

INSTRUKCJA WYKONANIA TESTU LSP1n

ZESTAW DIAGNOTYCZNY LATEKS SALMONELLA przeznaczony jest do wykrywania i identyfikacji grupowych antygenów somatycznych pałeczek *Salmonella* w pierwotnych hodowlach bakteryjnych w podłożu seleninowo-fosforanowym (SF), we wstępnym etapie badania bakteriologicznego ukierunkowanego na wykrywanie tych drobnoustrojów.

ZESTAW PRZEZNACZONY JEST DO BADAŃ Z UŻYCIEM MATERIAŁU
POCHODZENIA LUDZKIEGO (KLINICZNEGO).

SKŁAD ZESTAWU LATEKS SALMONELLA LSP1n

Odczynnik wieloważny B-E i G	5 x 8 ml
Odczynnik grupy B	1 x 8 ml
Odczynnik grupy C ₁	1 x 8 ml
Odczynnik grupy C ₂	1 x 8 ml
Odczynnik grupy D	1 x 8 ml
Odczynnik grupy E	1 x 8 ml
Odczynnik grupy G	1 x 8 ml
Lateks kontrolny	1 x 8 ml
Antygen kontrolny grupy B-E i G	1 x 4 ml
Płytki szklane do badań	4 szt.
Pałeczki z tworzywa sztucznego	10 opak.

Butelki z odczynnikami wyposażone są w zakrętki z pipetami (zakraplaczami) umożliwiającymi dozowanie kropli o objętości 25-27 µl.

WYKONANIE ODCZYNU LATEKSOWEGO

Odczyn lateksowy wykonuje się w dwóch etapach: w pierwszym etapie badanie wykonywane jest z odczynnikami wieloważnym, w drugim etapie z odczynnikami jednoważnymi i odczynnikiem kontrolnym.

1. Przygotowanie próbki do badania

Badanie należy wykonywać z 18-20 godzinną hodowlą w pożywce SF posianą próbka badanego materiału (kał, wymaz z odbytu). Hodowlę ogrzewa się we wrzącej łaźni wodnej przez 15 minut. W przypadku przeznaczenia do wykonania testu lateksowego tylko części hodowli bakteryjnej w pożywce SF, należy przed pobraniem próbki przeznaczonej do ogrzewania, dokładnie wymieszać zawartość probówki z hodowlą. Po ogrzaniu próbka hodowli powinna być ponownie wymieszana i ostudzona do temperatury pokojowej.

Do odczynu lateksowego należy przeznaczyć płyn z nad osadu. Odczyn lateksowy można także wykonać z zawiesiną masy bakteryjnej szczepu, zebranej z podłoża stałego, najlepiej agaru odżywczego, po jej ogrzaniu we wrzącej łaźni wodnej przez 15 minut.

2. Przebieg badania

Odczynniki lateksowe należy wyjąć z chłodni na okres wystarczający do osiągnięcia temperatury pokojowej, a bezpośrednio przed użyciem dokładnie wymieszać przez wstrząsanie butelkami.

Na wydzielone pole szklanej płytki należy nanieść ok. 25 µl próbki badanej hodowli oraz jedną kroplę wieloważnego odczynnika lateksowego. Po dokładnym wymieszaniu reagentów pałeczką z tworzywa sztucznego, należy umieścić płytkę w wilgotnej komorze na wytrząsarce i kołysać przy 120 cyklach/minutę przez 10 minut. Odczytać wynik testu.

Do dalszego badania przy użyciu odczynników jednoważnych przeznaczają się tylko te próbki hodowli, w których w pierwszym etapie uzyskano dodatnią reakcję z odczynnikami wieloważnymi. Każdą taką próbkę należy nanieść w objętości po 25 µl na siedem pól płytki, a następnie dodać kolejno po kropli odpowiedniego odczynnika jednoważnego: B, C₁, C₂, D, E, G oraz lateksu kontrolnego. Po dokładnym wymieszaniu reagentów pałeczkami z tworzywa sztucznego należy umieścić płytkę w wilgotnej komorze na wytrząsarce i kołysać przy 120 cyklach/minutę przez 10 minut. Odczytać wynik testu. Dopuszczalne jest kołysanie płytki w ręku.

Uwagi:

- przy dozowaniu odczynników diagnostycznych i lateksu kontrolnego nie dotykać końcówką zakraplacza badanych hodowli naniesionych na płytkę
- każda pałeczka-mieszadło może być użyta tylko jeden raz
- szklane płytki po badaniu należy dokładnie umyć w wodzie z detergentem, splukać i wytrzeć do sucha

WYNIKI I ICH INTERPRETACJA

Wyniki testu należy odczytywać przy użyciu lupy (5 x) według umownej 6- punktowej skali:

- 5 – gruboziarnista aglutynacja; aglutynaty rozmieszczone w całej kropli lub tylko na jej obwodzie,
- 4 – intensywna, drobnogrudkowa aglutynacja 100% cząstek lateksu, tło przejrzyste,
- 3 – drobnogrudkowa aglutynacja 50% cząstek lateksu, w kropli dostrzegalne lekkie zmętnienie,
- 2 – aglutynacja mniej niż 50% cząstek lateksu, wyraźne zmętnienie kropli,
- 1 – ślady reakcji zlepnej,
- 0 – kropla jednolicie mętna; reakcja ujemna.

