



de

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 ₁₀ , Z ₂₉	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 ₄ , 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

Besitz 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 z₂₉ und das Testreagenz Anti-Salmonella HMC zur Erfassung des H-Antigen-Komplexes Z₄ zusätzlich Serum von immunisierten Kaninchen, das durch Absorption von unspezifischen Agglutininen befreit wurde.

Konservierungsmittel: Natriumazid (NaN₃) 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 angege-benen 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 Krank-heitserreger 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 not-wendigen 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 mitzuführen.

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 ml dieses 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 ver-fügbaren monospezifischen Testreagenzien Anti-Salmonella H (siehe Produktliste bzw. www.sifin.de) agglutiniert werden.

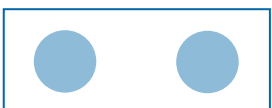
Bewertung der Ergebnisse

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 (grob- oder feinkflockig) bereits beim Einreiben der Bakterienmasse auf, bei schwach positivem Ergebnis erst nach 10 bis 20 Schwenkungen.

PR		NK
-----------------	---	-----------------

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

NR		NK
-----------------	---	-----------------





Qualitätssicherung bei der Testdurchführung

Für die Qualitätskontrolle des serologischen Nachweises der H-Antigene von *Salmonella*-Stämmen mit der Objektträger-agglutination 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

LOT	Chargennummer (Chargenbezeichnung)		Verwendbar bis JJJJ-MM (MM = Monatsende)
REF	Bestellnummer		Temperaturbegrenzung
IVD	In-vitro-Diagnostikum		Gebrauchsanweisung beachten
TR	Testreagenz		Objektträgeragglutination

 **sifin diagnostics gmbh** | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | www.sifin.de



fr

Anti-Salmonella Pools de phase H

Réactif d’essai pour l'agglutination sur lame

INFORMATION À L’USAGE DES PROFESSIONNELS



REF	Pools de phase H	Vol.	
TR1181, TR1181-01	Anti-Salmonella HMA	a, b, c, d, i, Z ₁₀ , Z ₂₉	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 ₄ , 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'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 mélanges d'anticorps monoclonaux. Ils sont préparés à partir de surnageants de culture cellu-laire 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 z₂₉ et le réactif d'essai Anti-Salmonella HMC pour la détection du complexe d'antigène H Z₄ comprennent en outre du sérum de lapins immunisés qui a été libéré par absorption d'agglutinines non spécifiques.

Conservateur : azoture de sodium (NaN₃) 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 foetal, stabilisa-teur) 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 natifs 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

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 exlure 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 ense-mencée sur une gélose d'essaiage pour une meilleure imprégnation des antigènes de flagelle. En gélose d'essaiage, nous recommandons le milieu nutritif prêt à l'emploi REF sifin TN1702.

On verse 10 ml de cette gélose d'essaiage après liquéfaction dans une boîte de Petri (6 cm de diamètre). Une fois soli-difiée, 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 matériau 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 d'antigènes 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 typage suivant avec les réactifs d'essai monospécifiques Anti-Salmonella H disponibles auprès de sifin (voir liste des produits ou www.sifin.de).

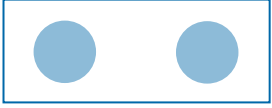
Evaluation des résultats

Une évaluation 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.

RP		TN
-----------------	---	-----------------

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

NR		TN
-----------------	---	-----------------





Assurance qualité lors de la réalisation du test

Für Pour le contrôle qualité de la détection sérologique des antigènes H de souches de *Salmonella*, 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 tests interlaboratoires, des souches sauvages d'origine définie entièrement caractérisées en externe ou des antigènes de *Salmonella* à tester disponibles dans le commerce.

Limites de la méthode

Les réactifs d'essai réagissent seulement avec des souches de Salmonella qui contiennent des antigènes de la spécificité déclarée dans les pools de phase H. Un classement par analyse biochimique dans le genre Salmonella exclut de rares réactions croisées avec d'autres genres d'*Enterobacteriaceae*.

