

BEOOGD GEBRUIK

De antisera van Pro-Lab Vision worden geprepareerd voor gebruik voor de serologische identificatie van organismen die volgens de classificatie van Kauffman-White(4) behoren tot het *Salmonella*-genus en moeten worden gebruikt door personeel dat hiervoor gekwalificeerd is.

SAMENVATTING EN UITLEG

Het genus *Salmonella* bevat een grote verscheidenheid aan pathogene species die over de hele wereld mens en dier kunnen infecteren. Voor volledige identificatie van *Salmonella* heeft men kweekisolatie, biochemische karakterisering en serologische identificatie (serotyping) nodig.

PRO-LAB polyvalente 'O' (somatische) antisera zijn bedoeld als hulpmiddel bij de eerste seroclassificatie. Volledige identificatie van 'O'-antigenen kan men bereiken met behulp van monovalente specifieke 'O'-antisera (1). Het serotype van *Salmonella*-isolaten kan dan worden bepaald door middel van polyvalente en monovalente 'H' (flagella) antisera(1,2).

Het principe van de serologische identificatie van *Salmonella* houdt het mengen in van het verdachte organisme met antiserum dat specifieke *Salmonella*-antilichamen bevat. De bacteriën gaan agglutineren (klonteren) in aanwezigheid van homologo antiserum.

REAGENTIA

PRO-LAB *Salmonella* 'O' en 'H' polyvalente en monovalente antisera worden geprepareerd in konijnen met behulp van referentiestammen volgens de door de Wereld Gezondheidsorganisatie(3,4) aanbevolen methoden en geabsorbeerd om kruisreagerende antilichamen te elimineren. PRO-LAB-antisera worden geleverd in een druppelflesje dat 3,0 ml gebruiksklaar verdund antiserum met 0,01% thiomersal als conserveringsmiddel bevat.

VOORZORGSMAATREGELEN

1. Antisera niet gebruiken na de op het productlabel vermelde uiterste gebruiksdatum.
2. De antisera bevatten thiomersal, hetgeen een uiterst toxische verbinding op kwikbasis is. Hoewel de hoeveelheid thiomersal in de antisera minimaal is, dient men voorzorgsmaatregelen te treffen bij het hanteren, verwerken en weggoien van het reagens.
3. Vermijd verontreiniging van het reagensflesje.
4. Het testmonster kan organismen omvatten die pathogeen zijn voor de mens en dient gehanteerd en weggegooid te worden als besmettelijk materiaal.
5. Het reagens is uitsluitend bedoeld voor diagnostisch gebruik *in vitro*.
6. Voor het verkrijgen van geldige testresultaten dient men zich te houden aan de procedures, opslagcondities, voorzorgsmaatregelen en beperkingen gespecificeerd in deze richtlijnen.
7. Het product bevat materiaal van dierlijke oorsprong en dient behandeld te worden als mogelijke drager en overbrenger van ziekten.

BENODIGD MAAR NIET GELEVERD MATERIAAL

Glazen objectglaasjes of reageerbuisen
 Normale fysiologische zoutoplossing (0,85% natriumchloride-oplossing)
 Wegwerp- of draadlusen
 Waterbad ingesteld op 51° C.
 Microscop

STABILITEIT EN OPSLAG

Salmonella-antisera dienen bewaard te worden bij 2-8° C. Niet invriezen. Indien bewaard onder deze condities kunnen de antisera worden gebruikt tot de op het productlabel vermelde uiterste gebruiksdatum.

MONSTERAFNAME EN PREPARATIE VAN KWEKEN

Voor specifieke procedures met betrekking tot monsterafname en preparatie van primaire kweken wordt verwezen naar een standaard microbiologietekstboek. Op darmdifferentiaalagarmedia geïsoleerde koloniën, waarvan men vermoedt dat zij *Salmonella* zijn, dienen te worden bevestigd met conventionele biochemische tests. Over het algemeen dient men media met lage selectiviteit, bijv. bloedagar of voedingsagar, te gebruiken voor het kweken van koloniën voor 'O'-somatische antigeenidentificatie. Voor identificatie van 'H'-flagellumantigenen, kan men de kweekpreparatie het best maken met vloeistoffasegroei.

PROCEDURE
A. Identificatie van Somatisch en Vi-antigenen van *Salmonella* (object glaasjestest)

1. Plaats twee afzonderlijke volle lussen met normale fysiologische zoutoplossing (0,85% natriumchloride) op een schoon objectglaasje.
2. Neem een klein deel van een verdachte *Salmonella*-kolonie van een schaalte met een kweek van een hele nacht en meng grondig met beide druppels normale fysiologische zoutoplossing op het glaasje om een gladde suspensie te krijgen.
3. Vroeg één volle lus antisera toe aan één van de bacteriële suspensiedruppels op het objectglaasje, voeg aan de andere (controle) één volle lus normale fysiologische zoutoplossing toe.
4. Vermeng het antiserum met de bacteriële suspensie met behulp van een steriele lus.
5. Kantel het objectglaasje gedurende één minuut voorzichtig heen en weer en let op agglutinatie onder normale verlichtingsomstandigheden, bij voorkeur met behulp van een laagvermogenobjectief.

