

Istruzioni per l'uso

SALMONELLA **ANTISIERI**



ANTISIERI PER SALMONELLA

Per uso diagnostico *in vitro*

Uso previsto

I sieri per la *salmonella* vengono usati come coadiuvante diagnostico *in vitro* per la sierotipizzazione qualitativa manuale completa o parziale tramite agglutinazione su vetrino e inversione di fase H. È importante usare isolati di coltura pura per l'identificazione degli antigeni batterici.

Descrizione

Gli antisieri per la *salmonella* Gruppo O, Fattore O e Fase H vengono impiegati per lo screening di colture vive su terreno non selettivo. Gli antisieri per la *salmonella* a inversione di fase vengono impiegati per l'inversione delle Fasi H.

Tipo di antisiero	Volume della fiala	Numero di test
O, H e Vi monoclonale	1 ml	50
O, H e Vi monoclonale	3 ml	150
Inversione di fase	3 ml	30

Tabella 1. Prodotti contenuti in queste istruzioni per l'uso.

Tutti gli antisieri per la *salmonella* sono assorbiti senza reazioni incrociate ad eccezione di Poly A-E+Vi, Poly A-I+Vi, Poly A-S+Vi, Poly 42-67 e Poly H.

Gli antisieri sono policlonali, preparati su conigli usando ceppi di riferimento e i metodi raccomandati dall'Istituto Pasteur¹ e assorbiti per eliminare gli anticorpi con reazioni incrociate.

Gli antisieri di SSI Diagnostica sono intesi per l'uso unicamente da parte di professionisti di laboratorio e/o da professionisti sanitari.

Principio

I complessi antigene-anticorpo si formano (agglutinazione) quando una coltura batterica viene miscelata a un antisiero specifico diretto contro i componenti della superficie batterica. I complessi sono di solito visibili a occhio nudo, il che permette una semplice identificazione degli antigeni O e H tramite agglutinazione su vetrino. Alcune colture sono monofasiche e possono essere direttamente tipizzate come H, laddove la seconda fase in una coltura difasica viene determinata dopo l'inversione di fase (metodo Svend Gard⁴). Dopo la sierotipizzazione completa della coltura di *salmonella*, può essere determinata la nomenclatura del sierotipo usando lo schema Kauffmann-White³.

Precauzioni

- Prima di usare gli antisieri per la *salmonella* SSI Diagnostica, confermare che il ceppo sia di *salmonella*, ad esempio usando un metodo biochimico.
- Colture/ceppi non puri si autoagglutinano e causano reazioni false positive.
- Una quantità eccessiva di coltura rispetto agli antisieri può causare reazioni false positive.
- Per l'agglutinazione in vetrino degli antisieri, assicurarsi che il risultato venga letto entro 10 secondi.
- Può verificarsi torbidità dovuta alla precipitazione delle lipoproteine dopo una conservazione prolungata. Se si verifica precipitazione e/o contaminazione, questa può essere rimossa tramite centrifugazione (10.000 g) seguita da filtrazione sterile (0,22 µM).
- Gli antisieri sono stati convalidati unicamente per la sierotipizzazione tramite i metodi descritti di sotto.
- Gli antisieri che sono stati accidentalmente congelati non devono essere usati.
- Il ceppo da testare deve essere coltivato su terreno agar non selettivo. Assicurarsi che il ceppo sia una coltura pura.
- Non usare gli antisieri dopo la data di scadenza.
- Controllare la fiala prima dell'uso per assicurarsi che sia intatta. Le fiale danneggiate devono essere smaltite.

Materiali forniti

Gli antisieri per la *Salmonella* SSI Diagnostica sono forniti in flaconi contagocce contenenti 1 o 3 mL di antisieri pronti all'uso (vedere tabella 1).

Materiali necessari ma non forniti

- Terreno agar non selettivo (es. agar di estratto di manzo)
- Soluzione fisiologica salina pH 7.4
- Ansa da inoculo o stecchino
- Vetrini
- Incubatore (35-37 °C)
- Schema di Kauffmann-White

Materiale supplementare per l'inversione di fase

- Piastre di Petri sterili (diametro 6 cm)
- Bagnomaria (>90 °C)
- Swarm agar
- Pipetta

Conservazione e stabilità

La data di scadenza è stampata sulle etichette.

Gli antisieri per la *salmonella* devono essere conservati a una temperatura di 2-8 °C in un luogo buio. Non congelare. Se conservati in queste condizioni, gli antisieri possono essere usati fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.

La stabilità durante l'impiego non è influenzata dall'utilizzo dell'antisiero durante il giorno, se viene conservato a 2-8°C quando non in uso, per non oltre 4 anni dalla data di produzione.

Gli antisieri per la *salmonella* sono stati testati dopo una conservazione a 37°C per quattro settimane. Gli antisieri erano ancora completamente funzionali.

