sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 927 030-0 | F: +49 30 927 030-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2

Monoklonales Testreagenz für die Objektträgeragglutination

INFORMATION ZUM GEBRAUCH DURCH FACHPERSONAL

CE IVD

de

	REF	Vol.
Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2	TR 1141	1 ml
	TR 1145	5 ml

Zweckbestimmung
Das Testreagenz dient dem serologischen Nachweis der H-Antigene von *Salmonella*-Stämmen aus Untersuchungsmaterial humaner und anderer Herkunft mit Hilfe der Objektträgeragglutination.

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

Zusammensetzung
Das Testreagenz Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2 ist eine Mischung von monoklonalen Antikörpern. Er wird aus Zellkulturüberständen von Hybridomzelllinien hergestellt, die Antikörper gegen die entsprechenden H-Antigene sezernieren.
Das Testreagenz Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2 enthält Antikörper zur Erfassung folgender H-Antigene bzw. H-Antigen-Komplexe: a, b, c, d, E, G, i, k, L, r, y, z, Z_4, Z_6, Z_{10}, Z_{29}, Z_{35}, Z_{38}, Z_{41} und H:1. Antikörper, die Komplexantigene erfassen, wie z.B. Anti-H:E, H:G, H:L oder H:1, detektieren alle Kombinationen der Antigene H:e, H:g (einschließlich H:m,t), H:ℓ, bzw. H:1.
Konservierungsmittel: Natriumazid (NaN_3) 0,9 mg/ml

Darreichungsform, Haltbarkeit und Lagerungsbedingungen
Das Testreagenz Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2 liegt in flüssiger, gebrauchsfertiger Form vor.
Es ist original verschlossen und nach erstmaligem Öffnen bei Lagerung bei 2...8 °C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Datum verwendbar. Nach Benutzung ist das Fläschchen wieder gut zu verschließen.
In seltenen Fällen kann während der Lagerung eine leichte, nicht mikrobiell verursachte Trübung auftreten. Diese beeinträchtigt die Wirksamkeit nicht und kann 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 des Testreagenzes ist das Risiko einer Kontamination durch infektiöse Krankheitserreger nahezu ausgeschlossen. Wegen des Gehalts an tierischen Materialien (fötales Kälberserum, Stabilisator) sollte er 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)!

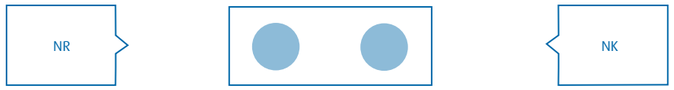
Nicht mitgelieferte Arbeitsmaterialien und Ausrüstungen
Schwarze Arbeitsplatte, geeignete Lichtquelle, Glasobjektträger, Rührstäbchen, physiologische Kochsalzlösung (9,0 g/l), steriles Aqua dest., Schwärmagar, sterile Petrischalen (6 cm Durchmesser), Abwurfbehälter für infektiöses Material, White-Kauffmann-Le-Minor-Schema (Kauffmann-White-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 Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2 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 sifin REF TN 1702.
10 ml dieses Schwärmagars werden nach Verflüssigung in eine Petrischale (6 cm Durchmesser) gegeben. Nach dem 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.

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 (grob- 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).



Bei positiver Reaktion muss die biochemische Bestätigung des Genus *Salmonella* vorliegen. Danach kann die weitere serologische Differenzierung des Stammes mit den poly-, gruppen- und monospezifischen Testreagenzien Anti-Salmonella entsprechend dem White-Kauffmann-Le-Minor-Schema durchgeführt werden.
Der einzige unbegeißelte *Salmonella*-Serovar des White-Kauffmann-Le-Minor-Schemas (*S*. Gallinarum) kann mit den Testreagenzien Anti-Salmonella H nicht nachgewiesen werden.

Qualitätssicherung 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
Das Testreagenz reagiert mit *Salmonella*-Stämmen, die H-Antigene der deklarierten Spezifitäten enthalten.
Kreuzreaktionen mit Stämmen anderer Genera der *Enterobacteriaceae* konnten nicht nachgewiesen werden.
Positive serologische Ergebnisse mit dem Testreagenz Anti-Salmonella Poly-H allein stellen keinen Beweis für das Vorliegen einer Salmonelle dar. Deshalb ist biochemisch die Zuordnung zum Genus *Salmonella* erforderlich.
Ein negatives Ergebnis schließt das Vorliegen einer Salmonelle nicht mit absoluter Sicherheit aus.