Explication des symboles utilisés

LOT	Code du lot		Utiliser jusque AAAA-MM (MM = fin du mois)
REF	Référence du catalogue		Limites de température
IVD	Dispositif medical de diagnostic in vitro		Consulter les instructions d'utilisation
TR	Réactif d'essai		l'agglutination sur lame

 **sifin diagnostics gmbh** | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | www.sifin.de



en

Anti-Salmonella H-Phase Pools

Test reagent for slide agglutination

INFORMATION FOR PROFESSIONAL USE



REF	H-Phase Pool	Vol.	
TR1181, TR1181-01	Anti-Salmonella HMA	a, b, c, d, i, Z ₁₀ , Z ₂₉	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 ₄ , r	1 ml, 3 ml

Intended use

The test reagents are intended for use in identifying H-antigens in the serological identification of *Salmonella* strains iso-lated from test material of varied origin, using slide agglutination.

Additional serological differentiation must be performed using the monospecific Anti-Salmonella H test reagents in accordance with the White-Kauffmann-Le-Minor scheme (Kauffmann-White scheme).

Principle of the test

If the isolated *Salmonella* strain possesses an H-antigen that is covered by the test reagent, this Salmonella antigen becomes bound when mixed with the specific antibody. The antigen-antibody reaction results in clearly visible agglutination of the strain.

Composition

The test reagents are mixtures of monoclonal antibodies. They are produced from cell culture supernatants of hybridoma cell lines which secrete antibodies against the respective *Salmonella* H-antigens.

For the coverage of the H-antigen z₂₉ the Anti-Salmonella HMA test reagent and for the coverage of the H-antigen complex Z₄ the Anti-Salmonella HMC test reagent contain additionally serum of immunized rabbits from which unspecific agglutinins have been removed by absorption.

Preservative: Sodium azide (NaN₃) 0.9 mg/ml

Form in which product is supplied, shelf life and conditions for storage

The test reagents are available in liquid form ready to use.

If stored at 2...8 °C before and after opening, they may be used up to the date given on the label. After use, the bottle must be properly closed.

The test reagent may sometimes show turbidity not caused by microbes. Such turbidity does not impair effectivity and the test reagents can be clarified by centrifugation or filtration.

The test reagents must have their temperatures adjusted to room temperature (18...26 °C) before use.

Warnings and precautions

The biotechnological manufacture of the test reagents means that the risk of contamination by infectious agents can be virtually excluded. Because they contain animal materials (fetal calf serum, stabilizer) and because of the addition of rabbit serum, they should be treated as potentially infectious and handled accordingly.

As these materials contain sodium azide, contact with the skin and mucous membranes must be avoided! In case of contact, rinse with plenty of water.

Since the performance of the slide agglutination test involves working with native pathogenic materials, all necessary work protection procedures must be adhered to (risk of infection)!

Materials and equipment not supplied

Glass slides, stirring rods, physiological saline, disposal containers for infectious material, White-Kauffmann-Le-Minor scheme.

Test material and methodology

1. Take a small amount of bacterial mass from a 16-20 hour old subculture (e.g. Kligler culture medium), picked from the lower, moister layer of the agar slope. Transfer onto a slide and mix well with a drop (ca. 25 µl) of test reagent, so that a homogenous, slightly milky suspension results. The slide should be placed on a dark surface.

The reaction is read with the naked eye by holding the slide in front of a light source against a black background and rocking it (tilting it back and forth). To control for spontaneous agglutination, a negative control must be performed at the same time using physiological saline in place of the test reagent.

2. In case the H-antigen test performed according to the method described above is not successful, the strain must be inoculated onto swarm agar, to enhance the development of the flagella antigens. For the swarm agar we recommend our ready-to-use culture medium REF sifin TN1702.

After liquefaction, place 10 ml of this swarm agar into a petri dish (6 cm diameter). Once it has solidified, sprinkle the surface of the agar with ca. 100 µl sterile distilled water and apply the strain in the form of a point in the centre of the plate. Incubate the dish overnight with the agar layer facing down at 35...37 °C. For the slide agglutination test, collect material from the edge of the dish.

Test procedure


The test, using Anti-Salmonella HMA, Anti-Salmonella HMB or Anti-Salmonella HMC test reagents, enables the serological identification of the commonest H-antigens or H-antigen complexes of *Salmonella* strains. Furthermore the presence of the antigen complex H:1 should be tested by Anti-Salmonella H:1 (REF TR1437, TR1437-01).

