

DOMAINE D'APPLICATION

Les antisérums Vision de Pro-Lab sont préparés pour être utilisés dans l'identification sérologique d'organismes appartenant au genre *Salmonella*, selon la classification de Kauffman-White (4), par du personnel possédant les compétences requises.

RESUME ET EXPLICATION

Le genre *Salmonella* contient une grande variété d'espèces pathogènes qui affectent les êtres humains et les animaux du monde entier. L'identification complète du *Salmonella* exige un isolement de la culture, une caractérisation biochimique et une identification sérologique (sérotypage).

Les antisérums polyvalents 'O' (somatiques) PRO-LAB doivent être considérés comme une aide au sérogroupage initial. L'identification complète des antigènes 'O' peut être obtenue à l'aide des antisérums monovalents spécifiques 'O' (1). Ainsi, le sérotype d'isolats de *Salmonella* peut être déterminé en utilisant les antisérums polyvalents et monovalents 'H' (antiflagellaires) (1,2).

Le principe de l'identification sérologique des germes du genre *Salmonella* implique le mélange des organismes suspects avec de l'antisérum contenant des anticorps de *Salmonella* spécifiques. Les bactéries s'agglutinent en présence de l'antisérum homologue.

REACTIFS

Les antisérums *Salmonella* 'O' et 'H' polyvalents et monovalents PRO-LAB sont préalablement préparés sur des lapins en utilisant des souches de référence conformément aux méthodes recommandées par l'Organisation Mondiale de la Santé (3,4) et sont absorbés pour éliminer les anticorps en réaction croisée. Les antisérums PRO-LAB sont fournis dans un flacon compte-goutte contenant 3,0 ml d'antisérum dilué prêt à l'emploi avec du thimérol comme agent de conservation, à raison de 0,01 %.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Ne pas utiliser l'antisérum après la date de péremption imprimée sur l'étiquette du produit.
2. L'antisérum contient du thimérol, un composé hautement toxique à base de mercure. Bien que la quantité de thimérol dans l'antisérum soit minimale, manipuler, traiter et éliminer le réactif selon les règles de sécurité en vigueur.
3. Eviter toute contamination du flacon de réactif.
4. Les échantillons à tester peuvent contenir des organismes pathogènes pour l'être humain; les traiter et les manipuler à l'instar du matériel infectieux.
5. Le kit est destiné à un usage *in vitro* uniquement.
6. Les procédures, les conditions de conservation, les précautions d'emploi et les limites d'utilisation spécifiées dans cette notice doivent être respectées pour assurer la validité des tests réalisés.
7. Le produit contient des matières d'origine animale et devra être manipulé comme potentiellement susceptible de transporter et transmettre des maladies.

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Lames en verre ou éprouvettes
Solution salée normale (0,85 % de chlorure de sodium)
Anses ou anses jetables

Bain-marie à 51°C.
Microscope

STABILITE ET CONSERVATION

Conserver les antisérums de *Salmonella* entre 2 et 8°C. Ne pas congeler. Conservé dans ces conditions, les antisérums peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette du produit.

PRELEVEMENT ET MISE EN CULTURE

Pour les procédures spécifiques de recueil d'échantillon et de mise en culture, se référer aux méthodes standard décrites dans les manuels de microbiologie. Les colonies isolées sur de la gélose différentielle entérique et suspectées d'appartenir au genre *Salmonella* doivent être confirmées avec des tests biochimiques traditionnels. En général, il est nécessaire d'utiliser un milieu à sélectivité faible, comme la gélose au sang ou la gélose nutritive, pour la croissance de colonies permettant l'identification de l'antigène somatique 'O'. Pour l'identification de l'antigène flagellaire 'H', préparer de préférence une culture à partir d'une prolifération en phase liquide.

PROCEDURE

A. Identification des antigènes somatique et Vi de *Salmonella* (test sur lame)

1. Déposer deux anses séparées de solution salée normale (0,85 % de chlorure de sodium) sur une lame de verre propre.
2. Prendre une petite quantité d'une colonie suspectée d'appartenir au genre *Salmonella* d'une plaque de culture d'une nuit et bien mélanger avec chacune des deux gouttes de solution salée normale sur la lame pour obtenir une suspension uniforme.
3. Ajouter une anse d'antisérums à l'une des gouttes de suspension bactérienne sur la lame et une anse de solution salée normale sur l'autre (témoin).
4. Mélanger l'antisérum avec la suspension bactérienne à l'aide d'une anse stérile.
5. Incliner doucement la lame en faisant un mouvement de va-et-vient pendant une minute et observer l'agglutination dans des conditions d'éclairage normales ou à l'aide d'un faible objectif.