Erklärung der benutzten Symbole

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

Datum der Fassung: 10/10/2018

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 927 030-0 | F: +49 30 927 030-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2

Réactif d'essai pour l'agglutination sur lame

INFORMATION À L'USAGE DES PROFESSIONNELS

CE IVD

fr

	REF	Vol.
Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2	TR 1141	1 ml
	TR 1145	5 ml

Usage prévu
Le réactif d'essai sert à la détection sérologique des antigènes H de souches de *Salmonella* issues d'un matériau d'essai d'origine humaine ou autre, au moyen de l'agglutination sur lame.

Principe de l'essai
Si la souche isolée possède un antigène H *Salmonella* 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
Le réactif d'essai Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2 est un mélange d'anticorps monoclonaux. Il est préparé à partir de surnageants de culture cellulaire de lignées cellulaires d'hybridomes qui secrètent des anticorps contre les antigènes H correspondants.
Le réactif d'essai Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2 contient des anticorps pour la détection des antigènes H suivants ou des complexes d'antigène H: a, b, c, d, E, G, i, k, L, r, y, z, Z_4, Z_6, Z_{10}, Z_{29}, Z_{35}, Z_{38}, Z_{41} et H:1. Les anticorps qui détectent des antigènes du complexe comme les Anti-H:E, H:G, H:L ou H:1 détectent toutes les combinaisons des antigènes H:e, H:g (y compris H:m,t), H:ℓ et H:1.
Conservateur : azoture de sodium (NaN_3) 0,9 mg/ml

Présentation, conservation et conditions de stockage
Le réactif d'essai Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2 se trouve sous forme liquide, prête à l'emploi. S'il est conservé dans son emballage d'origine et une fois ouvert, conservé à une température de 2...8 °C, il peut être utilisé jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette. Après utilisation, le flacon doit être bien refermé. Dans de rares cas, une légère turbidité d'origine non microbienne peut apparaître durant le stockage. Celle-ci n'affecte pas l'efficacité et peut être éliminée 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 du réactif 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), il devrait être manipulé comme un produit 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)!

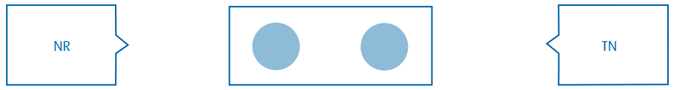
Matériaux de travail et équipements non fournis
Paillasse noire, source de lumière appropriée, lame de verre, agitateur, solution physiologique de sel de cuisine (9,0 g/l), eau distillée stérile, gélose d'essaimage, boîtes de Petri (6 cm de diamètre), collecteur de déchets pour les matériaux infectieux, schéma de White-Kauffmann-Le Minor (schéma de Kauffmann-White).

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 Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2 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 ensemencée 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 sifin REF TN 1702.
On verse 10 ml de cette gélose d'essaimage après liquéfaction 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 matériau est enlevé du bord de la plaque pour l'agglutination sur lame.

Evaluation du résultat
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) dès 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 (RN).



En cas de réaction positive, il faut disposer de la confirmation par analyse biochimique du genre *Salmonella*. Ensuite, on peut effectuer la différenciation sérologique suivante de la souche avec les réactifs d'essai Anti-Salmonella polyspécifiques, monospécifiques et spécifiques du groupe, conformément au schéma de White-Kauffmann-Le Minor. Le seul sérovar *Salmonella* non flagellé du schéma de White-Kauffmann-Le Minor (*S*. Gallinarum) ne peut pas être détecté avec les réactifs d'essai Anti-Salmonella H.

Assurance qualité lors de la réalisation du test
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
Le réactif d'essai réagit avec des souches de *Salmonella* qui contiennent des antigènes H des spécificités déclarées.
Des réactions croisées avec des souches d'autres genres d'*Enterobacteriaceae* n'ont pu être détectées.
Des résultats sérologiques positifs avec le réactif d'essai Anti-Salmonella Poly-H ne suffisent pas pour prouver la présence d'une salmonelle. Par conséquent, le classement dans le genre *Salmonella* a lieu au moyen d'une analyse biochimique.
Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'une salmonelle avec une certitude absolue.

