

Istruzioni per l'uso

# **SALMONELLA** **ANTISERA**





# SALMONELLA ANTISERA

Per uso diagnostico *in vitro*

## Uso previsto

Gli antisieri di SSI Diagnostica *Salmonella* Antisera sono utilizzati come ausilio diagnostico *in vitro* per la sierotipizzazione qualitativa manuale, completa o parziale, mediante tecnica di agglutinazione su vetrino, e possono essere utilizzati nelle procedure di inversione di fase H. Per l'identificazione degli antigeni batterici è importante utilizzare isolati provenienti da colture pure.

## Descrizione

Gli antisieri per l'identificazione del Gruppo O e del Fattore O, e della fase H e del fattore H sono utilizzati per lo screening di colture vive provenienti da agar non selettivo. *Salmonella* Phase Inversion Antisera sono utilizzati nelle procedure per l'inversione di fase 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 della linea *Salmonella* Antisera sono adsorbiti senza cross-reazioni, ad eccezione del Poly A-E+Vi, Poly A-I+Vi, Poly A-S+Vi, Poly 42-67 e Poly H.

Gli antisieri sono policlonali, preparati in conigli utilizzando ceppi di riferimento, in accordo con i metodi raccomandati dall'Istituto Pasteur<sup>1</sup> e adsorbiti per eliminare gli anticorpi che presentano cross-reazioni. 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 con 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 Gard<sup>4</sup>). Dopo la sierotipizzazione completa della coltura di *Salmonella*, può essere determinata la nomenclatura del sierotipo utilizzando lo schema Kauffmann-White<sup>3</sup>.

## Precauzioni

- Prima di utilizzare gli antisieri di SSI Diagnostica *Salmonella* Antisera, confermare l'identificazione del ceppo come *Salmonella*, ad esempio utilizzando un metodo biochimico.
- Colture/ceppi rugosi si autoagglutineranno e causeranno reazioni falsamente positive.
- Una quantità eccessiva di coltura rispetto agli antisieri può causare reazioni falsamente positive.
- Per l'agglutinazione degli antisieri su vetrino, assicurarsi che il risultato venga letto entro 10 secondi.
- Una conservazione prolungata potrebbe causare una torbidità dovuta alla precipitazione delle lipoproteine. Se si dovessero verificare precipitazioni e/o contaminazioni, queste possono essere rimosse tramite centrifugazione (10.000 g), seguita da una fase di filtrazione sterile (0,22 µM).
- Gli antisieri sono stati validati unicamente per la sierotipizzazione tramite i metodi descritti di seguito.
- Gli antisieri accidentalmente congelati non devono essere utilizzati.
- Il ceppo da testare deve essere coltivato su terreno agar non selettivo. Assicurarsi che il ceppo provenga da una coltura pura.
- Non utilizzare gli antisieri dopo la data di scadenza.
- Prima dell'uso, controllare la provetta per assicurarsi che sia intatta. Le provette danneggiate devono essere smaltite.

## Materiali forniti

Gli antisieri per la *Salmonella* di SSI Diagnostica sono forniti in provette con 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 impressa sulle etichette.

*Salmonella* Antisera 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 utilizzati fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.

Se vengono conservati a 2-8 °C quando non in uso, la stabilità degli antisieri non è compromessa per un utilizzo sul banco di lavoro durante tutto l'arco della giornata, ma per non più di 4 anni dalla data di produzione.

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

## **Conservante**

*Salmonella* Antisera contengono meno dello 0,1% di azoturo di sodio ( $\text{NaN}_3$ ) come conservante.

## **Raccolta di campioni e conservazione**

Per la conservazione dei campioni, seguire la procedura standard locale.

## Controllo di qualità

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

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

## Procedura

### Agglutinazione su vetrino con antisieri O e H

1. Il ceppo di *Salmonella* viene coltivato over-night a una temperatura di 35-37 °C su terreno agar non selettivo. Lo swarm agar è il terreno più idoneo per far crescere colture per la tipizzazione H. Gli antigeni H non possono essere sierotipizzati su ceppi provenienti da un terreno agar non selettivo.
2. Dispensare una piccola goccia di antisiero (circa 20 µL) sul vetrino.
3. Trasferire la coltura di 3 - 5 colonie nella 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) dovrebbero essere considerate una reazione negativa.

