

## Enteroclon a testovací sérum

### Anti-Salmonella H

Pro sklíčkovou aglutinaci a fázovou reverzi (PR)



#### Informace pro kvalifikované pracovníky

#### Obvyklé použití

Enteroclony a testovací séra Anti-Salmonella H jsou určeny pro použití při identifikaci nebo ověření H-antigenů kmenů Salmonella podle schématu Kaufmann-White-le-Minor pomocí sklíčkové aglutinace. Umožňují určení sérovarů.

Enteroclony a testovací séra uvedená v tabulce níže lze rovněž použít v případě dvoufázových kmenů pro indukci neidentifikované H-fáze (fázová inverze pomocí kultivace na swarm agaru/Sven Gard metoda).

#### Princip testu

Pokud kmen Salmonella obsahuje H-antigen, který je zahrnut v Enteroclonu nebo testovacím séru, 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-antigenu. Termín Enteroclon je užíván společností pro produkty, které jsou připravovány výhradně z monoklonálních protilátek.

Testovací séra jsou imunizovaná králičí séra, ze kterých byly absorbcí odstraněny nespecifické aglutininy.

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

#### Dostupné specifikace Anti-Salmonella

Specifikace	Identifikované antigeny	PR (fázová reverze)
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,Z <sub>15</sub> ; e,n,x,Z <sub>15</sub>	x
H f	H f,g; f,g,s; f,g,t	
H g	Všechny kombinace antigenů H G komplexů, kromě H m, t	x
H g,m	Všechny kombinace antigenů H G komplexů, včetně H m, t	
H h	H e, h	
H i	H i	x
H k <sup>1)</sup>	H k (I)	x
H L	H l, v; l, w; l, Z <sub>13</sub> ; l, Z <sub>28</sub> ; l, Z <sub>13</sub> , Z <sub>28</sub>	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,Z <sub>15</sub> ; e,n,x,Z <sub>15</sub>	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	

Specifikace	Identifikované antigeny	PR (fázová reverze)
H v	H l,v	
H w	H l,w	
H x	H e.n,x; e.n,x,Z <sub>15</sub>	
H y	H y	x
H z <sup>2)</sup>	H z (I, II, III)	x
H z <sub>4,Z<sub>23</sub></sub>	H z <sub>4,Z<sub>23</sub></sub> ; Z <sub>4,Z<sub>24</sub></sub> ; Z <sub>4,Z<sub>32</sub></sub> ; Z <sub>4,Z<sub>23</sub>,Z<sub>32</sub></sub>	
H z <sub>6</sub>	H z <sub>6</sub>	
H z <sub>10</sub>	H z <sub>10</sub>	x
H z <sub>15</sub>	H e.n,Z <sub>15</sub> ; e.n,x,Z <sub>15</sub>	
H z <sub>23</sub>	H z <sub>4,Z<sub>23</sub></sub> ; Z <sub>4,Z<sub>23</sub></sub> , Z <sub>32</sub>	
H z <sub>24</sub>	H z <sub>4,Z<sub>24</sub></sub>	
H z <sub>28</sub>	H l, Z <sub>28</sub> ; l, Z <sub>13</sub> , Z <sub>28</sub>	
H z <sub>29</sub>	H z <sub>29</sub>	
H z <sub>32</sub>	H z <sub>4,Z<sub>32</sub></sub>	
H z <sub>35</sub>	H z <sub>35</sub>	x
H z <sub>38</sub>	H z <sub>38</sub>	x
H z <sub>41</sub>	H z <sub>41</sub>	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) identifikace Hk v Subspecies I

2) identifikace Hz v Subspecies I, II a III

### **Dodávaná forma produktu, expirace a podmínky skladování**

Enteroclony, které se v mikrobiologické laboratoři používají často, jsou dostupné v tekuté formě. Enteroclony pro specifikace, které jsou potřeba méně často, a testovací séra, jsou lyofilizovány (vysušeny mrazem).

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.

Lyofilizované Enteroclony/testovací séra se musí před použitím rozpustit v 1 nebo 5 ml destilované vody podle deklarace. Musí se správně uzavřít přiloženou pipetou. Při skladování při 2-8 °C zůstávají použitelné nejméně 18 měsíců. Nicméně není možné je používat po datu uvedeném na obalu.

Testovací séra někdy mohou vykazovat zákal, který není způsoben mikrobiální kontaminací. Tento zákal nezhoršuje účinnost a séra lze vyčistit centrifugací nebo filtrací.

### **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.

Testovací séra jsou biologický materiál, který je třeba považovat za potenciálně infekční a musí se s nimi proto náležitě 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 Kaufmann-White, sterilní Petriho misky (6 cm v průměru), 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 skličko a dobře promíchejte s kapkou Enteroclonu/testovacího séra Anti-Salmonella H (asi 25 µl), až do vytvoření homogenní, lehce mléčné suspenze. Skličko je třeba umístit na tmavé pozadí.

Reakce se odečítá pouhým okem držením sklička 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 skličkový 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 skličkový 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 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, pokud suspenze zůstane mléčně zakalená nebo je reakce viditelná až po více než 20 naklopení tam a zpět.

### **Limitace metody**

Testovací reagentie reaguje výhradně s kmeny Salmonella, které obsahují antigen deklarované specifikace.

Zkřížené reakce se kmeny dalších 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: srpen 2009

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.

Tůmová 2265/60, 616 00 Brno

IČ: 634 71 507, DIČ: CZ63471507