Explication des symboles utilisés

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

Date de la présente version: 10/10/2018

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 30 927 030-0 | F: +49 30 927 030-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2

Monoclonal test reagent for slide agglutination

INFORMATION FOR PROFESSIONAL USE

CE IVD

en

	REF	Vol.
Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2	TR 1141	1 ml
	TR 1145	5 ml

Intended use
The test reagent is intended for use in the serological identification of the H-antigens of *Salmonella* strains isolated from test material of varied origin, using slide agglutination.

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

Composition
The Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2 test reagent is a mixture of monoclonal antibodies. It is produced from cell culture supernatants of hybridoma cell lines which secrete antibodies against the respective group specific H-antigens.
The Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2 test reagent contains antibodies for the detection of the following H-antigens or H-antigen complexes: a, b, c, d, E, G, i, k, L, r, y, z, Z_4, Z_6, Z_{10}, Z_{29}, Z_{35}, Z_{38}, Z_{41} and H:1. Antibodies which detect complex antigens, e.g. Anti-H:E, H:G, H:L or H:1, detect all combinations of the antigens H:e, H:g (including H:m,t), H:ℓ, or H:1 respectively.
Preservative: Sodium azide (NaN_3) 0.9 mg/ml

Form in which product is supplied, shelf life and conditions for storage
The Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2 test reagent is available in liquid form ready to use.
If stored at 2...8 °C before and after opening, it may be used up to the date given on the label. The reagent is ready to use. After use, the bottle must be properly closed.
In a few rare cases, slight turbidity not caused by microbes may occur during storage. 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 reagent means that the risk of contamination by infectious agents can be virtually excluded. Because it contains animal materials (fetal calf serum, stabilizer), it should be treated as potentially infectious and handled accordingly.
The test serum is a biological material which should be treated as potentially infectious and handled accordingly.
As this material contains 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)!

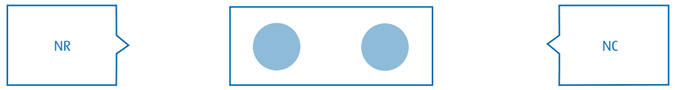
Materials and equipment not supplied
Black worktop, suitable light source, glass slides, stirring rods, physiological saline (NaCl 9 g/l), sterile distilled water, swarm agar, sterile petri dishes (6 cm diameter), disposal containers for infectious material, White-Kauffmann-Le-Minor scheme (Kauffmann-White scheme).

Test material and methodology
1. Take a small amount of bacterial mass from a 16-20 hour old sub-culture (e.g. Kligler culture medium), picked from the lower, moister layer of the agar slope. Transfer onto a slide and mix well with one drop (ca. 25 µl) of Anti-Salmonella Poly-H Phase 1 & 2 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 sifin REF TN 1702.
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.

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.



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).



In case of a positive reaction, biochemical confirmation of the genus *Salmonella* must be obtained before further serological differentiation of the strain can be carried out using poly-specific, group-specific and monospecific Anti-Salmonella test reagents in accordance with the White-Kauffmann-Le-Minor scheme. The only non-flagellated *Salmonella* serovar in the White-Kauffmann-Le-Minor scheme (*S*. Gallinarum) cannot be detected using the Anti-Salmonella H test reagents.

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 reagent reacts solely with *Salmonella* strains which contain antigens of the specificity named in the declaration. Cross-reactions with strains of other genera of *Enterobacteriaceae* have not been found.
On its own, positive serological results obtained using Anti-Salmonella Poly-H test reagent do not constitute proof of the presence of Salmonella. For this reason, biochemical means must be used to confirm that the strain belongs to the *Salmonella* genus. A negative result does not exclude the presence of Salmonella with absolute certainty.

Explanation of the symbols used

LOT	Batch code (Lot)
REF	Catalogue number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
mTR	Monoclonal test reagent
	Use by YYYY-MM (MM = end of month)
	Temperature limitation
	Consult instructions for use
	Slide agglutination

Date of revision: 10/10/2018

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 30 927 030-0 | F: +49 30 927 030-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-Salmonella Poli H fasi 1 e 2

Reagente di prova monoclonale per agglutinazione su vetrino

INFORMAZIONI PER L'USO PROFESSIONALE

CE IVD

it

	REF	Vol.
Anti-Salmonella Poli H fasi 1 e 2	TR 1141	1 ml
	TR 1145	5 ml

Uso previsto
Il reagente di prova è stato concepito per essere utilizzato nell'identificazione sierologica degli antigeni H di ceppi di *Salmonella* isolati da materiale di prova di varia origine mediante agglutinazione su vetrino.

