

## **Enteroclon Anti-Salmonella H z<sub>13</sub>**

Katalogové číslo TR 1439, objem 1 ml

Pro skličkovou aglutinaci

### Informace pro referenční laboratoře a speciální laboratoře

#### **Obvyklé použití**

Enteroclon je určen pro použití buď při identifikaci nebo kontrole H z<sub>13</sub> antigenu L komplexu kmenu Salmonella dle schématu Kauffmann-White pomocí skličkové aglutinace. Není určen pro metodu fázové reverze (PR).

Tento výrobek není určen pro IVD diagnostiku při testování vzorků humánního původu.

#### **Princip testu**

Pokud kmen Salmonella vlastní H-antigen, který je zahrnut v Enteroclonu, je tento antigen navázán při smíchání se specifickou protilátkou. Výsledkem reakce antigen-protilátka je jasně viditelná aglutinace tohoto kmene.

#### **Složení**

Enteroclony jsou vyráběny ze supernatantu buněčných kultur hybridomních buněčných linií, které vylučují protilátky proti příslušnému Salmonella H z<sub>13</sub> antigenu.

Termín Enteroclon je užíván společností pro produkty, které jsou připravovány výhradně z monoklonálních protilátek.

Konzervans: azid sodný (NaN<sub>3</sub>) 0.9 mg/ml

#### **Expirace a skladování**

Enteroclon Anti-salmonela H z<sub>13</sub> je dostupný v tekuté formě.

Pokud skladujeme neotevřené i otevřené balení při teplotě 2-8 °C, tekuté testovací reagentie mohou být používány až do data uvedeného na obalu. Reagentie jsou připraveny k použití. Po otevření je třeba lahvičky dobře uzavírat.

#### **Upozornění a varování**

Biotechnologická výroba Enteroclonů znamená, že riziko kontaminace infekčním agens lze virtuálně vyloučit. Protože obsahují živočišné materiály (fetální telecí sérum, stabilizátor), je třeba je považovat za potenciálně infekční a náležitě s nimi manipulovat.

Protože tento materiál obsahuje azid sodný, vyvarujte se styku s kůží a sliznicemi. V případě zasažení prosím opláchněte místo velkým množstvím vody.

Vzhledem k tomu, že provedení skličkové aglutinace vyžaduje práci s živým patogenním materiálem, musí se dodržovat všechny nezbytné ochranné pracovní postupy (nebezpečí infekce)!

#### **Materiál a zařízení, které není součástí tohoto balení**

Sklička, míchací tyčinky, fyziologický roztok (NaCl 9 g/l), nádoba pro likvidaci infekčního materiálu, schéma Kauffmann-White, sterilní Petriho miska (6 mm průměr), swarm agar, mikrovlnná trouba nebo vodní lázeň, teploměr.

#### **Testovaný materiál a metodika**

##### **1) Určení antigenu**

**1.1** Přemístěte malé množství bakteriální hmoty z 16-20 hodinové subkultury (např. živný agar nebo Kligler kultivační médium) odebrané ze spodní vlhké vrstvy šikmého agaru.

Přemístěte ji na sklíčko a dobře promíchejte s kapkou Enteroclonu/testovacího séra Anti-Salmonella H z<sub>13</sub> (asi 25 µl), až do vytvoření homogenní, lehce mléčné suspenze. Sklíčko je třeba umístit na tmavé pozadí.

Reakce se odečítá pouhým okem držením sklíčka před světelným zdrojem proti černému pozadí a jeho naklápěním tam a zpět. Je třeba zároveň udělat i kontrolu spontánní aglutinace, negativní kontrolu, a to s použitím fyziologického roztoku místo Enteroclonu.

**1.2** V případě, že test na H-antigen provedený podle metody uvedené výše není úspěšný, kmen je třeba inokulovat na swarm agar, kde se podpoří tvorba bičíkových antigenů. Doporučujeme ready-to-use médium firmy SIFIN kat.č. TN 1702.

Po zkapalnění umístěte 10 ml tohoto swarm agaru do Petriho misky (6 cm průměr). Po ztuhnutí postříkejte povrch agaru cca 100 µl sterilní destilované vody a naneste kmen ve formě bodu ve středu misky. Inkubujte misku přes noc vrstvou agaru směrem dolů při 35-37 °C. Pro sklíčkový aglutinační test odeberte materiál z okraje misky.

## **2. Fázová reverze**

Pokud je kmen dvoufázový, ale lze identifikovat pouze jednu H-fázi, musí se provést postup fázové inverze (Sven Gard metoda), aby došlo k indukci druhé fáze.

**2.1.** Smíchejte 0,1 ml Enteroclonu nebo 0,1-0,2 ml testovacího séra Anti-Salmonella H s 10 ml zkapalněného swarm agaru (ochlazeného na 40-45 °C) v Petriho misce o průměru 6 cm. Po ztuhnutí agaru postříkejte povrch misky destilovanou vodou (jak je popsáno v bodě 1.2), inokulujte kmenem Salmonella, inkubujte a proveďte sklíčkový aglutinační test. Pokud nebyla fázová inverze úspěšná, je třeba postup opakovat.

**2.2.** Jako alternativu k tomuto klasickému postupu doporučujeme následující zjednodušený postup. Přidejte 0,1 ml Enteroclonu nebo 0,1-0,2 ml testovacího séra Anti-Salmonella H po kapkách na misku (6 cm průměr) obsahující 10 ml swarm agaru a rozetřete po celém povrchu sterilní skleněnou špachtlí. Poté inokulujte střed misky a inkubujte, jak je popsáno výše. Po 16-20 hodinách je možné plazící se kmen použít pro identifikaci druhé H fáze. Tato zjednodušená procedura obvykle umožňuje identifikovat druhou fázi na první pokus.

## **Vyhodnocení**

Test je možné hodnotit pouze, pokud negativní kontrola (NC) zůstane mléčně zakalená.

Pozitivní: Viditelná aglutinace poté, co je vzorek naklopen méně než 20x tam a zpět. U silně pozitivní reakce (PR), aglutinace (hrubě nebo jemně vločkovitá) se objeví okamžitě po smíchání s bakteriální masou. U slabě pozitivní reakce se aglutinace objeví pouze po naklopení 10-20x tam a zpět.

Negativní: Výsledek je negativní (NR), pokud suspenze zůstane mléčně zakalená nebo je reakce viditelná až po více než 20 naklopení tam a zpět.

## **Limitace metody**

Testovací reagentie Anti-Salmonella H z<sub>13</sub> reaguje výhradně s kmeny Salmonella, které obsahují antigen deklarované specifikace.

## **Vykazuje zkříženou reakci se Salmonella antigeny H 1, H z28 a H z39.**

Zkřížené reakce se kmeny jiných rodů čeledi *Enterobacteriaceae* nebyly zjištěny.

### Vysvětlení použitých symbolů



in vitro diagnostikum



číslo šarže (LOT)



katalogové číslo



skladovací podmínky



datum expirace RRRR-MM (MM = konec měsíce)

Datum revize: prosince 2006

Datum překladu: srpen 2013

### **Výrobce:**

SIFIN Institut für Immunpräparate und Nährmedien GmbH Berlin

Berliner Allee 317/321

13088 Berlin

Germany

[www.sifin.de](http://www.sifin.de)

### **Zplnomocněný zástupce výrobce v České republice:**

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Tůmova 2265/60, 616 00 Brno

IČ: 634 71 507, DIČ: CZ63471507