



Anti-Salmonella Gr. B, C, D, E Anti-Salmonella O Anti-Salmonella Vi

de Testreagenz für die Objektträgeragglutination
INFORMATION ZUM GEBRAUCH DURCH FACHPERSONAL CE IVD

Zweckbestimmung

Die Testreagenzien Anti-Salmonella dienen entweder zur Bestimmung der gruppenspezifischen O-Antigene und damit zur Zuordnung eines Isolats in die entsprechende Gruppe des Kauffmann-White-Schemas oder der Ermittlung weiterer O-Antigene, soweit sie zur Serovarbestimmung oder -überprüfung erforderlich sind. Die weitere serologische Differenzierung ist mit den Testreagenzien Anti-Salmonella H entsprechend dem White-Kauffmann-Le-Minor-Schema (Kauffmann-White-Schema) durchzuführen.

Testprinzip

Besitz der *Salmonella*-Stamm ein dem Erfassungsbereich des Testreagenzes entsprechendes 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 monoklonale Antikörper, Testseren oder eine Mischung aus monoklonalen Antikörpern und Testserum. Monoklonale Antikörper werden aus Zellkulturüberständen von Hybridomzelllinien hergestellt, die Antikörper gegen die entsprechenden *Salmonella*-Antigene sezernieren. Die Testseren sind Seren von immunisierten Kaninchen, die durch Absorption von unspezifischen Agglutininen befreit wurden. Konservierungsmittel: Natriumazid (NaN₃), 0,9 mg/ml

Verfügbare Spezifitäten Anti-Salmonella

Spezifität	REF	Vol	Darreichungsform	Spezifität	REF	Vol	Darreichungsform
Gr. B	TR 1201	1 ml	flüssig	O:34 ³⁾	TR 1314	1 ml	flüssig
	TR 1201-01	5 ml	flüssig	O:35	TR 1341	1 ml	lyophilisiert
Gr. C	TR 1202	1 ml	flüssig	O:38	TR 1344	1 ml	lyophilisiert
Gr. D	TR 1203	1 ml	flüssig	O:39	TR 1345	1 ml	lyophilisiert
	TR 1203-01	5 ml	flüssig	O:40	TR 1346	1 ml	lyophilisiert
Gr. E	TR 1204	1 ml	flüssig	O:41	TR 1347	1 ml	lyophilisiert
O:2	TR 1301	1 ml	flüssig	O:42	TR 1348	1 ml	lyophilisiert
O:4	TR 1302	1 ml	flüssig	O:43	TR 1349	1 ml	lyophilisiert
	TR 1302-01	5 ml	flüssig	O:44	TR 1350	1 ml	lyophilisiert
O:5	TR 1303	1 ml	flüssig	O:45	TR 1351	1 ml	lyophilisiert
	TR 1303-01	5 ml	flüssig	O:46	TR 1315	1 ml	flüssig
O:6- ¹⁾	TR 1304	1 ml	lyophilisiert	O:47	TR 1353	1 ml	lyophilisiert
O:7	TR 1305	1 ml	flüssig	O:48	TR 1354	1 ml	lyophilisiert
O:8	TR 1306	1 ml	flüssig	O:50	TR 1355	1 ml	lyophilisiert
	TR 1307	1 ml	flüssig	O:51	TR 1356	1 ml	lyophilisiert
O:9	TR 1307-01	5 ml	flüssig	O:52	TR 1357	1 ml	lyophilisiert
O:10	TR 1308	1 ml	flüssig	O:53	TR 1358	1 ml	lyophilisiert
O:11	TR 1323	1 ml	lyophilisiert	O:54	TR 1359	1 ml	lyophilisiert
O:13	TR 1325	1 ml	lyophilisiert	O:55 ⁴⁾	TR 1360	1 ml	lyophilisiert
O:14- ²⁾	TR 1309	1 ml	lyophilisiert	O:56	TR 1361	1 ml	lyophilisiert
O:15	TR 1310	1 ml	flüssig	O:57	TR 1362	1 ml	lyophilisiert
O:16	TR 1328	1 ml	lyophilisiert	O:58	TR 1363	1 ml	lyophilisiert
O:17	TR 1329	1 ml	lyophilisiert	O:59	TR 1364	1 ml	lyophilisiert
O:18	TS 1330	1 ml	lyophilisiert	O:60	TR 1365	1 ml	lyophilisiert
O:19- ¹⁾	TR 1311	1 ml	flüssig	O:61	TR 1366	1 ml	lyophilisiert
O:20	TR 1312	1 ml	flüssig	O:62	TR 1367	1 ml	lyophilisiert
O:21	TR 1331	1 ml	lyophilisiert	O:63	TR 1368	1 ml	lyophilisiert
O:22	TS 1332	1 ml	lyophilisiert	O:65	TR 1369	1 ml	lyophilisiert
O:25	TR 1335	1 ml	lyophilisiert	O:66	TR 1370	1 ml	lyophilisiert
O:27	TR 1313	1 ml	flüssig	O:67	TR 1371	1 ml	lyophilisiert
O:28	TR 1336	1 ml	lyophilisiert	Vi	TR 1316	1 ml	flüssig
O:30	TR 1339	1 ml	lyophilisiert				

