

# SALMONELLA SERO-QUICK ID KIT

do stosowania *in vitro*



## Informacja i Zamówienia

Argenta Sp.z.o.o  
ul. Polska 114  
60-401 Poznań  
Tel.: +48 61 847-46-37  
Fax: +48 61 848-34-77  
zamowienia@argenta.com.pl  
www.argenta.com.pl

STATENS  
SERUM  
INSTITUT

5 Artillerivej  
2300 Copenhagen S  
Denmark

## Zastosowanie

Zestaw Salmonella Sero-Quick ID Kit przeznaczony jest do pełnego, kompletnego serotypowania *S. Enteritidis* (1,9,12:g,m:-) i *S. Typhimurium* (1,4,[5],12:i:1,2). Oba serotypy stanowią 80% wszystkich szczepów Salmonella izolowanych od ludzi na całym świecie<sup>1</sup>.

## Opis

Surowica *Salmonella* O i surowica H są króliczymi surowicami poliwalentnymi, wyizolowanymi poprzez specyficzną absorpcję. Wszystkie surowice są konserwowane w 0.09% azydku sodu. Zestaw zawiera 8 buteleczek z zakraplaczem: O:4 - O:9 - H:i - H:m - H:2 - H:q,s,t,p,u – SG2 (zawiera wysokie stężenie H:i) i SG6 (zawiera wysokie stężenie H:1,2). Każda buteleczka zawiera 2 ml surowicy, wystarczające dla przeprowadzenia około 100 testów.

## Zasada

Podczas mieszania koloni bakteryjnej ze specyficzną surowicą skierowaną przeciw antygenom powierzchniowym, komórki są sieciowane poprzez wiązanie kompleksu antygen-przeciwciała, tworząc widoczne strąty (tzw. aglutynacja). Zjawisko aglutynacji antygeny jest zwykle widoczne gołym okiem, w postaci strąków w badanej zawieszynie.

## Ograniczenia

Brak reakcji może być spowodowany szczepem posiadającym ekspresję antygeny Vi, szczepem nie wykrytym przez zastosowane surowice lub szczepem nie należącym do pałeczek z rodzaju *Salmonella*.

## Materiały wymagane nie dołączone do zestawu

Nie-selektywna pożywka agarowa (np. beef extract agar)  
Eza do zaszczepienia lub wykałaczką  
Szkłane szkiełka podstawowe  
Roztwór fizjologiczny soli, pH 7.4  
Dodatkowe materiały wymagane do hamowania fazy dominującej:  
Sterylna płytka Petriego (średnica 6 cm)  
Kuchenka mikrofalowa lub łaźnia wodna (100 °C)  
Agar miękki (np. Swarm agar)  
Termometr  
Pipeta  
Cieplarka 35-37°C

## Procedura

### Pożywka hodowlana

Inkubować *Salmonella* przez całą noc na odpowiedniej pożywce hodowlanej, np. beef extract agar. Agar miękki jest z wyboru najlepszą pożywką służącą do oceny antygenów rzęskowych H, można ewentualnie oznaczać antygeny rzęskowe z pożywki twardej np. beef extract agar, ale tylko w przypadku, kiedy są one bardzo wyraźnie. Agar miękki należy zawsze stosować do hamowania fazy dominującej.

### Kolejność wykonywanych oznaczeń (patrz schemat postępowania)

Jeśli badany szczep aglutynuje z roztworem soli fizjologicznej, oznacza to, iż mamy do czynienia ze szczepem szorstkim mającym zdolność do autoaglutynacji. Szczep szorstki nie nadaje się do serotypowania.

Zbadaj szczep surowicą O:4 i/lub O:9 poprzez metodę aglutynacji szkiełkowej.

- Reakcja dodatnia dla surowicy O:9: kontynuuj badanie z surowicą H:m i H:q,s,t,p,u. Reakcja dla H:m musi być dodatnia, a reakcja dla H:q,s,t,p,u ujemna dla szczepu, którym ma być *S. Enteritidis*.
- Reakcja dodatnia dla surowicy O:4: kontynuuj z surowicą H:i i H:2, aby potwierdzić fazę pierwszą antygeny H. Jeśli reakcja dla H:i jest dodatnia oznacza to pierwszą fazę. Drugą fazę znajduje się przez hamowanie fazy dominującej H i dodanie surowicy SG2 do agaru miękkiego tak, aby powstrzymać wyrazistość antygeny H:i. Następnie przeprowadź test przy zastosowaniu surowicy H:2. Jeśli reakcja jest dodatnia badanym szczepem jest *S. Typhimurium*. Jeśli pierwszą fazą było H:2 należy wówczas dodać SG6 do agaru miękkiego tak, aby powstrzymać wyrazistość antygeny H:1,2.

### Aglutynacja szkiełkowa z surowicami O i H

1. Nałóż małą kroplę (około 20 µL) surowicy na szkiełko podstawowe.
2. Przenieś hodowlę do kropli surowicy i dobrze wymieszaj. Ilość hodowli powinna być wystarczająca, aby utworzyć wyraźną mleczną zawieszynę. Zastosuj eżę lub wykałaczkę.
3. Obracaj delikatnie szkiełko i odczytaj reakcję w ciągu **5 - 10 sekund**.
4. Reakcję odczytuje się gołym okiem, trzymając płytkę pod źródłem światła na ciemnym tle (oświetlenie pośrednie).
5. Reakcja dodatnia określona jest jako widoczna aglutynacja. Ujemna reakcja uwidocznia się jako homogenna, mleczna zawieszyna. Późna lub słaba aglutynacja powinna być uznawana jako wynik ujemny.

### **Hamowanie fazy dominującej na płytkach z agarem miękkim (metoda S. Gard)<sup>2</sup>**

1. Upłynnić agar miękki w kuchence mikrofalowej lub w łaźni wodnej (100 °C) następnie schłodzić do temperatury 45°C.
2. Dodać 100 µl surowicy H hamującej, służącej do indukcji fazy dominującej (odpowiadającej fazie, która została już zidentyfikowana) w centralnej części małej, sterylnej płytki Petriego.
3. Dodać 10 ml agaru miękkiego do surowicy, co da rozcieńczenie 1:100.
4. Pozostawić płytki do stężenia, w temperaturze pokojowej (22-25°C) przez 10-15 minut.
5. Za pomocą ezy, zaszczerpić płytkę w jej centralnej części, świeżo pobraną hodowlą z płytki agarowej lub z bulionu hodowlanego.
6. Poddać inkubacji przez noc w temperaturze 35-37°C.
7. Materiał z peryferyjnych części płytki jest odpowiedni do wykonania aglutynacji szkiełkowej.

Jeśli dominująca faza H nie została zahamowana, należy zwiększyć ilość surowicy hamującej dodawanej do podłoża miękkiego.

### **Przechowywanie i okres przydatności**

Przechowywać w ciemnym miejscu, w temperaturze 2-8°C. Data ważności wydrukowana jest na opakowaniu. Czasami po przedłużonym okresie przechowywania widoczna jest mętność spowodowana wytrąceniem lipoproteiny. Wytrącenie i/lub skażenie można usunąć poddając surowicę wirowaniu (10 000g), a następnie sterylnej filtracji (0.22 µm).

### **Literatura**

1. Herikstad et al. 2002 Epidemiol. Infect. **129**, 1-8. Salmonella surveillance: a global survey of public health serotyping.
2. Gard, S. Das Schwärmpänomen in der Salmonella-gruppe und seine praktische Ausnützung. Zeit. f. Hyg. Inf. Krankh. 1938, 120;615-619.

1<sup>st</sup> Edition, May 2006 - 63318