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

Composizione
Il reagente di prova Anti-Salmonella poli H fasi 1 e 2 è composto da una miscela di anticorpi monoclonali. Esso è prodotto da surnatanti di colture cellulari di linee cellulari di ibridomi che secernono anticorpi contro i rispettivi antigeni H gruppo-specifici. Il reagente di prova Anti-Salmonella poli H fasi 1 e 2 contiene anticorpi per il rilevamento dei seguenti antigeni H o complessi di antigeni H: a, b, c, d, E, G, i, k, L, r, y, z, z_4, z_6, z_{10}, z_{29}, z_{35}, z_{38}, z_{41} e H:1. Gli anticorpi che rilevano antigeni di complessi come Anti-H:E, H:G, H:L o H:1, rilevano tutte le combinazioni degli antigeni H:e, H:g (incluso H:m,t), H:ℓ, o H:1. Conservante: azoturo di sodio (NaN_3) 0,9 mg/ml

Forma di somministrazione, periodo di validità e condizioni di conservazione
Il reagente di prova Anti-Salmonella poli H fasi 1 e 2 è disponibile in forma liquida ed è pronto all'uso. Se conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C sia prima che dopo l'apertura, può essere utilizzato fino alla data indicata sull'etichetta. Il reagente è pronto all'uso. Dopo l'uso, il flacone deve essere opportunamente richiuso. In casi rari si può verificare la formazione di una lieve torbidità non di origine microbica durante la fase di conservazione. Essa non compromette l'efficacia del prodotto e può essere eliminata tramite centrifugazione o filtrazione. Prima dell'uso i reagenti di prova vanno portati a temperatura ambiente (18...26°C).

Avvertenze e precauzioni
Data la produzione biotecnologica del reagente di prova, si può virtualmente escludere il rischio di contaminazione da agenti infetti. Poiché contiene materiali di origine animale (siero fetale di vitello, stabilizzatore), va trattato come potenzialmente infetto e dunque deve essere maneggiato di conseguenza. Il siero di prova è composto da materiale biologico che va trattato come potenzialmente infetto e dunque deve essere maneggiato di conseguenza. Poiché questo prodotto contiene azoturo di sodio, occorre evitare il contatto con la cute e con le membrane mucose. In caso di contatto, sciacquare 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)!

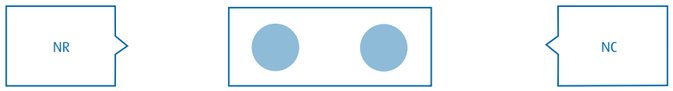
Materiali e attrezzatura non in dotazione
Superficie di lavoro nera, fonte luminosa adeguata, vetrini, bacchette per agitazione, soluzione salina fisiologica (NaCl 9 g/l), acqua distillata sterile, agar di sciamatura, piastre di Petri sterili (diametro 6 cm), contenitori per lo smaltimento di materiale infetto, schema di White-Kauffmann-Le-Minor (schema di Kauffmann-White).

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 Anti-Salmonella H Poly-H Phase 1 & 2, in modo tale da ottenere una sospensione omogenea e lievemente lattiginosa. Il vetrino dovrebbe 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 agglutinazioni 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 REF TN 1702. 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.

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 fioccoso 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.



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).



In caso di reazione positiva, è necessario ottenere la conferma biochimica del genere *Salmonella* prima di poter procedere all'ulteriore differenziazione di tipo sierologico del ceppo utilizzando reagenti di prova Anti-Salmonella polispecifici, gruppo-specifici e monospecifici in base allo schema di White-Kauffmann-Le-Minor. L'unico sierotipo di *Salmonella* non flagellare dello schema di White-Kauffmann-Le-Minor (*S*. Gallinarum) non è rilevabile utilizzando i reagenti di prova Anti-Salmonella H.

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
Il reagente di prova reagisce solo con i ceppi di *Salmonella* che contengono antigeni aventi le specificità dichiarate. Non sono state rilevate reazioni crociate con ceppi di altri generi della *Enterobacteriaceae*. I risultati sierologici positivi ottenuti utilizzando il reagente di prova Anti-Salmonella Poli H, da soli, non sono in grado di dimostrare la presenza di *Salmonella*. Per questo motivo è necessario eseguire esami biochimici per confermare che il ceppo appartiene al genere *Salmonella*. Un eventuale risultato negativo non esclude con assoluta certezza la presenza di *Salmonella*.