B. Identificatie van Flagellum(H)-antigenen van *Salmonella* (objectglaasjestest):

De procedure komt overeen met die voor identificatie van somatisch antigeen met uitzondering van het gebruik van de vloeistoffasekweek uit halfvastmedium met een Craigie-buis(1) of kweek in de vloeistof van een agarhelling. Bij gebruik van een vloeistofkweek hoeven er geen suspensies van fysiologische zoutoplossing te worden gemaakt. Flagellumantigeendetectie kan normaal worden bereikt door middel van agglutinatietests op objectglaasjes, sommige stammen zijn echter slecht geflagelleerd en kunnen alleen worden geïdentificeerd door middel van agglutinatietests in buizen.

C. Identificatie van Somatisch, Vi- en H-antigenen van *Salmonella* (buis test):

1. Preparatie van celsuspensies voor tests: Prepareer een dichte suspensie van de bacteriën in normale fysiologische zoutoplossing en kook gedurende 10 minuten of gebruik alcohol-gedehydrateerde cellen die opnieuw zijn gesuspendeerd in normale fysiologische zoutoplossing in Browns-buis 2 voor identificatie van somatische antigenen. Prepareer geformaliseerde gedode bouillonkweek voor de identificatie van 'H'-antigeen. Suspendeer verdachte 'Vi'-koloniën in 0,5% normale fysiologische zoutoplossing in Browns- buis 2 voor de identificatie van 'Vi'-antigenen.
2. Antisera-dilutie: Om PRO-LAB *Salmonella*-antisera in een reageerbuis te gebruiken moet elk antiserum vóór gebruik met 1:5 worden verdund in

normale fysiologische zoutoplossing.

3. Voeg 150 µl normale fysiologische zoutoplossing toe aan een glazen reageerbuis en doe een zelfde hoeveelheid verdunde antisera in een andere buis.
4. Voeg aan elke buis een gelijke hoeveelheid eerder geprepareerde cel suspensie toe.
5. Incubeer gedurende 2 uur in een waterbad bij 51° C in het geval van flagellumantigeenidentificatie of gedurende 5 tot 18 uur in het geval van somatische of 'Vi'-identificatie.
6. Observeer de buizen op agglutinatie.

D. Identificatie van Flagellum(H)-antigenen van *Salmonella* met behulp van de snelle diagnostische *Salmonella*-sera:

De snelle diagnostische *Salmonella*-sera worden in combinatie gebruikt voor het bepalen van de flagellumgroep.

1. Raadpleeg procedure B voor de procedure voor het identificeren van *Salmonella* flagellum(H)-antigenen van *Salmonella* met behulp van de objectglaasjestest.
2. Raadpleeg procedure C voor de procedure voor het identificeren van flagellum(H)-antigenen van *Salmonella* met behulp van de reageerbuis test.

INTERPRETATIE VAN RESULTATEN
1. Voor procedure A of B:

Een duidelijke agglutinatie (granulaire klontering) binnen 60 seconden, zonder agglutinatie in de fysiologische zoutoplossingscontrole (auto-agglutinatie) wordt gezien als een positief resultaat. Positieve resultaat en kunnen worden bevestigd door middel van reageerbuisagglutinatie-tests.

2. Voor procedure C:

In de buis opgemerkte granulaire "klonters" worden gezien als een positief resultaat voor 'O'-antigeenidentificatie, terwijl een wat vlokkeriger uiterlijk opgemerkt met behulp van een fel licht tegen een donkere achtergrond wordt gezien als een positief resultaat voor 'H'-antigeenidentificatie.

3. Voor procedure D:

- (i) Positieve resultaten worden geïnterpreteerd voor de objectglaasjestest als in 1.
- (ii) Positieve resultaten worden geïnterpreteerd voor de buisest als in 2.
- (iii) Raadpleeg de volgende tabel voor interpretatie van de resultaten voor de snelle diagnostische *Salmonella* sera 1, 2 en 3 als een panel:

<i>Salmonella</i> -flagellumgroep						
Sera	b	d	E	G	k	L r
Snelle diagnostische <i>Salmonella</i> sera 1	+	+	+	-	-	+
Snelle diagnostische <i>Salmonella</i> sera 2	+	-	+	-	+	-
Snelle diagnostische <i>Salmonella</i> sera 3	-	+	+	+	+	-



BEPERKINGEN VAN DE PROCEDURES

1. De antisera mogen alleen worden gebruikt voor identificatie van kweken die eerder biochemisch werden gekenmerkt als *Salmonella*. De aanwezigheid van soortgelijke antigenen op het oppervlak van andere bacteriën dan *Salmonella* is niet getest en kan foutieve resultaten geven.
2. Ruwe stammen zullen auto-agglutineren en foutpositieve resultaten geven. Daarom dient in elke test een controle met normale fysiologische zoutoplossing te worden opgenomen om de specificiteit van de reactie zeker te stellen.
3. Het is raadzaam de sterkte van *Salmonella*-antisera te controleren met voorraadkweken van bekende antigeenstructuren.
4. Hoewel de meerderheid van *Salmonella*-stammen die de juiste antigenen bevatten zullen agglutineren met het homologe antiserum, kan als gevolg van kleine verschillen, bijvoorbeeld, in de antigeenexpressie tussen stammen van hetzelfde serotype en individuele koloniën als gevolg van vormverschil (ref 5), agglutinaties niet in alle gevallen worden gega-randeerd.
5. De gevoeligheid van de objectglaasjeste kan worden verminderd bij gebruik van grotere volumes dan 10 µl.