Conservante

Gli antisieri per la *salmonella* contengono meno dello 0,1% di azoturo di sodio (NaN_3) come conservante.

Raccolta di campioni e conservazione

Per la raccolta di campioni, seguire la procedura standard locale.

Controllo di qualità

Prima dell'uso, controllare le fiale per assicurarsi che non vi siano danni e/o perdite. In caso di danni o di perdite, smaltire la fiala.

La soluzione salina viene usata come controllo negativo per confermare che il ceppo non si sta autoagglutinando.

Procedura

Agglutinazione su vetrino con antisieri O e H

1. Il ceppo di *salmonella* viene coltivato di notte a una temperatura di 35-37 °C su terreno agar non selettivo. Lo swarm agar è il terreno migliore per far crescere colture per la tipizzazione H. Gli antigeni H non possono essere sierotipizzati su terreno agar non selettivo.
2. Applicare una piccola goccia di antisiero (circa 20 µL) sul vetrino.
3. Trasferire la coltura da 3 a 5 colonie alla goccia di antisiero e miscelare bene. La quantità di coltura deve essere sufficiente a garantire una distinta torbidità lattiginosa. Usare un'ansa da inoculo o uno stecchino.
4. Inclinare il vetrino per 5-10 secondi.
5. La reazione viene letta a occhio nudo tenendo il vetrino davanti a una fonte luminosa su sfondo nero (illuminazione indiretta).
6. Un'agglutinazione visibile è considerata una reazione positiva (vedere figura 1 reazione A). La persistenza di torbidità lattiginosa omogenea è una reazione negativa (vedere figura 1 reazione B). Un'agglutinazione ritardata o debole (dopo 10 secondi) non deve essere considerata una reazione negativa.

L'assenza di reazione può essere dovuta a un ceppo che esprime l'antigene Vi (vedere sotto), a un ceppo non coperto dagli antisieri usati o a un ceppo non *salmonella*.

La presenza dell'antigene Vi può interferire con od ostacolare l'agglutinazione negli antisieri O. Gli isolati negativi devono quindi essere esaminati per verificare la presenza dell'antigene Vi. A causa della variazione di forma dell'antigene Vi, è importante selezionare colonie singole, in quanto le forme delle colonie con antigene Vi sono più opache rispetto alle colonie Vi-negative.

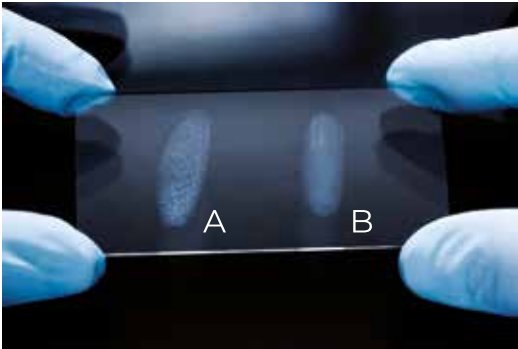


Figura 1. Il campione A rappresenta una reazione positiva e il campione B una reazione negativa.

Inversione di fase H su terreni swarm agar (metodo S. Gard)⁴

1. Ad esempio, sciogliere lo swarm agar a bagnomaria ($>90\text{ }^{\circ}\text{C}$) e raffreddare a 45°C .
2. Applicare $100\text{ }\mu\text{L}$ di antisiero H per l'inversione di fase (corrispondente alla fase già identificata) al centro di una piccola piastra di Petri sterile (diametro 6 cm).
3. Versare 10 mL di swarm agar sull'antisiero a ottenere una diluizione finale di 1:100.
4. Lasciare riposare la piastra per permetterne la solidificazione nel sito di colata a temperatura ambiente per 10-15 min.
5. Inoculare la piastra al centro con un ansa piena di coltura batterica fresca proveniente da terreno agar o terreno di coltura.
6. Incubare per tutta la notte a $35\text{-}37\text{ }^{\circ}\text{C}$.
7. Usare il materiale di coltura dall'estremità della zona di crescita per l'agglutinazione su vetrino. Assicurarsi che il ceppo si diriga verso l'estremità della piastra di Petri prima di testare con agglutinazione su vetrino. Selezionare gli antisieri H rilevanti usando lo schema di Kauffmann-White.
8. Se gli antisieri per l'inversione di fase da $100\mu\text{L}$ non inibiscono completamente la fase in questione, rieseguire la procedura dal passaggio 2 usando antisieri per l'inversione di fase da $200\mu\text{L}$. Se la seconda fase non viene espressa, non esclude il ceppo con seconda fase.

