



## Anti-Salmonella H-Phasen-Pools

Testreagenz für die Objektträgeragglutination

INFORMATION ZUM GEBRAUCH DURCH FACHPERSONAL



REF	H-Phasen-Pool	Vol.
TR1181, TR1181-01	Anti-Salmonella HMA	a, b, c, d, i, Z <sub>10</sub> , Z <sub>29</sub> 1 ml, 3 ml
TR1183, TR1183-01	Anti-Salmonella HMB	E, G 1 ml, 3 ml
TR1185, TR1185-01	Anti-Salmonella HMC	k, y, z, L, Z <sub>1</sub> , r 1 ml, 3 ml

**Zweckbestimmung**

Die Testreagenzien dienen dem serologischen Nachweis der H-Antigene von isolierten *Salmonella*-Stämmen aus Untersuchungsmaterial humaner und anderer Herkunft mit Hilfe der Objektträgeragglutination. Die weitere serologische Differenzierung ist mit den monospezifischen Testreagenzien Anti-Salmonella H entsprechend dem White-Kauffmann-Le-Minor-Schema (Kauffmann-White-Schema) durchzuführen.

**Testprinzip**

Besitzt der isolierte *Salmonella*-Stamm ein dem Erfassungsbereich des Testreagenzes entsprechendes H-Antigen, wird dieses beim Mischen mit dem spezifischen Antikörper gebunden. Infolge der Antigen-Antikörper-Reaktion wird der Stamm deutlich sichtbar agglutiniert.

**Zusammensetzung**

Die Testreagenzien sind Mischungen von monoklonalen Antikörpern. Sie werden aus Zellkulturüberständen von Hybridom-Zelllinien hergestellt, die Antikörper gegen die entsprechenden *Salmonella* H-Antigene sezernieren. Das Testreagenz Anti-Salmonella HMA enthält zur Erfassung des H-Antigens Z<sub>29</sub> und das Testreagenz Anti-Salmonella HMC zur Erfassung des H-Antigen-Komplexes Z<sub>1</sub> zusätzlich Serum von immunisierten Kaninchen, das durch Absorption von unspezifischen Agglutininen befreit wurde.

Konservierungsmittel: Natriumazid (NaN<sub>3</sub>) 0,9 mg/ml

**Darreichungsform, Haltbarkeit und Lagerungsbedingungen**

Die Testreagenzien liegen in flüssiger, gebrauchsfertiger Form vor. Sie sind original verschlossen und nach erstmaligem Öffnen bei Lagerung bei 2...8 °C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Datum verwendbar. Nach Benutzung sind die Fläschchen wieder gut zu verschließen. Gelegentlich können in den Testreagenzien nicht mikrobiell verursachte Trübungen auftreten. Sie beeinträchtigen nicht die Wirksamkeit der Testreagenzien und können durch Zentrifugation oder Filtration beseitigt werden.

Vor Gebrauch müssen die Testreagenzien auf Raumtemperatur (18...26 °C) temperiert werden.

**Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen**

Durch die biotechnologische Herstellung der Testreagenzien ist das Risiko einer Kontamination durch infektiöse Krankheitserreger nahezu ausgeschlossen. Wegen des Gehalts an tierischen Materialien (fötales Kälberserum, Stabilisator) sowie durch den Zusatz von Kaninchenserum sollten sie als potentiell infektiös gehandhabt werden. Wegen des Gehalts an Natriumazid Kontakt mit der Haut und Schleimhäuten vermeiden; gegebenenfalls mit reichlich Wasser spülen.

Da bei der Durchführung der Objektträgeragglutination mit nativem Erregermaterial gearbeitet wird, müssen die notwendigen Arbeitsschutzmaßnahmen eingehalten werden (Infektionsgefahr)!

**Nicht mitgelieferte Arbeitsmaterialien und Ausrüstungen**

Glasobjektträger, Rührstäbchen, physiologische Kochsalzlösung, Abwurfbehälter für infektiöses Material, White-Kauffmann-Le-Minor-Schema.