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
mTR	Reagente di prova monoclonale		Agglutinazione su vetrino

Data di revisione: 10/10/2018

sifin diagnostics gmbh | Berliner Allee 317-321 | 13088 Berlin | Germany | T: +49 30 927 030-0 | F: +49 30 927 030-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-Salmonella Poli-H fázis 1 és 2

Monoklonális tesztreagens tárgylemez-agglutinációhoz

PROFESSZIONÁLIS ALKALMAZÁSI TÁJÉKOZTATÓ

CE IVD

hu

	REF	Vol.
Anti-Salmonella Poli-H fázis 1 és 2	TR 1141	1 ml
	TR 1145	5 ml

Felhasználás
A tesztreagens a különböző eredetű vizsgálati mintákból izolált *Salmonella* törzsek H-antigénjeinek tárgylemez-agglutinációs módszerrel történő szerológiai azonosítására szolgál.

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

Összetétel
Az Anti-Salmonella Poli-H fázis 1 és 2 tesztreagens monoklonális antitestek keveréke. Előállítása a megfelelő csoport-specifikus H-antigénekkel szemben antitesteket kiválasztó hibridóma sejtvonaltenyészetek szupernatánsából történik. Az Anti-Salmonella Poli-H fázis 1 és 2 tesztreagens a következő H-antigének vagy H-antigén komplexek detektálására alkalmas: a, b, c, d, E, G, i, k, L, r, y, z, z_4, z_6, z_{10}, z_{29}, z_{35}, z_{38}, z_{41} és H:1. A komplex antigéneket pl. Anti-H:E, H:G, H:L vagy H:1 komplexeket detektáló antitestek a H:e, H:g (köztük H:m,t), H:ℓ, vagy H:1 antigének minden kombinációját detektálják. Tartósítószer: nátrium-azid (NaN_3), 0,9 mg/ml.

Kiszerelési forma, eltarthatóság és tárolási feltételek
Az Anti-Salmonella Poli-H fázis 1 és 2 tesztreagens folyékony formában, használatra készen kapható.
Felbontatlanul vagy felbontás után 2-8 °C-on tárolva a címkén megadott dátumig használhatók fel. Használat után a palackot megfelelően le kell zárni.
Ritka esetben enyhe, nem mikrobiális eredetű zavarosság jelentkezhet a tárolás során. Ez nem rontja a készítmény hatékonyságát, és centrifugálással vagy szűréssel megszüntethető.
Használat előtt a tesztreagenst szobahőmérsékletre (18...26 °C) kell temperálni.

Figyelmeztetések és óvintézkedések
A tesztreagens biotechnológiai gyártási eljárásának köszönhetően a fertőző ágensekkel történő szennyeződés kockázata gyakorlatilag kizárható. Mivel a készítmény állati eredetű anyagot tartalmaz (magzati borjúszérumot, stabilizátort), potenciálisan fertőző anyagnak tekintendő, és ennek megfelelően kezelendő.
A tesztszérum biológiai eredetű, és potenciálisan fertőző anyagnak tekintendő, ill. ennek megfelelően kezelendő. Tekintve, hogy a termék nátrium-azidot tartalmaz, a bőrrel és nyálkahártyával való érintkezését kerülni kell. Ha mégis a bőrre vagy nyálkahártyára kerül, bő vízzel kell lemosni.
Mivel a tárgylemez-agglutinációs próba élő kórokozóval végzett tevékenységet is tartalmaz, minden szükséges munkavédelmi eljárást be kell tartani (fertőzésveszély)!

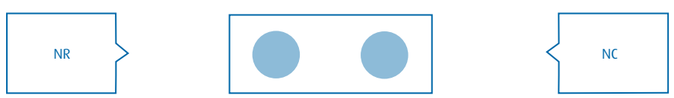
Nem szállított anyagok és eszközök
Fekete munkafelület, megfelelő fényforrás, üveg tárgylemez, keverőpálca, fiziológiás sóoldat (NaCl 9 g/l), steril desztillált víz, rajzást támogató (swarm) agar, steril petricsésze (6 cm átmérőjű), fertőző anyag kezelésére szolgáló tárolóedény, White-Kauffmann-Le-Minor séma (Kauffmann-White séma).