If the test reactions are positive, the strain must then be agglutinated with the monospecific Anti-Salmonella H test reagents for further serotyping. These products are available at sifin (see product list or www.sifin.de).

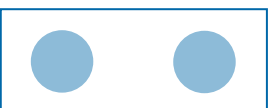
Evaluation

The test can only be evaluated if the negative control (NC) remains milky-opaque.

Positive: visible agglutination after the sample has been tilted back and forth less than 20 times. In a strongly positive reaction (PR), agglutination (coarsely or finely flocculent) appears as soon as the bacterial mass is mixed in. In a weakly positive result, agglutination only appears after the slide has been tilted back and forth 10-20 times.

PR		NC
-----------------	---	-----------------

Negative: if the suspension remains milky-opaque or the reaction begins to occur only after the slide has been tilted back and forth more than 20 times, the result is negative (NR).

NR		NC
-----------------	---	-----------------




Quality assurance during the testing procedure

For the quality control of serological determination of *Salmonella* H antigens by slide agglutination test, the good expression of the strain's cell surface antigen is important. The use of strains from interlaboratory tests, or field strains of defined origin that have been fully characterised by an external laboratory, or the use of suitable commercially available *Salmonella* test antigens is therefore recommended for quality control.

Limitations of the method

The test reagents react with *Salmonella* strains, which contain antigens with specificities, declared in the H-Phase Pools. A biochemical examination of the genus *Salmonella* exclude rare cross-reactions with strains of other genera of the family of *Enterobacteriaceae*.

Explanation of the symbols used

LOT	Batch code (Lot)		Use by YYYY-MM (MM = end of month)
REF	Catalogue number		Temperature limitation
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device	 </	

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-Salmonella Pool di fase H

Reagente di prova per agglutinazione su vetrino

INFORMAZIONI PER L'USO PROFESSIONALE



REF	Pool di fase H	Vol.	
TR1181, TR1181-01	Anti-Salmonella HMA	a, b, c, d, i, Z ₁₀ , Z ₂₉	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 ₁ , r	1 ml, 3 ml

Uso previsto

I reagenti di prova sono stati concepiti per essere utilizzati per rilevare antigeni H nell'identificazione sierologica dei ceppi di *Salmonella* isolati da materiale di prova di varia origine mediante agglutinazione su vetrino.

Ulteriori differenziazioni di tipo sierologico devono essere eseguite utilizzando i reagenti di prova monospécifici Anti-Salmonella H conformemente allo schema di White-Kauffmann-Le-Minor (schema Kauffmann-White).

Principio del test

Se il ceppo di Salmonella isolato possiede un antigene H incluso nel campo d'azione del reagente di prova, questo anti-gene di *Salmonella* si lega con l'anticorpo specifico all'atto della miscelazione. La reazione antigene-anticorpo dà luogo all'agglutinazione chiaramente visibile del ceppo.

Composizione

I reagenti di prova sono composti da miscela di anticorpi monoclonali. Essi sono prodotti da surnatanti di colture cellulari di linee cellulari di ibridomi che secerono anticorpi contro i rispettivi antigeni H di *Salmonella*.

Per la rilevazione dell'antigene H *Z*₂₉ o del complesso dell'antigene H *Z*₁, il reagente di prova Anti-Salmonella HMA o il reagente di prova Anti-Salmonella HMC contengono inoltre sieri di conigli immunizzati dai quali sono state asportate agglutinine aspecifiche mediante adsorbimento. Conservante: azoturo di sodio (NaN₃), 0,9 mg/ml

Forma di somministrazione, periodo di validità e condizioni di conservazione

I reagenti di prova sono disponibili in forma liquida e pronti all'uso. Se conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C sia prima che dopo l'apertura, essi possono essere utilizzati fino alla data indicata sull'etichetta. Dopo l'uso, il flacone deve essere opportunamente chiuso. Talvolta i reagenti di prova possono presentare una torbidità non di origine microbica. Tale torbidità non ne compromette l'efficacia e i reagenti di prova possono essere chiarificati mediante centrifugazione o filtrazione. Prima dell'uso, i reagenti di prova devono essere portati a temperatura ambiente (18-26 °C).