B. Identification de l'antigène flagellaire de *Salmonella* (H) (test sur lame) :

La procédure à suivre est la même que pour l'identification de l'antigène somatique à une exception près : l'utilisation d'une culture en phase liquide repiquée d'un milieu à l'aide d'un tube de Craigie (1) ou de la prolifération dans le liquide d'une gélose inclinée. Si l'on utilise une culture liquide, il est inutile d'effectuer des mises en suspension salines. En règle générale, il est possible d'obtenir la détection de l'antigène flagellaire, par des tests d'agglutination sur lame ; toutefois, certaines souches ne sont pas assez flagellées et seuls les tests d'agglutination en tube peuvent les identifier.

C. Identification des antigènes somatiques, Vi et H de *Salmonella* (test en éprouvette) :

1. Mise en suspension des cellules pour le test : Préparer une suspension dense des bactéries dans une solution salée normale et faire bouillir pendant 10 minutes ou utiliser des cellules déshydratées à l'alcool remises en suspension dans la solution salée normale dans des tubes de Brown [2] pour l'identification des antigènes somatiques. Préparer un bouillon de culture tué au formol pour l'identification de l'antigène 'H'. Suspendre des colonies suspectes 'Vi' dans un solution salée normale à 0,5 % dans le

tube de Brown 2 pour l'identification des antigènes 'Vi'.

2. Dilution des antisérums: Pour pouvoir utiliser les antisérums de *Salmonella* PRO-LAB dans une éprouvette, chaque antisérum doit être dilué à raison d'un volume d'antisérum pour 5 volumes de solution salée normale avant utilisation.
3. Ajouter 150 µl de solution salée normale dans une éprouvette en verre et ajouter un volume égal d'antisérums dilués dans un autre éprouvette.
4. Ajouter un volume égal de suspension cellulaire préalablement préparée à chaque éprouvette.
5. Incuber dans un bain-marie à 51°C pendant 2 heures pour l'identification de l'antigène flagellaire ou pendant 5 à 18 heures pour l'identification de l'antigène somatique ou 'Vi'.
6. Vérifier si une agglutination s'est produite dans les éprouvettes.

D. Identification de l'antigène flagellaire (H) de *Salmonella* en utilisant les sérums de diagnostic rapide de *Salmonella* :

Les sérums de diagnostic rapide de *Salmonella* sont utilisés en association pour déterminer le groupe flagellaire.

1. Pour la procédure d'identification de l'antigène flagellaire (H) de *Salmonella* en utilisant le test sur lame, se reporter à la procédure B.
2. Pour la procédure d'identification de l'antigène flagellaire (H) de *Salmonella* en utilisant le test en éprouvette, se reporter à la procédure C.

INTERPRETATION DES RESULTATS

1. Pour la procédure A ou B : Une agglutination distincte (granulaire) en 60 secondes, sans agglutination dans le témoin salé (autoagglutination) est considérée comme un résultat positif. Les résultats positifs peuvent être confirmés par les tests d'agglutination en éprouvette.
2. Pour la procédure C : Les "amas" granulaires observés dans l'éprouvette sont considérés comme un résultat positif pour l'identification de l'antigène 'O', tandis qu'une apparence plus floculante observée sous une lumière brillante sur fond sombre est considérée comme un résultat positif pour l'identification de l'antigène 'H'.
3. Pour la procédure D :
 - (i) Les résultats positifs sont interprétés pour le test sur lame comme dans 1.
 - (ii) Les résultats positifs sont interprétés pour le test en éprouvette comme dans 2.
 - (iii) Pour l'interprétation des résultats pour les antisérums diagnostiques rapides de *Salmonella* 1, 2 et 3 comme panel, se reporter au diagramme suivant :