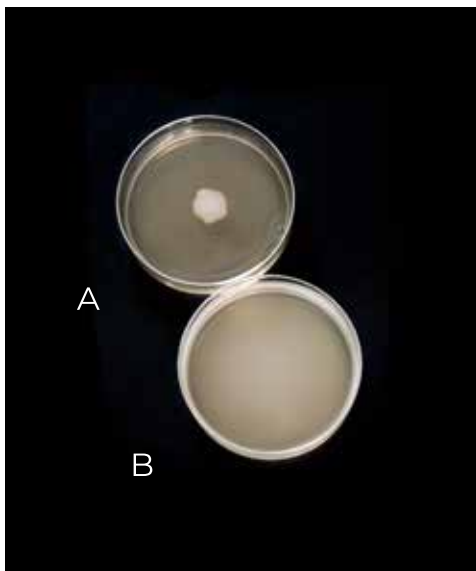


Figura 2. Illustrazione dell'inversione di fase di una coltura monofasica e difasica di *salmonella*. La coltura monofasica non è colma (A) e la coltura difasica si dirige verso l'estremità della piastra di Petri (B).

Interpretazione dei risultati

Agglutinazione su vetrino:

Un'agglutinazione visibile è considerata una reazione positiva, laddove una torbidità lattiginosa omogenea è considerata una reazione negativa (vedere figura 1).

Non interpretare i risultati dopo 10 secondi in quanto qualsiasi reazione osservata dopo 10 secondi non può essere considerata un risultato vero positivo.

Inversione di fase:

In una coltura di *salmonella* vi è di solito solo una fase dominante detta fase 1 e questa fase può essere determinata su swarm agar senza l'aggiunta di antisiero per inversione di fase. La fase 2 è determinata aggiungendo l'antisiero di inversione di fase corrispondente per la fase 1 allo swarm agar. Questo permette ai batteri di accumularsi esprimendo gli antigeni H di seconda fase. I ceppi di *salmonella* possono avere fino a 3 fasi. Per trovare la terza fase, devono essere aggiunti gli antisieri di inversione di fase contro fase 1 e 2 allo swarm agar. La fase può essere sierotipizzata usando gli antisieri H per l'agglutinazione su vetrino.

Smaltimento

Seguire le procedure locali e/o le linee guida nazionali per lo smaltimento di materiali biologici.

Limitazioni

- La coltura deve essere confermata come *salmonella* prima di sierotipizzare usando antisieri SSI Diagnostica.
- Gli antisieri di inversione di fase non possono essere usati per l'agglutinazione su vetrino e gli antisieri di agglutinazione su vetrino non possono essere usati per l'inversione di fase, anche se sono diretti contro lo stesso antigene.

Prestazioni

Sensibilità, specificità e ripetibilità

Risultati complessivi dell'antisiero <i>salmonella</i>		
	Percentuale (numero positivi/ positivi effettivi)	Intervallo di confidenza del 95%
Sensibilità	96% (291/302)	93-98
Specificità	99% (307/310)	97-99
Ripetibilità	98% (940/958)	97-99

Ripetibilità

La riproducibilità in gruppi diversi di antisieri e tutti gli antisieri combinati è del 100% (99%-100%). Di conseguenza, tutti gli antisieri prodotti hanno un alto livello di riproducibilità nel tempo e nei lotti.

Segnalazione degli incidenti

Qualsiasi incidente che si sia verificato in relazione al dispositivo deve essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello stato membro in cui l'utente e/o il paziente risiede.

Certificato di qualità

Lo sviluppo, la produzione e la vendita di prodotti per la diagnostica *in vitro* di SSI Diagnostica sono di qualità assicurata e certificata ai sensi della norma ISO 13485². Il certificato di analisi può essere scaricato dal nostro sito Web: ssidiagnostica.com



REF

IVD



Per un elenco dei prodotti e delle composizioni, consultare il nostro sito Web:

Antisieri O e VI

- <https://www.ssidiagnostica.com/salmonella-antisera-o-and-vi/>



Antisieri H

- <https://www.ssidiagnostica.com/salmonella-antisera-h/>



Bibliografia

1. Grimont, P.A.D. and Weill, F.-X. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars, WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Istituto Pasteur, Parigi, Francia, ed. 9, 2007.
2. ISO/TR 6579-3:2014 Guideline "Microbiology of food and animal feed – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*"
3. Michel Y. Popoff and L. Le Minor. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars, Ed. 8 (2001 con inserti). WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Istituto Pasteur, Parigi, Francia.
4. Gard, S. Das Schwärmphänomen in der *Salmonella*-Gruppe und seine praktische Ausnützung. Zeit. f. Hyg. Inf. Krankh. 1938, 120;615-619.

Informazioni e ordini

SSI Diagnostica A/S

Herredsvejen 2

3400 Hillerød

Danimarca

Tel. +45 4829 9100

info@ssidiagnostica.com

www.ssidiagnostica.com

shop.ssidiagnostica.com

SSI Diagnostica A/S
Herredsvejen 2
3400 Hillerød
Denmark

ssidiagnostica.com

Improving
Microbiology