Avvertenze e precauzioni

Data la produzione biotecnologica dei reagenti di prova, si può virtualmente escludere il rischio di contaminazione da agenti infetti. Poiché contengono materiale di origine animale (siero fetale di vitello, stabilizzatore) e siero di coniglio aggiunto, vanno trattati come potenzialmente infetti e dunque devono essere maneggiati di conseguenza. Dato che questi materiali contengono azoturo di sodio, occorre evitare il contatto con la cute e con le membrane mucose. In caso di contatto, sciquare con abbondante acqua. Poiché l'esecuzione del test di agglutinazione su vetrino implica l'uso di materiali patogeni naturali, occorre adottare tutte le necessarie procedure di protezione durante il test (rischio d'infezione)!

Materiali e attrezzatura non in dotazione

Vetrini, bacchette per agitazione, soluzione salina fisiologica, contenitori per lo smaltimento di materiale infetto, schema di White-Kauffmann-Le-Minor.

Materiale di prova e metodologia

1. Prelevare una piccola quantità di massa batterica da una sottocoltura di 16-20 ore (ad es. mezzo di coltura in Kligler) dallo strato inferiore e più umido dell'agar inclinato. Trasferirla su vetrino e miscelarla accuratamente con una goccia (circa 25 µl) di reagente di prova, in modo tale da ottenere una sospensione omogenea e lievemente lattiginosa. Il vetrino deve essere collocato su una superficie scura.

La reazione viene letta a occhio nudo tenendo il vetrino davanti a una fonte luminosa su uno sfondo nero e facendolo oscillare (inclinandolo in avanti e all'indietro). Per verificare ed escludere eventuali agglutinzioni spontanee, è necessario eseguire in contemporanea un controllo negativo utilizzando la soluzione salina fisiologica al posto del reagente di prova.
2. Se il test dell'antigene H eseguito in base al metodo sopra descritto è infruttuoso, inoculare il ceppo in agar di sciamatura, per potenziare lo sviluppo degli antigeni flagellari. Per l'agar di sciamatura raccomandiamo il nostro mezzo di coltura pronto all'uso sifin TN1702. Dopo la liquefazione, mettere 10 ml di quest'agar di sciamatura in una piastra di Petri (diametro 6 cm). Una volta che si è solidificato, spruzzare sulla superficie dell'agar circa 100 µl di acqua distillata sterile e applicare il ceppo formando un punto al centro della piastra. Incubare la piastra per una notte a 35-37 °C con lo strato di agar rivolto verso il basso. Per il test di agglutinazione su vetrino, prelevare del materiale dal bordo della piastra.

Procedura

Il test, in cui si utilizzano reagenti di prova polispecifici Anti-Salmonella HMA, Anti-Salmonella HMB o Anti-Salmonella HMC, consente l'identificazione sierologica degli antigeni H e dei complessi di antigeni H più comuni dei ceppi di *Salmonella*. Inoltre, la presenza del complesso dell'antigene H:1 va testata mediante Anti-Salmonella H:1 (REF TR1437, TR1437-01). Se le reazioni al test sono positive, il ceppo deve poi essere agglutinato con i reagenti di prova monospécifici Anti-Salmonella H per l'ulteriore sierotipizzazione. Questi prodotti sono disponibili presso sifin (v. elenco prodotti o www.sifin.de).

Valutazione

Il test può essere valutato solo se il controllo negativo (NC) resta lattiginoso opaco.

Risultato positivo: agglutinazione visibile dopo che il campione è stato inclinato in avanti e all'indietro meno di 20 volte. In caso di reazione fortemente positiva (PR), l'agglutinazione (di aspetto fiocoso grossolano o fine) compare appena viene inserita e miscelata la massa batterica. In caso di risultato debolmente positivo, l'agglutinazione appare solo dopo che il vetrino è stato inclinato in avanti e all'indietro da 10 a 20 volte.

 PR	 	 NC
-------------------------------	---	-------------------------------

Risultato negativo: se la sospensione resta lattiginosa opaca o la reazione inizia solo dopo che il vetrino è stato inclinato in avanti e all'indietro per più di 20 volte, il risultato è negativo (NR).

