

INSTRUKCJA WYKONANIA TESTU LSH5

ZESTAW DIAGNOSTYCZNY LATEKS SHIGELLA SONNEI przeznaczony jest do wykrywania i identyfikacji somatycznego antygeny pałeczek *Shigella sonnei* 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 SHIGELLA SONNEI LSH5

Zestaw LSH5

Odczynnik diagnostyczny	5 x 8 ml
Lateks kontrolny	5 x 8 ml
Antygen kontrolny	1 x 4 ml
Płytki szklane do badań	4 szt.
Pałeczki-mieszadła	10 opakowań

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

WYKONANIE ODCZYNU LATEKSOWEGO

1. Przygotowanie próbki do badania

Badanie należy wykonywać z 18-20 godziną hodowlą w pożywce SF posianą próbką 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 próbki z hodowlą.

Po ogrzaniu próbka hodowli powinna być ponownie wymieszana i ostudzona do temperatury pokojowej.

Do odczynu lateksowego należy przeznaczyć płyn z nad osadzonego osadu.

Odczyn lateksowy można także wykonać z zawiesiną masy bakteryjnej zebranej z pierwotnych hodowli na stałych podłożach wybiórczo-różnicujących: Mac Conkey'a, Levine'a, SS, XLD lub Hektoen-Agar oraz z agaru odżywczego. W tym celu należy zebrać cząstkę bakteryjną z powierzchni płytki porośniętej koloniami charakterystycznymi dla pałeczek czerwonej, unikając zbierania masy z miejsc zlewnego wzrostu i zawiesić ją w 0,5 – 1,0 ml PBS lub soli fizjologicznej. Zawiesina powinna być silnie opalizująca o gęstości nie mniejszej niż 18- 20 godzinna bulionowa hodowla pałeczek *E. coli*. Następnie zawiesinę należy ogrzać we wrzącej łaźni wodnej przez 15 min., ostudzić do temperatury pokojowej i wykonać test lateksowy w sposób opisany poniżej.

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 dwa wydzielone pola szklanej płytki należy nanieść po ok. 25 μ l próbki badanej hodowli, a następnie na jedno pole kroplę diagnostycznego odczynnika lateksowego na drugie pole kroplę lateksu kontrolnego. Po dokładnym wymieszaniu reagentów pałeczkami z tworzywa sztucznego, należy umieścić płytkę w wilgotnej komorze na wytrząsarce i kołysać przez 10 minut przy 120 cyklach/minutę. Odczytać wynik testu. Dopuszczalne jest kołysanie płytki w rękę.

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 (5x) 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 kołysania próbki z odczynnikiem diagnostycznym.

Za diagnostycznie znamiennej, świadczącej o obecności w badanej próbce somatycznego antygeny pałeczek *S. sonnei* przyjmuje się wystąpienie dodatniej reakcji zlepnej z diagnostycznym odczynnikiem lateksowym przy braku reakcji z lateksem kontrolnym.

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

Stwierdzenie obecności somatycznego antygeny pałeczek *S. sonnei* w badanej próbce hodowli nie upoważnia do wydania wyniku o wyhodowaniu pałeczek *S. sonnei* i wymaga prowadzenia dalszego badania diagnostycznego w tym kierunku.

CZUŁOŚĆ I SWOISTOŚĆ TESTU

1. Czulość testu

- Diagnostyczny odczynnik lateksowy wykrywa somatyczny antygen pałeczek *S. sonnei* w zawiesinach szczepów fazy I o zawartości 4×10^7 komórek/ml i większej.

2. Swoistość testu

- Diagnostyczny odczynnik lateksowy nie reaguje krzyżowo z heterologicznymi antygenami somatycznymi pałeczek *Salmonella* z grupy B, C₁, C₂, D, E, G, enteropatogennych pałeczek *E. coli* (EPEC) i pałeczek *E. coli* O157 w zawiesinach odpowiednich gładkich szczepów o zawartości 6×10^8 komórek/ml i mniejszej.

- Lateks kontrolny nie aglutynuje z zawiesinami szczepów *S. sonnei* fazy I o zawartości 6×10^8 komórek/ml i mniejszej. Nie aglutynuje z antygenem kontrolnym.
- Antygen kontrolny aglutynuje z diagnostycznym odczynnikiem lateksowym nie aglutynuje z lateksem kontrolnym.
- Diagnostyczny odczynnik lateksowy w rzadkich przypadkach może reagować ze szczepami innych pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* posiadającymi niektóre epitopy antygenowe identyczne jak pałeczki *S. sonnei*.

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

- Przedłużenie czasu kołysania próbki z odczynnikami lateksowymi ponad zalecane 10 minut, może prowadzić do uzyskania nieswoistych reakcji.
- Aktywność odczynników lateksowych należy raz w miesiącu sprawdzać przy użyciu antygeny kontrolnego.
- **Ponieważ niektóre serie mięsnych peptonów używanych do przygotowywania podłoża SF mogą nieswoiście reagować z odczynnikami lateksowymi, podłoże to musi być sporządzone na bazie peptonu beźmięsnego - pepton kazeinowy (tryptone).**
- Odczynniki wchodzące w skład zestawu należy przechowywać w temperaturze od $+2^{\circ}\text{C}$ do $+8^{\circ}\text{C}$ i chronić przed zamrożeniem.
- Odczynniki po zamrożeniu nie nadają się do użycia.
- Odczynniki lateksowe i antygen kontrolny wchodzące w skład zestawu zawierają 0,099 % (w/w) azydku sodu jako środka konserwującego.



CE

ZESTAW DIAGNOSTYCZNY LATEKS SHIGELLA SONNEI LSH5

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