¹⁾ Dient der Untersuchung von Serovaren der Gruppe C₁₋₆, auf die Anwesenheit oder Abwesenheit des Faktors O:6.

²⁾ Erfasst nur das O:14 der Gruppe H, nicht aber das der Gruppe C₁.

³⁾ Darf wegen der Kreuzreaktionen mit O:12, O:28 und O:55 nur zur Differenzierung innerhalb der Gruppe E eingesetzt werden.

⁴⁾ Reagiert mit einigen Stämmen der Gruppe O:59

⁵⁾ Reagiert mit einigen Stämmen der Gruppe B mit O:27

Darreichungsform, Haltbarkeit und Lagerungsbedingungen

Testreagenzien, die in der mikrobiologischen Praxis häufig benötigt werden, liegen in flüssiger, gebrauchsfertiger Form vor. Testreagenzien für Spezifitäten mit geringerem Bedarf sind lyophilisiert. Flüssige Testreagenzien 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 Flaschen wieder gut zu verschließen. Lyophilisierte Testreagenzien sind vor dem Gebrauch in 1 ml Aqua dest. zu lösen und mit der beiliegenden Pipette gut zu verschließen. Bei Lagerung bei 2...8 °C sind sie mindestens 18 Monate verwendbar, jedoch maximal bis zu dem auf dem Etikett deklarierten Datum.

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 monoklonalen Antikörper ist das Risiko einer Kontamination durch infektiöse Krankheitserreger nahezu ausgeschlossen. Wegen des Gehalts an tierischen Materialien (fötales Kälberserum, Stabilisator) sollten sie als potentiell infektiös gehandhabt werden. Testreagenzien, die biologisches Material in Form von Kaninchen-serum enthalten, sollten deshalb als potentiell infektiös angesehen werden und entsprechend 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 (9 g/l NaCl), Abwurfbehälter für infektiöses Material, White-Kauffmann-Le-Minor-Schema.

Untersuchungsmaterial und Methodik

Von einer 16- bis 20stündigen Subkultur (z. B. Nähragar, Blutagar oder Kligler-Nährboden) wird etwas Bakterienmasse auf einem Objektträger in einen Tropfen Testreagenz (ca. 25 µl) zu einer homogenen, leicht milchigen Suspension eingerieben. Der Objektträger sollte sich auf einer dunklen Unterlage befinden. Der Objektträger wird vor eine Lichtquelle gegen einen schwarzen Hintergrund gehalten, geschwenkt und das Ergebnis mit bloßem Auge abgelesen. Zum Ausschluss von Spontanagglutinationen ist eine Negativkontrolle (NK) mit physiologischer Kochsalzlösung anstelle des Testreagenzes mitzuführen.

Hinweise: Wenn das Vi-Antigen vorhanden ist, kann es den Nachweis von O-Antigenen maskieren. Zum Nachweis der O-Antigene kann es sich deshalb als erforderlich erweisen, eine Antigen suspension des Isolates für 60 Minuten bei 100 °C oder 15 Minuten auf 120 °C zu erhitzen.

Bewertung des Ergebnisses

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 feinflockig) 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).



Qualitätssicherung bei der Testdurchführung

Für die Qualitätskontrolle der serologischen Typisierung mittels 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* O₁H-Testantigene zur Qualitätskontrolle einzusetzen.

Grenzen der Methode

Die Testreagenzien reagieren nur mit *Salmonella*-Stämmen, die Antigene der deklarierten Spezifität enthalten. Aufgrund von Antigenidentitäten bzw. -verwandtschaften können in Einzelfällen Kreuzreaktionen mit anderen Genen der *Enterobacteriaceae* (z. B. mit Stämmen von *Citrobacter* spp., *Hafnia alvei*, *Proteus* spp. oder *E. coli*) auftreten. Deshalb ist biochemisch die Zuordnung zum Genus *Salmonella* erforderlich. Die weitere serologische Differenzierung ist mit den Testreagenzien Anti-Salmonella H entsprechend dem White-Kauffmann-Le-Minor-Schema durchzuführen.

