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 Pools de fase H

Reactivo de ensayo para la prueba de aglutinación en portaobjetos

INFORMACIÓN DE USO PARA PERSONAL ESPECIALIZADO

CE IVD

es

REF		Pool de 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_4, r	1 ml, 3 ml

Uso previsto
Los reactivos de ensayo se utilizan para la detección serológica de los antígenos H de cepas aisladas de *Salmonella* a partir de material de ensayo de origen humano y de otros orígenes mediante la prueba de aglutinación en portaobjetos. Se debe realizar otra diferenciación serológica utilizando los reactivos de ensayo monoespecíficos Anti-Salmonella H correspondientes al esquema de White-Kauffmann-Le-Minor (esquema de Kaufmann-White).

Principio del ensayo
Si la cepa aislada de *Salmonella* posee un antígeno H correspondiente al rango de detección del reactivo de ensayo, este se ligará al anticuerpo específico al realizar la mezcla. Como resultado de la reacción antígeno-anticuerpo la cepa se ve claramente aglutinada.

Composición
Los reactivos de ensayo son mezclas de anticuerpos monoclonales. Estos se forman a partir de sobrenadantes de cultivos de células de líneas celulares de hibridomas que secretan anticuerpos contra los antígenos H de *Salmonella* correspondientes. Para la detección del antígeno H z_{29} o del complejo del antígeno Z_4 , el reactivo de ensayo Anti-Salmonella HMA o el reactivo de ensayo Anti-Salmonella HMC contienen, además, sueros de conejos inmunizados liberados mediante absorción de aglutininas no específicas.
Conservante: azida sódica (NaN_3) 0,9 mg/ml

Forma galénica, vida útil y condiciones de almacenamiento
Los reactivos de ensayo son líquidos y están listos para su uso.
Si se almacenan sin abrir su embalaje original a temperaturas de entre 2 °C y 8 °C, se podrán utilizar hasta la fecha indicada en la etiqueta. Tras utilizar la, esta debe volver a cerrarse bien.
En ocasiones puede que los reactivos de ensayo presenten turbidez de origen no microbiano. Sin embargo, la turbidez no disminuye el efecto de los reactivos de ensayo y puede eliminarse mediante centrifugación o filtración.
Antes de utilizar los reactivos de ensayo, los mismos deben aclimatarse a temperatura ambiente (entre 18 °C y 26 °C).

Advertencias y precauciones de uso
Debido a la preparación biotecnológica de los reactivos de ensayo, el riesgo de contaminación por agentes patógenos infecciosos es prácticamente nulo. Puesto que contienen material animal (suero fetal de ternera, estabilizadores), así como un suplemento de suero de conejo, deberían manipularse como productos potencialmente infecciosos.
Además, puesto que contienen azida de sodio, debe evitarse que entren en contacto con la piel y las mucosas. Si lo hicieran, lavar con agua abundante. Para realizar la prueba de aglutinación en portaobjetos se trabaja con materiales patógenos nativos, por lo que deberán respetarse las medidas de seguridad laboral (riesgo de infección).

Materiales de trabajo y equipos no suministrados
Portaobjetos de vidrio, agitador, suero fisiológico, contenedores para desechar materiales infecciosos, esquema de White-Kauffmann-Le-Minor.

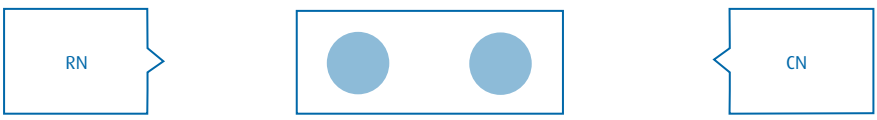
Material de ensayo y metodología
1. Transferir pequeñas cantidades de masa bacteriana de un subcultivo incubado entre 16 y 20 horas (p. ej., medio de cultivo de Kliger) desde la parte inferior y húmeda del agar inclinado a un portaobjetos y mezclarlas con una gota de reactivo de ensayo (25 µl aprox.) para obtener una suspensión homogénea, ligeramente lactosa. El portaobjetos debería colocarse sobre una base oscura. Para leer el resultado a simple vista, deberá colocarse el portaobjetos delante de una fuente de luz, contra un fondo negro, y girarse. Para excluir las aglutinaciones espontáneas, deberá realizarse un control negativo con suero fisiológico en lugar de utilizar reactivo de ensayo.
2. Si la determinación de antígenos H resulta infructuosa siguiendo el método descrito con anterioridad, inocular la cepa de agar de cobertera para potenciar el desarrollo de antígenos flagelares. Para el agar de cobertera se recomienda el medio de cultivo REF sifin TN1702 listo para usar.
Tras la licuación, añadir 10 ml de este agar de cobertera en una placa de Petri (de 6 cm de diámetro). Después de solidificarse, humedecer la superficie del agar con 100 µl de agua destilada estéril y aplicar la cepa formando un punto en el centro de la placa. Incubar hacia abajo la placa con el estrato de agar entre 35 y 37 °C hasta el día siguiente. Para la prueba de aglutinación en portaobjetos, extraer el material del borde de la placa.

Desarrollo del procedimiento
La prueba con los reactivos de ensayo poliespecíficos Anti-Salmonella HMA, Anti-Salmonella HMB y Anti-Salmonella HMC permiten la detección serológica de los antígenos H o los complejos de antígenos H más frecuentes de cepas de *Salmonella*. Además, la presencia del complejo del antígeno H:1 se prueba con Anti-Salmonella H:1 (REF TR1437, TR1437-01). Si la reacción a estas pruebas positiva la cepa debe aglutinarse con los reactivos de ensayo monoespecíficos Anti-Salmonella H disponibles en sifin (consultar lista de productos o www.sifin.de) para una posterior tipificación.

Valoración de los resultados
Solo podrá realizarse una evaluación si el control negativo (CN) permanece turbio y lechoso.
Positivo: Aglutinación visible tras girar la muestra entre 1 y 20 veces. En reacciones positivas (RP) fuertes, la aglutinación (copos gruesos o finos) se detecta directamente en el momento en el que se mezcla la masa bacteriana; mientras que en resultados positivos más débiles se detecta tras girar la muestra entre 10 y 20 veces.



Negativo: Si la suspensión permanece turbia y lechosa o se produce una reacción tras haber girado la muestra más de 20 veces, la reacción es negativa (RN).



Control de calidad durante el procedimiento de ensayo
Para el control de calidad de la detección serológica de los antígenos H de las cepas de *Salmonella* mediante la prueba de aglutinación en portaobjetos, es importante que las cepas utilizadas expresen bien sus antígenos en la superficie de la célula. Por eso, para realizar los controles de calidad se recomienda utilizar cepas procedentes de ensayos interlaboratorios, cepas silvestres de origen definido caracterizadas en laboratorios totalmente externos o antígenos de prueba adecuados para *Salmonella* disponibles en el mercado.

Limitaciones del método
Los agentes reactivos reaccionan con cepas de *Salmonella* que contienen antígenos de las especificidades declaradas en los pools de fase H. Una clasificación bioquímica al género *Salmonella* excluye reacciones cruzadas raras con otros géneros de la familia de las *Enterobacteriaceae*.

Explicación de los símbolos utilizados

LOT	Código de lote		Utilizar antes de AAAA-MM (MM = final del mes)
REF	Número de referencia del catálogo		Límite de temperatura
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro		Consultar las instrucciones de uso
TR	Reactivo de ensayo		Prueba de aglutinación en portaobjetos

Fecha de esta versión: 14/07/2020