 NR	 	 NC
-------------------------------	---	-------------------------------

Garanzia di qualità nell'esecuzione delle prove

Ai fini del controllo della qualità della prova sierologica dell'antigene H per i ceppi della *Salmonella* mediante agglutinazione su vetrino, è importante che i ceppi utilizzati esprimano bene i propri antigeni sulla superficie cellulare. Pertanto si consiglia di utilizzare per il controllo di qualità ceppi provenienti da Round Robin Test (prove interlaboratorio) oppure ceppi di campo completamente caratterizzati esternamente di origine definita oppure adeguati antigeni di test della *Salmonella* disponibili in commercio.

Limitazioni del metodo

I reagenti di prova reagiscono con i ceppi di *Salmonella* che contengono antigeni con le specificità dichiarate nei pool di fase H. Un esame biochimico del genere *Salmonella* esclude rare reazioni crociate con ceppi di altri generi della famiglia *Enterobacteriaceae*.

Spiegazione dei simboli utilizzati

 LOT	Codice del lotto		Utilizzare entro il AAAA-MM (MM = fine del mese)
 REF	Numero catalogo		Limite di temperatura
 IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro		Rispettare le istruzioni per l'uso
 TR	Reagente di prova	 	Agglutinazione su vetrino

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | www.sifin.de

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-salmonella tesztreagensek H-fázis poolok

Tesztreagens tárgyilemez-agglutinációhoz

PROFESSZIONÁLIS ALKALMAZÁSI TÁJÉKOZTATÓ



REF	H-fázis pool	Térf.	
TR1181, TR1181-01	Anti-Salmonella HMA	a, b, c, d, i, Z ₁₀ , Z ₂₉	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 ₁ , r	1 ml, 3 ml

Felhasználás

A tesztreagensek a H antigének azonosítására szolgálnak a különböző eredetű vizsgálati mintákból izolált *Salmonella* törzsek tárgyilemez-agglutinációs módszerrel történő szerológiai azonosítása során.

További szerológiai differenciálást kell végezni a monospécifikus Anti-salmonella H tesztreagensek használatával a White-Kauffmann-Le-Minor séma (Kauffmann-White séma) szerint.

A próba elve

Ha az izolált *Salmonella* törzs rendelkezik a tesztreagensnek megfelelő H antigénnel, akkor ez a *Salmonella* antigén a specifikus antitesttel keverve megkötődik. Az antigén-antitest reakció eredménye a törzs jól látható agglutinációja.

Összetétel

A tesztreagensek monoklonális antitestek keverékei. A megfelelő *Salmonella* H antigénekkel szemben antitesteket kiválasztó hibridóma sejtvonal tenyészetek szupernatásából állítják elő.

A *Z*₂₉ H-antigén vagy a *Z*₁ H-antigén komplex lefedésére az Anti-salmonella HMA tesztreagens, ill. az Anti-Salmonella HMC tesztreagens emellett olyan immunizált nyúlserumot is tartalmaz, amelyekből a nem specifikus agglutinineket abszorpcióval eltávolították.

Tartósítószer: nátrium-azid (NaN₃), 0,9 mg/ml.

Kiszerelési forma, eltarthatóság és tárolási feltételek

A tesztreagensek folyékony, használatra kész formában kaphatók.

Felbontatlanul és felbontás után 2-8 °C-on tárolva a címken megadott dátumig használhatók fel. Használat után a palackot megfelelően le kell zárni.

A tesztreagensekben esetenként nem mikrobiális eredetű zavarosság mutathozhat. Ez a zavarosság nem rontja a tesztreagensek hatékonyságát, és centrifugálással vagy szűréssel megszüntethető.

Használat előtt meg kell várni, amíg a tesztreagensek szobahőmérsékletre (18 ... 26 °C) melegsznek fel.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

A tesztreagensek biotechnológiai gyártási eljárásának köszönhetően a fertőző ágensekkel történő szennyeződés kockázata gyakorlatilag kizárható. Mivel a készítmények állati eredetű anyagot (magzati borjuszérumot, stabilizátort) és hozzáadott nyúlserumot tartalmaznak, potenciálisan fertőző anyagnak tekintendők, és ennek megfelelően kezelendők. Tekintve, hogy a készítmények nátrium-azidot tartalmaznak, a bőrel és nyálkahártyával való érintkezést kerülni kell. Ha mégis a bőre vagy nyálkahártyára kerülnek, bő vízzel kell lemosni. Mivel a tárgyilemez-agglutinációs próba élő kórokozóval végzett tevékenység is tartalmaz, minden szükséges munkavédelmi eljárást be kell tartani (fertőzésveszély)!