**Untersuchungsmaterial und Methodik**

1. Von einer 16- bis 20-stündigen Subkultur (z. B. Kligler) wird etwas Bakterienmasse vom unteren, feuchten Teil des Schrägagars auf einem Objektträger in einem Tropfen (ca. 25 µl) Testreagenz zu einer homogenen, leicht milchigen Suspension eingerieben. Der Objektträger sollte sich auf einer dunklen Unterlage befinden.

Der Objektträger wird vor einer Lichtquelle gegen einen schwarzen Hintergrund gehalten, geschwenkt und das Ergebnis mit bloßem Auge abgelesen. Zum Ausschluss von Spontanagglutinationen ist eine Negativkontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung anstelle des Testreagenzes durchzuführen.

2. Gelingt die H-Antigenbestimmung nach der oben beschriebenen Methode nicht, ist der Stamm zur besseren Ausprägung der Geißelantigene auf Schwärmagar zu überimpfen. Für den Schwärmagar empfehlen wir den Fertignährboden [REF] sifin TN1702.

10 m des Schwärmagars werden nach Verflüssigung in eine Petrischale (6 cm Durchmesser) gegeben. Nach Erstarren wird die Agaroberfläche mit ca. 100 µl sterilem Aqua dest. benetzt und der Stamm punktförmig in der Mitte der Platte aufgetragen. Die Platte wird mit der Agarschicht nach unten bis zum nächsten Tag bei 35...37 °C inkubiert.

Zur Objektträgeragglutination wird das Material vom Rand der Platte entnommen.

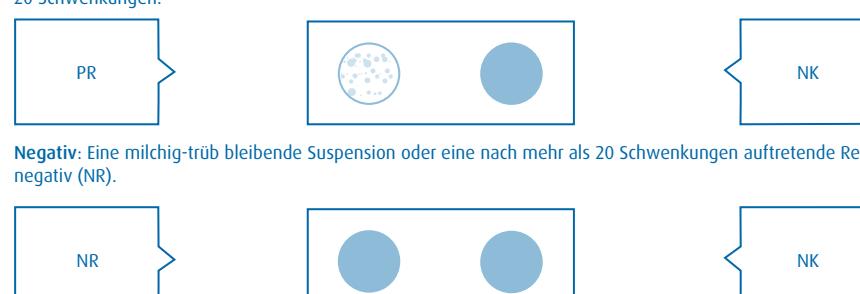
**Ablauf der Prüfung**

Die Prüfung mit den polyspezifischen Testreagenzien Anti-Salmonella HMA, Anti-Salmonella HMB und Anti-Salmonella HMC ermöglicht den serologischen Nachweis der häufigsten H-Antigene bzw. H-Antigen-Komplexe von *Salmonella*-Stämmen. Darüber hinaus sollte auf den Antigen-Komplex H:1 mit Anti-Salmonella H:1 ([REF] TR1437, TR1437-01) untersucht werden. Fällt die Reaktion bei diesen Prüfungen positiv aus, sollte der Stamm zur weiteren Typisierung mit von sifin verfügbaren monospezifischen Testreagenzien Anti-Salmonella H (siehe Produktliste bzw. www.sifin.de) agglutiniert werden.

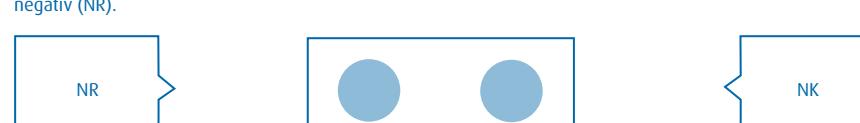
**Bewertung der Ergebnisse**

Eine Auswertung ist nur möglich, wenn die Negativkontrolle (NK) milchig trüb bleibt.

