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 H

Testreagens for slideagglutinasjon og faseinversjon (phase reversal, PR)

INFORMASJON FOR FAGPERSONELL

CE IVD

no

Tilsiktet bruk
Anti-Salmonella H testseraene brukes til å påvise eller fastslå *salmonella*stammers H-antigener i henhold til White-Kauffmann-Le-Minor (Kaufmann-White-systemet) ved hjelp av slideagglutinasjon. Med disse bestemmes serovartypen. Testseraene som er avkrysset i tabellen nedenfor kan også brukes på tofasestammer for å indusere den ikke-påviste H-fasen (faseinversjon av bakteriekultur på sværmagarplate (swarm agar)/Sven Gard-metoden).

Testprinsipp
Dersom *salmonella*stammen besitter et H-antigen som testserumet dekker, så vil dette antigenet bli bundet når det blandes med det spesifikke antistoffet. Antigen-antistoff-reaksjonen resulterer i klart synlig agglutinasjon for denne stammen.

Sammensetning
Testreagensene er monoklonale antistoffer, testsera eller en blanding av monoklonale antistoffer og testserum. Monoklonale antistoffer lages fra supernatant av en cellekultur av hybridoma-cellelinjer som utskiller antistoff mot de respektive *salmonella* H-antigenene. Testseraene er immuniserte kaninsera der uspesifikke agglutininer har blitt fjernet ved absorpsjon. Konserveringsmiddel: natriumazid (NaN_3) 0,9 mg/ml

Tilgjengelige Anti-Salmonella varelinjer

Type	Antigen som påvises	faseinversjon (PR)
H:a	H:a	x
H:b	H:b	x
H:c	H:c	x
H:d	H:d	x
H:E	H:e,h; e,n,x; e,n,z15; e,n,x,z15	x
H:f	H:f,g; f,g,s; f,g,t	
H:g	alle antigenkombinasjonene av H:G kompleks, unntatt H:m,t	x
H:g,m	alle antigenkombinasjonene av H:G kompleks, inklusivt H:m,t	
H:h	H:e,h	
H:i	H:i	x
H:k	H:k	x
H:L	H:ℓ,v; ℓ,w; ℓ,z13; ℓ,z28; ℓ,z13,z28	x
H:m	H:g,m; g,m,s; g,m,s,t; g,m,q; g,m,p,s; g,m,t; m,p,t,u; m,t	
H:n	H:e,n,x; e,n,z15; e,n,x,z15	x
H:p	H:g,m,p,s; g,p; g,p,s; g,p,u; m,p,t,u	
H:q	H:g,q; g,m,q	
H:r	H:r	x
H:s	H:f,g,s; g,m,s; g,m,s,t; g,p,s; g,s,t	
H:t	H:m,t; f,g,t; g,m,t; g,m,s,t; g,t; g,s,t; m,p,t,u	
H:u	H:g,p,u; m,p,t,u	
H:v	H:l,v	
H:w	H:l,w	
H:x	H:e,n,x; e,n,x,z15	
H:y	H:y	x
H:z [1)]	H:z (I, II, III)	x
H:z4,z23	H:z4,z23; z4,z24; z4,z32; z4,z23,z32	
H:z6	H:z6	
H:z10	H:z10	x
H:z15	H:e,n,z15; e,n,x,z15	
H:z23	H:z4,z23; z4,z23,z32	
H:z24	H:z4,z24	
H:z28	H:ℓ,z28; ℓ,z13,z28	
H:z29	H:z29	
H:z32	H:z4,z32	
H:z35	H:z35	x
H:z38	H:z38	x
H:z41	H:z41	x
H:1	H:1,2; 1,5; 1,6; 1,7; 1,2,7; 1,5,7	x
H:2	H:1,2	
H:5	H:1,5	
H:6	H:1,6	
H:7	H:1,7	

[1)] påviser H:z i underartene I, II og III

Produktets form ved levering, holdbarhet og lagringsbetingelser
Testreagenser som stadig vekk benyttes ved mikrobiologiske laboratorier, er tilgjengelig i flytende form og bruksklare. Testreagenser som benyttes mer sjelden er lyofilisert (frysetørret).
Flytende testreagenser er opprinnelig forseglet og kan brukes frem til den datoen som er angitt på etiketten dersom de lagres ved 2...8 °C både før og etter at de er blitt åpnet. Flaskene må lukkes skikkelig etter bruk.
Lyofilisert (frysetørret) testreagens må løses i 1 ml eller 5 ml destillert vann før bruk – se anvisning. Flasken lukkes skikkelig med medfølgende dråpetellerkork. Ved oppbevaring ved 2...8 °C kan de brukes i minst 18 måneder, men de må imidlertid ikke brukes etter utløpsdatoen som er angitt på etiketten.
Testseraene kan noen ganger være blakket selv i fravær av mikrober. Slik turbiditet har ingen innflytelse på testegenskapene; turbiditeten kan fjernes ved sentrifugering eller filtrering. Før bruk må testreagensene oppnå romtemperatur (18...26 °C).

Advarsler og forholdsregler
Den bioteknologiske fremstillingen av testreagens innebærer at risikoen for kontaminasjon av infeksiøse agens kan så godt som utelukkes. Men fordi de inneholder animalsk materiale (føtalt kalveserum, stabilisator) bør de behandles som potensielt infeksiøse og håndteres deretter. Testreagenser som inneholder biologisk materiale i form av kaninserum må derfor anses som potensielt infeksiøst og behandles deretter. Da disse materialene inneholder natriumazid, må kontakt med hud og slimhinner unngås. I tilfelle kontakt må det skylles med rikelig bruk av vann. Siden slideagglutinasjon innebærer arbeid med naturlig forekommende patogene materialer, må alle nødvendige beskyttelsesprosedyrer følges (infeksjonsrisiko)!

