Procedimento

#### Preparazione dei microrganismi

1. Prelevare una colonia isolata da una coltura pura di streptococchi precedentemente caratterizzata e inocularla in 5 ml di Todd-Hewitt Broth sterile. Incubare per una notte a 29-30°C.  
**Nota:** L'incubazione a 37°C può generare una sospensione di antigeni che agglutinano spontaneamente.
2. Dopo incubazione, centrifugare la coltura a 3000 rpm per 20 minuti. Scartare il surnatante e risospendere il pellet in 0,5ml di Todd-Hewitt Broth, 4 gocce di una soluzione di tripsina/estratto pancreatico suino e 1 goccia di soluzione di rosso fenolo come indicatore di pH. Il pH della miscela deve essere rettificato a 8,0-8,5 aggiungendo goccia a goccia la soluzione di rettifica del pH finché il colore vira al viola rossastro. È necessaria una rettifica particolarmente accurata del pH per evitare di eccedere.

3. Incubare la miscela a bagnomaria per 1 ora a 37°C. Osservare la miscela dopo 15 minuti di incubazione e se il colore vira allo scarlatto o al giallo, riportare nuovamente il pH a viola rossastro con la soluzione di rettifica del pH. Agitare regolarmente la miscela per garantire una digestione enzimatica omogenea.
4. Dopo incubazione, centrifugare la coltura a 3000 rpm per 20 minuti. Scartare il surnatante e risospendere il pellet in 0,5ml di PBS utilizzando una pipetta o un miscelatore vortex, per garantire una dispersione uniforme del pellet.  
**Nota:** Le cellule batteriche enzimaticamente digerite possono essere conservate fino a 1 mese a 2 a 8°C. A questo scopo, la sospensione cellulare deve essere lavata alcune volte in PBS, e quindi risospesa in un piccolo volume di PBS contenente azide sodica 0,1%.

### Esecuzione del test di agglutinazione su vetrino

1. Utilizzando una matita con punta di vetro o porcellana suddividere un vetrino pulito in diverse sezioni.
2. Posizionare un'ansa di soluzione fisiologica sterile 0,85% come controllo e la sospensione dei microrganismi digeriti in aree distinte del vetrino. Aggiungere una goccia dell'antisiero di tipizzazione richiesto nel centro delle sezioni del vetrino.  
**Nota:** lasciare che l'antisiero cada liberamente dal contagocce fornito con il flacone. Non contaminare l'antisiero con il microrganismo.
3. Miscelare i reagenti facendo oscillare avanti e indietro il vetrino per 60 secondi verificando la reazione sotto luce indiretta contro uno sfondo scuro.
4. Una distinta agglomerazione o agglutinazione durante questo periodo di tempo, senza agglutinazione nella soluzione di controllo (auto-agglutinazione), deve essere considerata come un risultato positivo. Una debole agglutinazione deve essere considerata come un risultato negativo.

### Interpretazione dei risultati

Una chiara reazione positiva osservata entro 1 minuto indica che il microrganismo presenta la specificità con l'antisiero che ha indotto la reazione. Molto occasionalmente un ceppo può indurre una reazione positiva con 2 sieri di tipizzazione, per es. Ia + III o II + III.

Il sierotipo designato in questa procedura corrisponde al sierotipo identificato dal test di precipitazione standard dell'OMS, che utilizza antigeni estratti con acido.

### Limitazioni

Questo prodotto consente di sierotipizzare solo colture di microrganismi identificati come Streptococchi di Gruppo B per aspetto morfologico e con test biochimici.

Se la sospensione dell'antigene mostra agglutinazione spontanea con soluzione fisiologica di controllo, aggiungere altre 4 gocce della soluzioni di tripsina e ripetere la digestione enzimatica per 20 minuti a 50°C. Se dopo aver ripetuto la digestione la sospensione antigenica evidenzia ancora agglutinazione spontanea con soluzione fisiologica, selezionare un'altra colonia e ripetere il test.

### Controllo Qualità

Il controllo di qualità deve essere eseguito impiegando almeno un microrganismo che mostri una reazione positiva ed almeno un microrganismo che mostri una reazione negativa. Non utilizzare il prodotto se le reazioni con i microrganismi di controllo non sono corrette. Verificare eventuali segni di deterioramento. Non utilizzare reagenti contaminati o torbidi.

### Bibliografia

La pertinente bibliografia è disponibile su richiesta.