**Positiv:** Sichtbare Agglutination nach 1 bis 20 Schwenkungen. Bei stark positiver Reaktion (PR) tritt eine Agglutination (groß- oder feinfleckig) bereits beim Einreiben der Bakterienmasse auf, bei schwach positivem Ergebnis erst nach 10 bis 20 Schwenkungen.



**Negativ:** Eine milchig-trüb bleibende Suspension oder eine nach mehr als 20 Schwenkungen auftretende Reaktion ist negativ (NR).

**Qualitäts sicherung bei der Testdurchführung**

Für die Qualitätskontrolle des serologischen Nachweises der H-Antigene von *Salmonella*-Stämmen mit der Objektträgeragglutination ist es wichtig, dass die dazu verwendeten Stämme ihre Antigene an der Zelloberfläche gut exprimieren. Es empfiehlt sich daher, Stämme aus Ringversuchen, extern vollständig charakterisierte Feldstämme definierter Herkunft oder geeignete kommerziell erhältliche *Salmonella*-Testantigene zur Qualitätskontrolle einzusetzen.

**Grenzen der Methode**

Die Testreagenzien reagieren mit *Salmonella*-Stämmen, die Antigene der in den H-Phasen-Pools deklarierten Spezifitäten enthalten. Eine biochemische Zuordnung zum Genus *Salmonella* schließt seltene Kreuzreaktionen mit anderen Genera der Enterobacteriaceae aus.

**Erklärung der benutzten Symbole**

<b>LOT</b>	Chargennummer (Chargenbezeichnung)
<b>REF</b>	Bestellnummer
<b>IVD</b>	In-vitro-Diagnostikum
<b>TR</b>	Testreagenz

	Verwendbar bis JJJJ-MM (MM = Monatsende)
	Temperaturbegrenzung
	Gebrauchsanweisung beachten
	Objektträgeragglutination

Datum der Fassung: 14/07/2020



## Anti-Salmonella Pools de phase H

Réactif d'essai pour l'agglutination sur lame

INFORMATION À L'USAGE DES PROFESSIONNELS



fr

REF	Pools de phase H	Vol.
TR1181, TR1181-01	Anti-Salmonella HMA	a, b, c, d, i, Z <sub>10</sub> , Z <sub>29</sub> 1 ml, 3 ml
TR1183, TR1183-01	Anti-Salmonella HMB	E, G 1 ml, 3 ml
TR1185, TR1185-01	Anti-Salmonella HMC	k, y, z, L, Z <sub>1</sub> , r 1 ml, 3 ml

**Usage prévu**

Les réactifs d'essai servent à la détection sérologique des antigènes H de souches de *Salmonella* isolées à partir d'un matériau d'essai d'origine humaine ou autre, au moyen de l'agglutination sur lame. La différenciation sérologique suivante doit être effectuée avec les réactifs d'essai monospécifiques Anti-Salmonella H conformément au schéma de Kauffmann-White-Le-Minor (schéma Kauffmann-White).

**Principe de l'essai**

Si la souche isolée de *Salmonella* possède un antigène correspondant à la plage de détection du réactif d'essai, celui-ci se lie à l'anticorp spécifique lors du mélange. En conséquence de la réaction de l'antigène et de l'anticorp, on constate que la souche est nettement agglutinée.

**Composition**

Les réactifs d'essai sont des mélanges d'anticorps monoclonaux. Ils sont préparés à partir de surnageants de culture cellulaire de lignées cellulaires d'hybridomes qui sécrètent des anticorps contre les antigènes H de *Salmonella* correspondants. Le réactif d'essai Anti-Salmonella HMA pour la détection de l'antigène H Z<sub>29</sub> et le réactif d'essai Anti-Salmonella HMC pour la détection du complexe d'antigène H Z<sub>1</sub> comprennent en outre du sérum de lapins immunisés qui a été libéré par absorption d'agglutinines non spécifiques.