Materialer og utstyr som ikke medfølger
Objektglass, rørepinner, fysiologisk saltvann (9 g/l NaCl), avfallsbeholder for infeksiøst materiale, White-Kauffmann-Le-Minor-skjema, sterile petriskåler (diameter: 6 cm), sværmagar, mikrobølgeovn eller vannbad, termometer.

Testmateriell og metode
1. Identifisering av antigen
1.1 Ta en liten mengde bakteriemasse fra en 16-20 timer gammel subkultur (for eksempel fra næringsagar eller Kligler dyrkningsmedium), plukket fra det nedre, fuktigere området av agarskråflaten. Overfør dette til et objektglass og bland godt med en dråpe (ca. 25 µl) Anti-Salmonella H testreagens, slik at man får en homogen og svakt melkeaktig suspensjon. Objektglasset bør plasseres mot en mørk bakgrunn. Resultatet avleses visuelt ved å holde objektglasset foran en lyskilde mot en svart bakgrunn, mens det vippes frem og tilbake. For å kontrollere for spontan agglutinasjon, må en negativ kontroll settes opp parallelt. Til dette benyttes fysiologisk saltvann istedenfor testreagenset.
1.2 Gelingt Dersom H-antigen-testen, utført slik det er beskrevet ovenfor, ikke er vellykket, må stammen inokuleres på sværmagar for å fremme utvikling av flagellantigener. Som sværmagar anbefaler vi vårt bruksklare dyrkningsmedium sifin REF TN 1702. Sværmagaren gjøres flytende og 10 ml helles i en petriskål (6 cm diameter). Når den har størknet, vætes overflaten med ca. 100 µl sterilt, destillert vann, og stammen punktavsettes midt på skålen. Inkuber skålen ved 35...37 °C over natt med agaren vendt ned. Når slideagglutinasjonen utføres, benyttes materiale fra skålens randsone.
2. Faseinversjon
Dersom stammen har to faser, men man bare er i stand til å identifisere den ene H-fasen, må man benytte faseinversjon (Sven Gard-metoden) for å indusere den andre fasen.
2.1. Bland 0,1-0,2 ml Anti-Salmonella H testreagens med 10 ml flytende sværmagar (kjølt ned til 40...45 °C) i en petriskål med diameter på 6 cm. Etter at agaren har størknet, vætes overflaten med destillert vann (som beskrevet i pkt. 1.2.). Inokuler med salmonellastammen, inkuber den og utfør slideagglutinasjon. Dersom faseinversjonen mislykkes, må prosedyren gjentas
2.2. Alternativt til denne klassiske prosedyren, anbefaler vi følgende forenklede prosedyre: Tilsett 0,1 ml Anti-Salmonella H testreagens dråpevis til en skål (diameter: 6 cm) med 10 ml sværmagar, og spre så med en steril øse. Deretter inokulerer man på midten av skålen og inkuberer som beskrevet ovenfor. Etter 16-20 timer kan den svermende stammen benyttes til å identifisere den andre H-fasen. Denne forenklede prosedyren gjør det vanligvis mulig å identifisere den andre fasen ved første forsøk.

Tolking
Testresultatene kan kun vurderes dersom den negative kontrollen forblir melkeaktig/ugjennomsiktig
Positiv: Synlig agglutinasjon etter at prøven har blitt vippet frem og tilbake mindre enn 20 ganger. Sterke positive reaksjoner viser agglutinasjon (grovt eller finere flokkulert) så snart bakteriemassen tilsettes. Svake positive resultater viser agglutinasjon først etter at sliden har vært vippet frem og tilbake 10-20 ganger.
Negativ: Resultatet er negativt dersom suspensjonen forblir melkeaktig/ugjennomsiktig, eller dersom reaksjonen ikke opptrer før sliden har vært vippet frem og tilbake mer enn 20 ganger.

Kvalitetssikring ved gjennomføring av testen
For kvalitetskontroll av den serologiske typifiseringen ved hjelp av slideagglutinasjon (agglutinasjon på objektglass), er det viktig at stammene som brukes for dette uttrykker sitt antigen godt på cellens overflate. Til kvalitetskontroll anbefales det derfor å bruke stammer fra koordinerte forsøk, eksterne fullstendig karakteriserte feltstammer av definert opprinnelse, eller egnede *salmonella* O, H-testantigener, som kan fås som handelsvare.

Metodens begrensninger
Testreagensene reagerer kun med *salmonella*stammer som inneholder antigenspesifisitetene som nevnes i dette pakningsvedlegget.
Kryssreaksjoner med stammer tilhørende andre slekter innen familien *Enterobacteriaceae* har ikke vært påvist. Identifikasjon av H-antigen oppnås ved serologisk identifisering av O-antigen og biokjemiske henvisning til *salmonella*slekten.

Symbolforklaringer

LOT	LOT-nummer		Bruk før YYYY-MM (MM = slutten av måneden)
REF	Artikkelnummer		Temperaturgrenser
IVD	Medisinsk In vitro diagnostisk produkt		Se brukerveiledning
TR	Testreagens		Agglutinasjon på objektglass
mTR	Monoklonalt testreagens	LYO	Lyofilisert
PI	Faseinversjon (phase reversal)		

Revisjonsdato: 10/09/2019