REFERENTIES

1. **Ewing, W.H.** 1986. *Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae*, 4th Ed. Elsevier Science Publishing Co., New York.
2. **Spicer, C.C.** 1956. *J. Clin. Path.* 9: 378.
3. **World Health Organization, Centre for Reference and Research on Salmonella.** Antigenic formulae of the *salmonella* serovars 1992. WHO International *Salmonella* Centre, Institut Pasteur, Paris.
4. **Kauffmann, F.** 2001. *The Bacteriology of Enterobacteriaceae*. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
5. **Bergan T.** (Ed) 1984. *Methods in Microbiology* Vol. 15. Serology of *Salmonella*. Lindberg A, Minor L 1-141.

BESCHIKBARE REAGENTIA

Polyvalente somatische O-antisera:

PL.6000	Polyvalent O A - I + Vi
PL.6002	Polyvalent O A - S

Monovalente somatische O-antisera:

PL.6010	Groep A, Factor 2
PL.6011	Groep B, Factor 4
PL.6012	Groep B, Factor 5
PL.6013	Groep C, Factor 6,7
PL.6014	Groep C2, Factor 8
PL.6015	Groep D, Factor 9
PL.6016	Groep B/D, Factor 12
PL.6017	Groep E, Factor 3,10,15,19,34
PL.6018	Groep E1, Factor 10
PL.6019	Groep E2, Factor 15
PL.6020	Groep E4, Factor 19
PL.6021	Groep E3, Factor 34
PL.6022	Groep F, Factor 11
PL.6023	Groep G, Factor 13,22,23
PL.6024	Groep G1, Factor 22
PL.6025	Groep G2, Factor 23
PL.6027	Groep C3, Factor 20
PL.6029	Groep I, Factor 16
PL.6030	Groep J, Factor 17
PL.6031	Groep K, Factor 18
PL.6032	Groep L, Factor 21
PL.6033	Groep M, Factor 28
PL.6034	Groep N, Factor 30
PL.6035	Groep O, Factor 35

PL.6036	Groep P, Factor 38
PL.6037	Groep Q, Factor 39
PL.6038	Groep R, Factor 40
PL.6039	Groep S, Factor 41
PL.6040	Vi
PL.6041	Factor 55

Polyvalente flagellum-H-antisera:

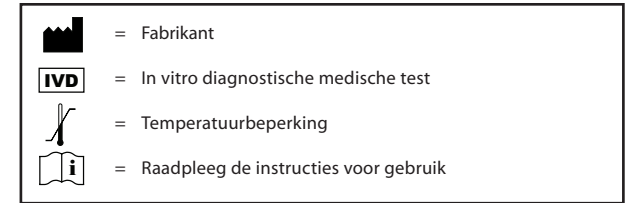
PL.6100	Polyvalent H
PL.6101	Polyvalent H Fase 2, Factor 1,2,5,6,7,z6

Monovalente flagellum-H-antisera:

PL.6110	Factor a
PL.6111	Factor b
PL.6112	Factor c
PL.6113	Factor d
PL.6114	E Complex eh, enx, enz15
PL.6115	Factor eh
PL.6116	Factor enx
PL.6117	Factor enz15
PL.6118	Factor h
PL.6120	Factor z15
PL.6121	G-complex
PL.6122	Factor gm
PL.6123	Factor gp
PL.6124	Factor p
PL.6125	Factor u
PL.6126	Factor s
PL.6127	Factor m
PL.6128	Factor t
PL.6129	Factor f
PL.6131	Factor q
PL.6133	Factor i
PL.6134	Factor k
PL.6135	L-complex
PL.6136	Factor l, w
PL.6137	Factor l, v
PL.6138	Factor w
PL.6139	Factor v
PL.6140	Factor z13
PL.6141	Factor z28
PL.6142	Factor r
PL.6143	Factor y
PL.6144	Factor z
PL.6145	Z4-complex
PL.6146	Factor z23
PL.6147	Factor z24
PL.6148	Factor z32
PL.6149	Factor z10
PL.6151	Factor z29
PL.6153	Factor 2
PL.6154	Factor 5
PL.6155	Factor 6
PL.6156	Factor 7
PL.6157	Factor z6

Snelle diagnostische *Salmonella* sera:

PL.6200	Snelle diagnostische <i>Salmonella</i> sera 1
PL.6201	Snelle diagnostische <i>Salmonella</i> sera 2
PL.6202	Snelle diagnostische <i>Salmonella</i> sera 3



Deze gebruiksaanwijzing werd professioneel vertaald op basis van de originele Engelse versie. Neem contact op met Pro-Lab als de tekst niet eenduidig is of als u discrepanties vaststelt.