Za dodatnią przyjmuje się reakcję ocenianą co najmniej na 3 punkty, która występuje w czasie do 10 minut mieszania próbki z odczynnikami diagnostycznym.

Za diagnostycznie znamiennej, świadczącej o obecności w badanej próbce somatycznych antygenów pałeczek *Salmonella* należących do danej grupy, przyjmuje się wystąpienie dodatniej reakcji zlepnej z odczynnikami wieloważnymi i jednym z grupowych odczynników jednoważnych przy braku reakcji z odczynnikiem kontrolnym.

Wystąpienie reakcji z odczynnikami kontrolnym wyklucza możliwość interpretacji wyniku badania danej próbki w odczynie lateksowym.

Diagnostycznie znamienne reakcje badanej próbki z więcej niż jednym odczynnikiem jednoważnym mogą wskazywać na obecność w badanej próbce pałeczek *Salmonella* należących do różnych grup serologicznych. W takim przypadku w toku dalszego prowadzonego badania bakteriologicznego należy zwiększyć liczbę kolonii izolowanych w kierunku pałeczek *Salmonella*.

Wystąpienie dodatniej reakcji zlepnej tylko z odczynnikami wieloważnymi przy braku reakcji z którymkolwiek z odczynników jednoważnych należy uznać za wynik ujemny, w badaniu ukierunkowanym na wykrycie somatycznych antygenów pałeczek *Salmonella* należących do grup B, C₁, C₂, D, E, G.

Stwierdzenie obecności jakiegokolwiek grupowego antygeny pałeczek *Salmonella* w danej próbce nie upoważnia do wydania wyniku o wyhodowaniu pałeczek *Salmonella* i wymaga prowadzenia dalszego badania diagnostycznego w tym kierunku.

CZUŁOŚĆ I SWOISTOŚĆ TESTU

1. Czulość testu

- Diagnostyczny odczynnik wieloważny dla grup B – E i G wykrywa somatyczne antygeny pałeczek *Salmonella* z grup B, C₁, C₂, D, E, G w zawiesinach gładkich szczepów o zawartości 4×10^7 komórek/ml i wyższej.
- Diagnostyczne odczynniki jednoważne B, C₁, C₂, D, E, G wykrywają homologiczne antygeny somatyczne pałeczek *Salmonella* w zawiesinach odpowiednich gładkich szczepów o zawartości 4×10^7 komórek/ml i wyższej.

2. Swoistość testu

- Diagnostyczne odczynniki jednoważne B, C₁, C₂, D, E, G nie reagują krzyżowo z heterologicznymi antygenami somatycznymi pałeczek *Salmonella* w zawiesinach odpowiednich gładkich szczepów o zawartości 6×10^8 komórek/ml i mniejszej.
- Kontrolny odczynnik lateksowy nie aglutynuje z zawiesinami gładkich szczepów pałeczek *Salmonella* o zawartości 6×10^8 komórek/ml i mniejszej. Nie aglutynuje z antygenem kontrolnym.
- Antygen kontrolny aglutynuje z: diagnostycznym odczynnikiem wieloważnym dla grup B– E i G, diagnostycznymi odczynnikami jednoważnymi grupy B, C₁, C₂, D, E, G, nie aglutynuje z kontrolnym odczynnikiem lateksowym
- Diagnostyczny odczynnik wieloważny dla grup B – E i G i diagnostyczne odczynniki jednoważne B, C₁, C₂, D, E, G w rzadkich przypadkach mogą reagować ze szczepami innych pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* posiadającymi niektóre epitopy antygenowe identyczne jak pałeczki *Salmonella* (np. pałeczki *Citrobacter freundii*).

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Odczynniki wchodzące w skład zestawu służą jedynie do diagnostyki *in vitro*.
2. Zachować środki ostrożności przewidziane przy pracy z materiałem zakaźnym.
3. Należy unikać kontaktu odczynnika ze skórą lub z błonami śluzowymi.
4. W przypadku kontaktu ze skórą lub błoną śluzową miejsce przemyć dużą ilością wody.
5. Pozostałości odczynników traktować jako odpady medyczne o kodzie 18 01 07.

UWAGI

- Aktywność odczynników lateksowych należy raz w miesiącu sprawdzać przy użyciu kontrolnego antygenu wieloważnego. Nie używać odczynników po upływie daty ważności.
- **Ponieważ niektóre serie mięsnych peptonów używanych do przygotowywania podłoża SF mogą nieswoiście reagować z odczynnikami lateksowymi, podłoże to musi być sporządzone na bazie peptonu bezmięsnego - pepton kazeinowy (tryptone).**
- Odczynniki wchodzące w skład zestawu należy przechowywać w temperaturze od +2°C do +8°C i chronić przed zamrożeniem.
- Odczynniki po zamrożeniu nie nadają się do użycia.
- Odczynniki lateksowe i antygen kontrolny wchodzące w skład zestawu zawierają 0,099 % azodyku sodu jako środka konserwującego.



CE

ZESTAW DIAGNOSTYCZNY LATEKS SALMONELLA LSP1n

Przedsiębiorstwo Wielobranżowe BIOMEX Spółka z o.o.
30-221 Kraków, ul. Agrestowa 14

DATA AKTUALIZACJI: 01.2025

DO DIAGNOSTYKI IN VITRO