Groupe <i>Salmonella</i> flagellaire	
Sérums	b d E G k L r
Sérums diagnostiques rapides de <i>Salmonella</i> 1	+ + + - - - +
Sérums diagnostiques rapides de <i>Salmonella</i> 2	+ - + - + + -
Sérums diagnostiques rapides de <i>Salmonella</i> 3	- + + + + - -



LIMITES

1. Les antisérums ne doivent être utilisés que pour l'identification des cultures préalablement caractérisées biochimiquement comme correspondant au genre *Salmonella*. La présence d'antigènes similaires à la surface des bactéries autres que *Salmonella* n'a pas été analysée et peut donner lieu à des résultats erronés.
2. Les souches « rough » s'auto-agglutinent, ce qui donne des résultats faussement positifs. De ce fait, un témoin de solution salée normale doit être inclus dans chaque test pour garantir la spécificité de la réaction.
3. Il est recommandé de vérifier la puissance des antisérums anti-*Salmonella* avec des cultures mères dont la structure antigénique est connue.
4. Bien que la plupart des souches de *Salmonella* ayant les antigènes correspondants s'agglutinent avec l'antisérum homologue, il est impossible de garantir que cela se produira dans tous les cas en raison de légères différences, par exemple, au niveau de l'expression antigénique entre les souches ayant le même sérotype et les colonies individuelles en raison de modification de la forme [5].
5. La sensibilité du test sur lame risque d'être réduite en cas d'utilisation de volumes supérieurs à 10 µl.

BIBLIOGRAPHIE

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.

REACTIFS DISPONIBLES

Antisérums O somatiques polyvalents :

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

Antisérums O somatiques monovalents :

PL.6010 Groupe A, Facteur 2
PL.6011 Groupe B, Facteur 4
PL.6012 Groupe B, Facteur 5
PL.6013 Groupe C, Facteur 6,7
PL.6014 Groupe C2, Facteur 8
PL.6015 Groupe D, Facteur 9
PL.6016 Groupe B/D, Facteur 12
PL.6017 Groupe E, Facteur 3,10,15,19,34
PL.6018 Groupe E1, Facteur 10
PL.6019 Groupe E2, Facteur 15
PL.6020 Groupe E4, Facteur 19
PL.6021 Groupe E3, Facteur 34
PL.6022 Groupe F, Facteur 11
PL.6023 Groupe G, Facteur 13,22,23
PL.6024 Groupe G1, Facteur 22
PL.6025 Groupe G2, Facteur 23
PL.6027 Groupe C3, Facteur 20
PL.6029 Groupe I, Facteur 16
PL.6030 Groupe J, Facteur 17
PL.6031 Groupe K, Facteur 18
PL.6032 Groupe L, Facteur 21
PL.6033 Groupe M, Facteur 28
PL.6034 Groupe N, Facteur 30
PL.6035 Groupe O, Facteur 35
PL.6036 Groupe P, Facteur 38
PL.6037 Groupe Q, Facteur 39

PL.6038 Groupe R, Facteur 40
PL.6039 Groupe S, Facteur 41
PL.6040 Vi
PL.6041 Factor 55

Antisérums H flagella polyvalent :

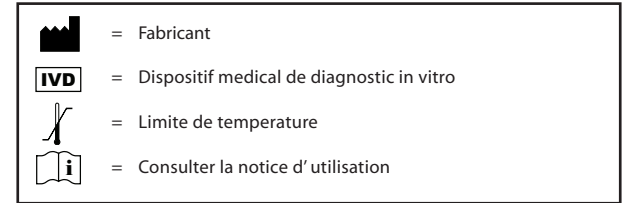
PL.6100 Polyvalent H
PL.6101 Polyvalent H Phase 2, Facteurs 1,2,5,6,7,z6

Antisérum H flagella monovalent :

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

Sérums diagnostiques rapides de *Salmonella* :

PL.6200 Sérum diagnostiques rapides de *Salmonella* 1
PL.6201 Sérum diagnostiques rapides de *Salmonella* 2
PL.6202 Sérum diagnostiques rapides de *Salmonella* 3



Ce mode d'emploi est une traduction professionnelle de la version anglaise d'origine. En cas d'ambiguïté ou de divergence flagrante, veuillez consulter le Service de soutien de Pro-Lab.