Vizsgálati anyagok és módszerek
1. Vegyünk ki kis mennyiségű baktériumtömeget 16-20 órás szubkultúrából (pl. Kligler táptalaj), a ferde agar alsó, nedvesebb rétegéből. Vigyük át tárgylemezre, és jól keverjük össze egy csepp Anti-salmonella Poly H fázis 1 és 2 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 tárgylemezt 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 készítaptalaját ajánljuk, REF TN 1702.
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 petricsészét. A tárgylemez-agglutinációs próbához a csésze széléről gyűjtsünk anyagot.

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 tárgylemezt 10-20-szor előre-hátra billentjük.



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



Pozitív reakció esetén a *Salmonella* genus biokémiai megerősítése szükséges, mely után a törzs további szerológiai differenciálása is elvégezhető polispecifikus, csoportspecifikus és monospecifikus Anti-Salmonella tesztreagensekkel a White-Kauffmann-Le-Minor sémának megfelelően. A White-Kauffmann-Le-Minor séma egyetlen, csillóval nem rendelkező *Salmonella* szerovariánsa (*S*. Gallinarum) nem detektálható az Anti-Salmonella H tesztreagenssel.

Minősegbiztositas a teszt elvegzesekor
A *Salmonella* törzsek H-antigenjei szerologiai kimutatasanak targylemezes agglutinacio utjan tortenő minősegellenőrzesehez fontos, hogy az ehhez alkalmazott torzsek antigenjei a sejtfeluleten jol expresszalodjanak. Ezert ajanlatos korvizsgalatokbol szarmazo torzseket vagy extern teljesnek jellemzett, meghatarozott eredetű kornyezeti torzseke, vagy megfelelő, kereskedelmileg kapható *Salmonella*-tesztantigéneket alkalmazni a minősegellenőrzeshez.

A módszer korlátai
A tesztreagens csak olyan *Salmonella* törzsekkel lép reakcióba, amelyek a nyilatkozatban megnevezett specificitású H-antigéneket tartalmazzák. Az *Enterobacteriaceae* más nemzetségeinek törzseivel keresztreakciót nem mutattak ki.
Az Anti-Salmonella Poli-H tesztreagens alkalmazásával kapott pozitív szerológiai eredmény önmagában nem tekinthető a Salmonella jelenlétének bizonyítékaként. Emiatt biokémiai módszereket kell igénybe venni annak megerősítésére, hogy a törzs a *Salmonella* genushoz tartozik. A negatív eredmény nem zárja ki teljes bizonyossággal a *Salmonella* jelenlétét.

Az alkalmazott jelek magyarázata

LOT	Sarzsszám		Felhasználható -ig éééé-hh (hh = hónap vége)
REF	Rendelési szám		Hőmérséklettartomány
IVD	In vitro diagnosztikum		Tartsa be a Használati utasítást
mTR	Monoklonális tesztreagens		Tárgylemez-agglutinációhoz

A verzió dátuma: 10/10/2018

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 30 927 030-0 | F: +49 30 927 030-30 | info@sifin.de | www.sifin.de

Anti-Salmonella поли-Н фазы 1 и 2

Моноклональный тест-реагент для реакции агглютинации на предметном стекле

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

CE IVD

ru

	REF	Объем
Anti-Salmonella поли-Н фазы 1 и 2	TR 1141	1 мл
	TR 1145	5 мл

Назначение: Тест-реагент предназначен для серологической идентификации Н-антигенов штаммов *Salmonella*, изолированных из исследуемого материала различного происхождения, методом агглютинации на предметном стекле.

Принципы исследования: При наличии у изолированного штамма Н-антигена *Salmonella*, 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-реагент Anti-Salmonella поли-Н фазы 1 и 2 представляет собой смесь моноклональных антител. Он получен из супернатантов культур гибридных клеточных линий, секретирующих антитела против соответствующих группоспецифических Н-антигенов. Тест-реагент Anti-Salmonella поли-Н фазы 1 и 2 содержит антитела для детекции следующих Н-антигенов или комплексов Н-антигена: a, b, c, d, E, G, i, k, L, r, y, z, z_4, z_6, z_{10}, z_{29}, z_{35}, z_{38}, z_{41} и H:1. Антитела, благодаря которым возможна детекция комплексных антигенов, например анти-H:E, H:G, H:L или H:1, позволяют обнаружить все комбинации антигенов H:e, H:g (в том числе H:m,t), H:ℓ или H:1, соответственно. Консервант: натрия азид (NaN_3) 0,9 мг/мл

Форма выпуска, срок годности и условия хранения: Тест-реагент Anti-Salmonella поли-Н фазы 1 и 2 выпускается в жидкой форме и готов к применению. При хранении при температуре 2...8 °C до и после вскрытия его можно использовать до даты, указанной на этикетке. После применения следует надлежащим образом закрывать флакон. В редких случаях при хранении возможно появление незначительного помутнения, не связанное с микробным загрязнением. Помутнение не влияет на эффективность, и для отделения от примесей тест-реагенты можно центрифугировать или отфильтровать. Перед использованием необходимо дождаться, чтобы тест-реагенты приняли комнатную температуру (18...26 °C).