Erklärung der benutzten Symbole

LOT	Chargennummer (Chargenbezeichnung)
REF	Bestellnummer
IVD	In-vitro-Diagnostikum
TR	Testreagenz
mTR	Monoklonales Testreagenz

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

Datum der Fassung: 15/09/2020



Anti-Salmonella Gr. B, C, D, E Anti-Salmonella O Anti-Salmonella Vi

fr Réactif d'essai pour l'agglutination sur lame
INFORMATION À L'USAGE DES PROFESSIONNELS CE IVD

Usage prévu

Les réactifs d'essai Anti-Salmonella servent soit à déterminer les antigènes O spécifiques de groupe et donc à classer un isolat dans le groupe correspondant du schéma de Kaufmann-White ou à déterminer d'autres antigènes O dans la mesure où ils sont requis pour déterminer le sérovat ou le vérifier. La différenciation sérologique suivante doit être effectuée avec les réactifs d'essai Anti-Salmonella H conformément au schéma de White-Kauffmann-Le Minor (schéma White-Kaufmann).

Principe de l'essai

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

Composition

Les réactifs d'essai sont des anticorps monoclonaux, des sérums d'essai ou un mélange d'anticorps monoclonaux et de sérum d'essai. Les anticorps monoclonaux sont préparés à partir de surmarnages de culture cellulaire de lignées cellulaires d'hybridomes qui sécrètent des anticorps contre les antigènes de *Salmonella* correspondants. Les sérums d'essai sont des sérums de lapins immunisés qui ont été libérés par absorption d'agglutinines non spécifiques. Conservateur: azoture de sodium (NaN₃), 0,9 mg/ml

Spécificités disponibles Anti-Salmonella

Spécificité	REF	Vol	Forme d'administration	Spécificité	REF	Vol	Forme d'administration
Gr. B	TR 1201	1 ml	liquide	O:34 ³⁾	TR 1314	1 ml	liquide
	TR 1201-01	5 ml	liquide	O:35	TR 1341	1 ml	lyophilisé
Gr. C	TR 1202	1 ml	liquide	O:38	TR 1344	1 ml	lyophilisé
Gr. D	TR 1203	1 ml	liquide	O:39	TR 1345	1 ml	lyophilisé
	TR 1203-01	5 ml	liquide	O:40	TR 1346	1 ml	lyophilisé
Gr. E	TR 1204	1 ml	liquide	O:41	TR 1347	1 ml	lyophilisé
O:2	TR 1301	1 ml	liquide	O:42	TR 1348	1 ml	lyophilisé
O:4	TR 1302	1 ml	liquide	O:43	TR 1349	1 ml	lyophilisé
	TR 1302-01	5 ml	liquide	O:44	TR 1350	1 ml	lyophilisé
O:5	TR 1303	1 ml	liquide	O:45	TR 1351	1 ml	lyophilisé
	TR 1303-01	5 ml	liquide	O:46	TR 1315	1 ml	liquide
O:6- ¹⁾	TR 1304	1 ml	lyophilisé	O:47	TR 1353	1 ml	lyophilisé
O:7	TR 1305	1 ml	liquide	O:48	TR 1354	1 ml	lyophilisé
O:8	TR 1306	1 ml	liquide	O:50	TR 1355	1 ml	lyophilisé
	TR 1307	1 ml	liquide	O:51	TR 1356	1 ml	lyophilisé
O:9	TR 1307-01	5 ml	liquide	O:52	TR 1357	1 ml	lyophilisé
O:10	TR 1308	1 ml	liquide	O:53	TR 1358	1 ml	lyophilisé
O:11	TR 1323	1 ml	lyophilisé	O:54	TR 1359	1 ml	lyophilisé
O:13	TR 1325	1 ml	lyophilisé	O:55 ⁴⁾	TR 1360	1 ml	lyophilisé
O:14- ²⁾	TR 1309	1 ml	lyophilisé	O:56	TR 1361	1 ml	lyophilisé
O:15	TR 1310	1 ml	liquide	O:57	TR 1362	1 ml	lyophilisé
O:16	TR 1328	1 ml	lyophilisé	O:58	TR 1363	1 ml	lyophilisé
O:17	TR 1329	1 ml	lyophilisé	O:59	TR 1364	1 ml	lyophilisé
O:18	TS 1330	1 ml	lyophilisé	O:60	TR 1365	1 ml	lyophilisé
O:19- ¹⁾	TR 1311	1 ml	liquide	O:61	TR 1366	1 ml	lyophilisé
O:20	TR 1312	1 ml	liquide	O:62	TR 1367	1 ml	lyophilisé
O:21	TR 1331	1 ml	lyophilisé	O:63	TR 1368	1 ml	lyophilisé
O:22	TS 1332	1 ml	lyophilisé	O:65	TR 1369	1 ml	lyophilisé
O:25	TR 1335	1 ml	lyophilisé	O:66	TR 1370	1 ml	lyophilisé
O:27	TR 1313	1 ml	liquide	O:67	TR 1371	1 ml	lyophilisé
O:28	TR 1336	1 ml	lyophilisé	Vi	TR 1316	1 ml	liquide
O:30	TR 1339	1 ml	lyophilisé				

¹⁾ Sert à l'analyse de sérums du groupe C₁₋₆ pour détecter la pré-séne ou l'absence du facteur O:6.