Nem szállított anyagok és eszközök

Üveg tárgyilemez, keverőpálca, fiziológiás sóoldat, fertőző anyag kezelésére szolgáló tárolóedény, White-Kauffmann-Le-Minor séma.

Vizsgálati anyagok és módszerek

1. Vegyünk ki kis mennyiségű baktériumtömeget 16-20 órás szubkulturából (pl. Kligler táptalaj), a ferde agar alsó, nedvesebb rétegből. Vigyük át tárgyilemezre és jól keverjük össze egy csepp tesztreagenssel (kb. 25 µl) úgy, hogy homogén, kissé tejszerű szuszpenziót kapjunk. A lemezt sötét felületre kell helyezni.

Az eredmény leolvasása szabad szemmel történik úgy, hogy a tárgyilemezt fekete háttérben fény felé tartjuk, és előre-hátra döntve mozgatjuk. A spontán agglutináció kizárására egyidejűleg negatív kontroll vizsgálatot is kell végezni a tesztreagens helyett fiziológiás sóoldattal.

2. Amennyiben a fentiekben leírt módszerrel elvégzett H-antigén vizsgálat nem sikeres, a törzset rajzást támogató (swarm) agarra kell oltani a csilló antigének fejlődésének elősegítése érdekében. A rajzást támogató (swarm) agarhoz a sifin készítáptalaját ajánljuk, REF TN1702. Felolvasztás után helyezzünk 10 ml-t ebből a swarm agarból egy petricsészébe (6 cm átmérőjű). Ha az agar megszilárdul, permetezzük be a felületét kb. 100 µl steril desztillált vízzel, és vigyük fel a törzset pont formájában a lemez közepére. Az agarréteget lefelé fordítva, egy éjszakán át 35-37 °C-on inkubáljuk a petricsészt. A tárgyilemez-agglutinációs próbához a csésze szélelőlr gyűjtsünk anyagot.

Vizsgálati eljárás

A polispecifikus Anti-salmonella HMA, Anti-Salmonella HMB vagy Anti-Salmonella HMC tesztreagensek alkalmazásával végzett vizsgálat lehetővé teszi a *Salmonella* törzsek leggyakoribb H-antigénjeinek vagy H-antigén komplexeinek szerológiai azonosítását. Emellett a H:1 antigén komplex jelenlétét az Anti-Salmonella H:1 (REF TR1437, TR1437-01) reagenssel kell vizsgálni.

Ha a próba pozitív, a törzset ezután monospécifikus Anti-Salmonella H tesztreagenssekkel kell agglutinálni a további szero-tipizáláshoz. Ezek a készítmények a sifin vállalattól beszerezhetők (lásd a terméklistát vagy a www.sifin.de honlapot).

Kiértékelés

A próba csak akkor értékelhető, ha a negatív kontroll (NC) tejszerűen áttetsző marad.

Pozitív: szemmel látható agglutináció, ha a mintát kevesebb, mint 20 alkalommal előre-hátra billentjük. Kifejezett pozitív reakció (PR) esetén az agglutináció (durva vagy finom pelyhesedés) azonnal megjelenik, amikor a baktériumtömeget bekeverjük. Gyenge pozitív reakció esetén az agglutináció csak akkor jelentkezik, ha a tárgyilemezt 10-20-szor előre-hátra billentjük.

 PR	 	 NC
-------------------------------	---	-------------------------------

Negatív: ha a szuszpenzió tejszerűen áttetsző marad, vagy a reakció csak azután kezd fellépni, ha már több mint 20 alkalommal előre-hátra billentettük a tárgyilemezt, az eredmény negatív (NR).

 NR	 	 NC
-------------------------------	---	-------------------------------

Minősegbiztosítas a teszt elvezesekor

A *Salmonella* törzsek H-antigenjei szerológiai kimutatásnak tárgyilemez agglutinacio utjan torteno minősegellenőrzeshez fontos, hogy az ehhez alkalmazott törzsek antigenjei a sejtfelületen jól expresszálodjanak. Ezert ajánlatos korvizsgálatokból szarmazo törzseket vagy extern teljesnek jellemzett, meghatározott eredetű környezeti törzseke, vagy megfelelő, kereskedelmileg kapható *Salmonella*-tesztantigéneket alkalmazni a minősegellenőrzeshez.