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

La presenza dell'antigene Vi può interferire 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.

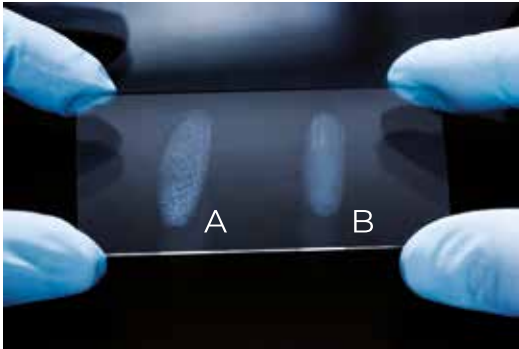


Figura 1. Il campione A rappresenta una reazione positiva e il campione B una reazione negativa.

### **Inversione di fase H su terreni swarm agar (metodo S. Gard)<sup>4</sup>**

1. Ad esempio, sciogliere lo swarm agar a bagnomaria ( $>90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e raffreddare a  $45^{\circ}\text{C}$ .
2. Dispensare  $100\text{ }\mu\text{L}$  di antisiero H per l'inversione di fase (corrispondente alla fase che era già stata identificata) al centro di una piccola piastra di petri sterile (diametro 6 cm).
3. Versare 10 mL di swarm agar sull'antisiero per ottenere una diluizione finale di 1:100.
4. Lasciare solidificare la piastra dove è stato effettuato il versamento, a temperatura ambiente per 10-15 min.
5. Con un'ansa piena di coltura batterica fresca proveniente da terreno agarizzato o da brodocoltura, inoculare il centro della piastra.
6. Incubare over-night a  $35\text{-}37\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
7. Per l'agglutinazione su vetrino, utilizzare il materiale di coltura prelevato all'estremità della zona di crescita. Prima di testare l'agglutinazione su vetrino, assicurarsi che il ceppo sciami verso tutta l'estremità della piastra petri. 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, ciò non esclude che il ceppo abbia una seconda fase.

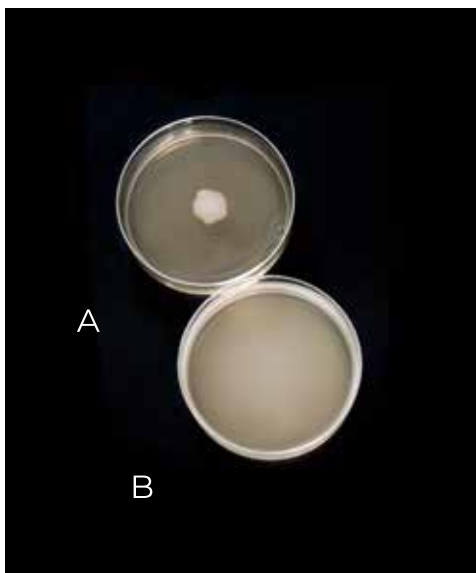


Figura 2. Illustrazione dell'inversione di fase di una coltura monofasica e difasica di *Salmonella*. La coltura monofasica non sciamata (A) e la coltura difasica sciamata verso l'estremità della piastra di Petri (B).

## Interpretazione dei risultati

### Agglutinazione su vetrino:

Una reazione positiva è osservata come un'agglutinazione visibile, mentre una torbidità lattiginosa omogenea è considerata una reazione negativa (vedere figura 1).

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

### Inversione di fase:

In una coltura di *Salmonella* c'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 sciamare esprimendo gli antigeni H di seconda fase. I ceppi di *Salmonella* possono avere fino a 3 fasi. Per trovare la terza fase, allo swarm agar devono essere aggiunti gli antisieri di inversione di fase contro le fasi 1 e 2. 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

- Prima di utilizzare gli antisieri di SSI Diagnostica, la coltura deve essere confermata come *Salmonella*.
- 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

### Riproducibilità

La riproducibilità all'interno dei differenti gruppi 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 di 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 in accordo con l'ISO 13485<sup>2</sup>. Il certificato di analisi può essere scaricato dal nostro sito Web: [ssidiagnostica.com](http://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](http://ssidiagnostica.com)

Improving  
**Microbiology**