Предупреждения и меры предосторожности: Производство тест-реагентов при помощи биотехнологий фактически исключает риск контаминации возбудителями инфекционных заболеваний. В связи с содержанием материалов животного происхождения (сыворотка эмбрионов коров, стабилизатор), с ним следует обращаться надлежащим образом как с потенциально инфекционным материалом. Тест-сыворотка является биологическим материалом, и с ней следует обращаться надлежащим образом как с потенциально инфекционным материалом. В связи с содержанием азида натрия следует избегать контакта реагента 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)!

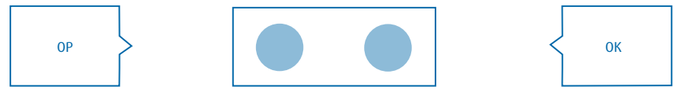
Материалы и оборудование, не входящие в комплект поставки: Темная рабочая поверхность, подходящий источник света, предметные стекла, палочки для перемешивания, физиологический раствор (NaCl 9 г/л), стерильная дистиллированная вода, агар роения, стерильные чашки Петри (диаметром 6 см), контейнеры для сбора отходов для инфекционного материала, схема Кауфмана-Уайта-ЛеМинора (схема Кауфмана-Уайта).

Исследуемый материал и методика
1. Отберите небольшое количество бактериальной массы из 16—20-часовой субкультуры (рост на питательной среде Клиглера или др.) из нижней, наиболее влажной части скошенного агара. Перенесите ее на предметное стекло и тщательно перемешайте с каплей (около 25 мкл) тест-реагента Anti-Salmonella поли-Н фазы 1 и 2 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 Н-антиген описанным выше методом, штамм необходимо пересеять на агар роения, чтобы стимулировать образование жгутиковых антигенов. В качестве агара роения мы рекомендуем использовать готовую к применению питательную среду sifin REF TN 1702. Залейте чашку Петри (диаметром 6 см) агаром роения в количестве 10 мл после его расплавления. После застывания агара роисте его поверхность примерно 100 мкл стерильной дистиллированной воды и инокулируйте штамм в виде «точки» в центре чашки. Инкубируйте чашку Петри в перевернутом состоянии в течение ночи при температуре 35...37 °C. Для проведения реакции агглютинации на предметном стекле материал собирается с краев чашки Петри.

Оценка результатов: Оценка результатов исследования допускается, только если отрицательный контроль (ОК) 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.



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



В случае положительной реакции необходимо получить биохимическое подтверждение принадлежности штамма к роду *Salmonella*, прежде чем выполнять дальнейшую серологическую дифференциацию штамма при помощи полиспецифических, группоспецифических и моноспецифических тест-реагентов Anti-Salmonella по схеме Уайта-Кауфмана-ЛеМинора. Единственным сероваром *Salmonella* в схеме Уайта-Кауфмана-ЛеМинора, детекция которого невозможна с использованием тест-реагентов Anti-Salmonella H, является не имеющий жгутиков серовар *S*. Gallinarum.

Обеспечение качества при выполнении теста: Для контроля качества серологической идентификации Н-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: Данный тест-реагент дает реакцию только со штаммами *Salmonella*, содержащими заявленные антигены. Не обнаружена перекрестная реактивность со штаммами бактерий других родов семейства *Enterobacteriaceae*. Положительные результаты, полученные только при помощи тест-реагент Anti-Salmonella поли-Н, не являются доказательством присутствия *Salmonella*. Поэтому для подтверждения принадлежности штамма к роду *Salmonella* необходимо выполнить биохимическое исследование. Отрицательные результаты, полученные с использованием данного реагента, не позволяют с абсолютной достоверностью исключить присутствие *Salmonella*.

Разъяснение 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
mTR	Моноклональный тест-реагент		агглютинация на предметном стекле

Дата редакции: 10/10/2018

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