A módszer korlátai

A tesztreagensek olyan *Salmonella* törzsekkel lépnek reakcióba, amelyek a H-fázis poolban megnevezett specificitáú antigéneket tartalmazzzák. A *Salmonella* genus biokémiai vizsgálata zárhatja ki az *Enterobacteriaceae* család más genusaival fellépő ritka keresztreakciókat.

Az alkalmazott jelek magyarázata

 LOT	Sarzszzám		Felhasználható -ig éééé-hh (hh = hónap vége)
 REF	Rendelési szám		Hőmérséklettartomány
 IVD	In vitro diagnosztikum		Tartsa be a Használati utasítást
 TR	Tesztreagensek	 	Tárgylemez-agglutinációhoz

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | www.sifin.de

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 700 144-0 | F: +49 30 700 144-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-Salmonella для пулов антигенов H-фазы

Тест-реагент для реакции агглютинации на предметном стекле

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ



REF	Пул антигенов H-фазы	Объем	
TR1181, TR1181-01	Anti-Salmonella HMA	a, b, c, d, i, Z ₁₀ , Z ₂₉	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 ₁ , r	1 ml, 3 ml

Назначение: Тест-реагенты предназначены для серологической идентификации H-антигенов штаммов *Salmonella*, изолированных из исследуемого материала различного происхождения, методом агглютинации на предметном стекле. Дополнительно требуется выполнять серологическую дифференциацию с использованием моноспецифических тест-реагентов Anti-Salmonella H в соответствии со схемой Кауфмана-Уайта-Ле-Минора (схемой Кауфмана-Уайта).

Принципы исследования: При наличии у изолированного штамма *Salmonella* H-антигена, способного вступать в реакцию с тест-реагентом, происходит связывание этого антигена со специфическим антителом при их смешивании. В результате реакции антиген-антитело наблюдается четко видимая агглютинация микроорганизмов.

Состав: Тест-реагенты представляют собой смеси моноклональных антител. Они получены из супернатантов культур гибридных клеточных линий, секретирующих антитела против соответствующих H-антигенов *Salmonella*. Для включения антител к H-антигену *Z*₂₉ или комплексу *Z*₁ H-антигена, тест-реагент Anti-Salmonella HMA или тест-реагент Anti-Salmonella HMC соответственно дополнительно содержит сывортку иммунизированных кроликов, очищенную от неспецифических агглютининов путем абсорбции. Консервант: натрия азид (NaN₃), 0,9 мг/мл

Форма выпуска, срок годности и условия хранения: Тест-реагенты выпускаются в жидкой форме и готовы к применению. При хранении при температуре 2...8 °С до и после вскрытия их можно использовать до даты, указанной на этикетке. После применения следует надлежащим образом закрывать флакон. Иногда в тест-реагентах можно обнаружить помутнение, не связанное с микробным загрязнением. Помутнение не влияет на эффективность, и для отделения от примесей реагенты можно центрифугировать или отфильтровать. Перед использованием необходимо дождаться, чтобы тест-реагенты приняли комнатную температуру (18...26 °С).

Предупреждения и меры предосторожности: Производство тест-реагентов при помощи биотехнологий фактически исключает риск контаминации возбудителями инфекционных заболеваний. В связи с содержанием материалов животного происхождения (сывортка эмбрионов коров, стабилизатор) и добавлением сывортки кроликов, с ними следует обращаться надлежащим образом как с потенциально инфекционным материалом. В связи с содержанием азида натрия следует избегать контакта этих реагентов с кожей и слизистыми оболочками! В случае контакта промойте пораженные области большим количеством воды. Так как проведение реакции агглютинации на предметном стекле сопряжено с использованием нативного патогенного материала, следует соблюдать все необходимые правила техники безопасности на рабочем месте (риск инфицирования)!