Conservateur : azoture de sodium (NaN<sub>3</sub>) 0,9 mg/ml

**Présentation, conservation et conditions de stockage**

Les réactifs d'essai se trouvent sous forme liquide, prête à l'emploi.

S'ils sont conservés dans leur emballage d'origine et une fois ouverts, conservés à une température de 2...8 °C, ils peuvent être utilisés jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette. Après utilisation, les flacons doivent être bien refermés. Des turbidités qui ne sont pas d'origine microbienne peuvent apparaître occasionnellement dans les réactifs d'essai. Elles n'affectent pas l'efficacité des réactifs d'essai et peuvent être éliminées par centrifugation ou filtration.

Avant emploi, les réactifs d'essai doivent être amenés à température ambiante (18...26 °C).

**Mises en garde et précautions d'emploi**

En raison de la préparation biotechnologique des réactifs d'essai, le risque d'une contamination par des agents pathogènes infectieux est pratiquement exclu. En raison de la teneur en matériaux d'origine animale (sérum de veau fœtal, stabilisateur) et de l'ajout de sérum de lapin, ils devraient être manipulés comme des produits potentiellement infectieux.

A cause de la teneur en azoture de sodium, il faut éviter le contact avec la peau et les muqueuses et le cas échéant, rincer abondamment à l'eau.

Puisque l'on travaille avec des matériaux pathogènes natis lors de la réalisation de l'agglutination sur lame, il faut respecter les mesures de sécurité au travail (risque d'infection) !

**Matières de travail et équipements non fournis**

Lame de verre, agitateur, solution physiologique de sel de cuisine, collecteur de déchets pour les matériaux infectieux, schéma de White-Kauffmann-Le-Minor.

**Matériel d'essai et méthodologie**

1. On enduit un peu de substance bactérienne de la partie humide, inférieure de la gélose inclinée issue d'une sous-culture de 16 à 20 heures (par ex. milieu de Kligler) sur une lame dans une goutte (environ 25 µl) de réactif d'essai de manière à obtenir une suspension homogène, légèrement laiteuse. La lame devrait se trouver sur une base sombre. On maintient la lame devant une source de lumière, contre un fond noir, on la fait tourner et on lit le résultat à l'œil nu. Pour exclure des agglutinations spontanées, il faut réaliser un témoin négatif avec une solution physiologique de sel de cuisine au lieu du réactif d'essai.

2. Si la détermination de l'antigène H n'est pas obtenue suivant la méthode décrite ci-dessus, la souche doit être ensemençée sur une gélose d'essaimage pour une meilleure imprégnation des antigènes de flagelle. En gélose d'essaimage, nous recommandons le milieu nutritif prêt à l'emploi [REF] sifin TN1702.

On verse 10 ml de cette gélose d'essaimage après liquefaction dans une boîte de Petri (6 cm de diamètre). Une fois solidifiée, cette surface de gélose est mouillée avec environ 100 µl d'eau distillée stérile et la souche est appliquée en forme de point au centre de la plaque. On laisse incuber la plaque avec la couche de gélose vers le bas jusqu'au lendemain à 35...37 °C. Le matériel est enlevé du bord de la plaque pour l'agglutination sur lame.

**Déroulement du contrôle**

Le contrôle avec les réactifs d'essai polyspécifiques Anti-Salmonella HMA, Anti-Salmonella HMB et Anti-Salmonella HMC permet la détection sérologique des antigènes H et des complexes d'antigènes H des souches de *Salmonella* les plus fréquents. Par ailleurs, on devrait rechercher la présence du complexe H:1 avec l'Anti-Salmonella H:1 ([REF] TR1437, TR1437-01). Si la réaction est positive lors de ces contrôles, la souche devrait être agglutinée pour le type suivant avec les réactifs d'essai monospécifiques Anti-Salmonella H disponibles auprès de sifin (voir liste des produits ou www.sifin.de).