²⁾ Détecte seulement le O:14 du groupe H mais pas celui du groupe C₁.

³⁾ Ne peut être utilisé que pour la différenciation au sein du groupe à cause de réactions croisées avec O:12, O:28 et O:55.

⁴⁾ Réagit avec certaines souches du groupe O:59

⁵⁾ Réagit avec certaines souches du groupe B avec O:27

Présentation, conservation et conditions de stockage

Les réactifs d'essai sont utilisés dans les laboratoires de microbiologie se présentant sous forme liquide, prête à l'emploi. Les réactifs d'essai pour les spécificités avec un faible besoin sont lyophilisés. Si les réactifs d'essai liquides 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 fermés. Les réactifs d'essai lyophilisés doivent être dissouts avant emploi dans 1 ml d'eau distillée et bien refermés avec la pipette compte-goutte incluse. S'ils sont stockés à 2...8 °C, ils sont utilisables pendant au moins 18 mois, mais au maximum jusqu'à la date mentionnée sur l'étiquette. Des turbidités d'origine non 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 ajustés à température ambiante (18...26 °C).

Mises en garde et précautions d'emploi

En raison de la préparation biotechnologique des anticorps monoclonaux, 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), ils devraient être manipulés comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs d'essai qui contiennent un matériau biologique sous forme de sérum de lapin doivent être considérés comme potentiellement infectieux et être manipulés en conséquence. 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!)

Matériaux 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.

Matériau d'essai et méthodologie

On enduit un peu de substance bactérienne issue d'une sous-culture de 16 à 20 heures (par ex. gélose nutritive, gélose au sang ou milieu de Kligler) sur une lame dans une goutte de réactif d'essai (environ 25 µl) 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 (TN) avec une solution physiologique de sel de cuisine au lieu du réactif d'essai.

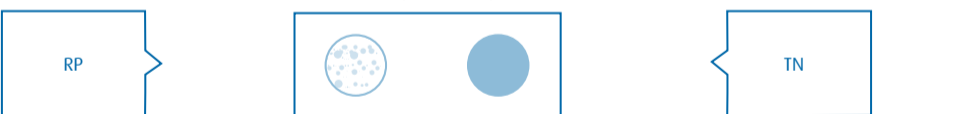
Remarque: L'antigène Vi peut masquer la présence d'antigènes O. Pour détecter les antigènes O, il peut par conséquent être nécessaire de réchauffer une suspension d'antigène de l'isolat pendant 60 minutes à 100 °C ou pendant 15 minutes à 120 °C.

Evaluation du résultat

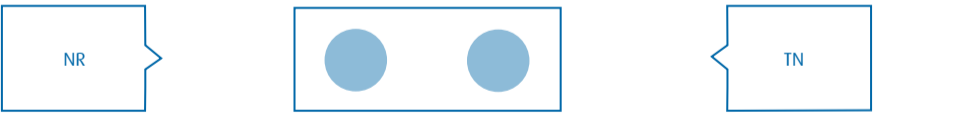
Evaluation n'est possible que si le témoin négatif (TN) reste trouble et laiteux.

Positif: agglutination visible au bout de 1 à 20 rotations.

En cas de réaction fortement positive (RP), on constate une agglutination (de flocons grossiers ou fins) des la substance bactérienne enduite, en cas de résultat faiblement positif, uniquement au bout de 10 à 20 rotations.



Négatif: une suspension trouble et laiteuse ou une réaction qui survient au bout de plus de 20 rotations est négative (NR).



Assurance qualité lors de la réalisation du test

Pour le contrôle qualité du typage sérologique à l'aide de l'agglutination sur lame, il est important que les souches utilisées expriment bien leurs antigènes à la surface de la cellule. Pour effectuer le contrôle qualité, il est donc recommandé d'utiliser des souches issues de séries de tests interlaboratoires, des souches sauvages d'origine définie entièrement caractérisées en interne ou l'antigène test H, *Salmonella* O disponible dans le commerce.

Limite de la méthode