Материалы и оборудование, не входящие в комплект поставки: Предметные стекла, палочки для перемешивания, физиологический раствор, контейнеры для сбора отходов для инфекционного материала, схема Кауфмана-Уайта-Ле-Минора.

Исследуемый материал и методика

1. Отберите небольшое количество бактериальной массы из 16—20-часовой субкультуры (рост на питательной среде Клигlera или др.) из нижней, наиболее влажной части скошенного агара. Перенесите ее на предметное стекло и тщательно перемешайте с каплей (около 25 мкл) тест-реагента до образования гомогенной, слегка «молочной» суспензии. Предметное стекло должно находиться на темной поверхности. Результат оценивается невооруженным глазом, путем удерживания предметного стекла перед источником света на черном фоне и покачивания предметного стекла (вперед-назад). Для исключения спонтанной агглютинации необходимо одновременно поставить отрицательный контроль, используя физиологический раствор вместо тест-реагента.
2. Если не удалось обнаружить H-антиген описанным выше методом, штамм необходимо пересять на агар роения, чтобы стимулировать образование жугитиковых антигенов. В качестве агара роения мы рекомендуем использовать готовую к применению питательную среду sifin TN1702. Залейте чашку Петри (диаметром 6 см) агаром роения в количестве 10 мл после его расплавления. После застывания агара оросите его поверхность примерно 100 мкл стерильной дистиллированной воды и в центр чашки засейте штамм в виде «точки». Инкубируйте чашку Петри в перевернутом состоянии в течение ночи при температуре 35...37 °С. Для проведения реакции агглютинации на предметном стекле материал собирается с краев чашки Петри.

Процедура исследования: Исследование с использованием полиспецифических тест-реагентов Anti-Salmonella HMA, Anti-Salmonella HMB или Anti-Salmonella HMC позволяет выполнить серологическую идентификацию наиболее распространенных H-антигенов или комплексов H-антигена штаммов *Salmonella*. Далее требуется выполнить проверку на присутствие антигенов комплекса H:1 при помощи Anti-Salmonella H:1 (REF TR1437, TR1437-01). Если реакция будет положительной, затем необходимо поставить реакцию агглютинации для данного штамма с моноспецифическими тест-реагентами Anti-Salmonella H для дальнейшего серотипирования. Перечисленные выше реагенты предлагаются компанией sifin (см. прейскурант или веб-сайт www.sifin.de).

Оценка результатов: Оценка результатов исследования допускается, только если отрицательный контроль (OK) остается молочно-мутным.

Положительная реакция: видимая агглютинация после покачивания пробы вперед-назад менее 20 раз. В случае выраженной положительной реакции (ПР) агглютинация (крупные или мелкие хлопья) происходит сразу же после перемешивания с бактериальной массой. Если результат слабоположительный, агглютинация происходит только после покачивания предметного стекла вперед-назад 10—20 раз.

 ПР	 	 ОК
-------------------------------	---	-------------------------------

Отрицательная реакция: если суспензия остается молочно-мутной, или если реакция начинается только после покачивания предметного стекла вперед-назад более 20 раз, результат является отрицательным (OP).

 OP	 	 ОК
-------------------------------	---	-------------------------------

Обеспечение качества при выполнении теста

Для контроля качества серологической идентификации H-антигенов штаммов сальмонеллы путем агглютинации на предметном стекле важно, чтобы используемые для этого штаммы хорошо экспрессировали свои антигены на поверхности клетки. Поэтому для контроля качества рекомендуется использовать штаммы из межлабораторных испытаний или полностью охарактеризованные в независимой лаборатории полевые штаммы уточненного генеза или имеющиеся в продаже подходящие тест-антигены сальмонеллы.

Ограничения метода: Тест-реагенты дают реакцию со штаммами *Salmonella*, содержащими заявленные антигены для наборов к антигенам H-фазы. Биохимическое исследование на характеристики рода *Salmonella* позволит исключить редкую перекрестную реактивность со штаммами бактерий других родов семейства *Enterobacteriaceae*.

Разьяснение используемых символов

 LOT	Код партии (серии)		Использовать до ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)
 REF	Номер по каталогу		Верхний температурный предел
 IVD	Медицинское устройство для диагностики in vitro		См. инструкцию по применению
 TR	Тест-реагент	 	агглютинация на предметном стекле

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | www.sifin.de