

Surowice *Salmonella* do aglutynacji szkiełkowej

Do diagnostyki *in vitro*

ZASTOSOWANIE

Surowice przeznaczone są do serologicznej identyfikacji Gram-ujemnych pałeczek z rodzaju *Salmonella*, wyizolowanych z materiału pobranego od pacjenta. Mogą być również stosowane w toku dochodzeń epidemiologicznych do badania żywności, wody, ścieków, oraz produktów pochodzenia zwierzęcego podejrzanych o obecność pałeczek *Salmonella* wywołujących zakażenia jelitowe.

Identyfikacji serologicznej w kierunku *Salmonella* powinny być poddane jedynie szczepy bakteryjne określone jako *Salmonella* na podstawie wyników diagnostycznych testów biochemicznych.

WYKAZ SUROWIC

Surowica *Salmonella* HM do aglutynacji szkiełkowej

Surowice anty-*Salmonella* O

Surowica *Salmonella* AO do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* BO do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* CO do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* DO do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* EO do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu O4 do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu O7 do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu O9 do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu O11 do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu O15 do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu O1, 3, 19 do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu O8, 20 do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu O46 do aglutynacji szkiełkowej

Surowice anty-*Salmonella* H

Surowica *Salmonella* dla antygenu Ha do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hb do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hc do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hd do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Heh do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Henx do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hf do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hfg do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hgm do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hgp do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hh do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hi do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hk do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hlv do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hm do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hp do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hq do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hr do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Hs do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygenu Ht do aglutynacji szkiełkowej

Surowica *Salmonella* dla antygeny H_u do aglutynacji szkiełkowej
Surowica *Salmonella* dla antygeny H_v do aglutynacji szkiełkowej
Surowica *Salmonella* dla antygeny H_w do aglutynacji szkiełkowej
Surowica *Salmonella* dla antygeny H_z do aglutynacji szkiełkowej
Surowica *Salmonella* dla antygeny H_z6 do aglutynacji szkiełkowej
Surowica *Salmonella* dla antygeny H₁, 2, 5 do aglutynacji szkiełkowej
Surowica *Salmonella* dla antygeny H₂ do aglutynacji szkiełkowej
Surowica *Salmonella* dla antygeny H₅ do aglutynacji szkiełkowej
Surowica *Salmonella* dla antygeny H₆ do aglutynacji szkiełkowej
Surowica *Salmonella* dla antygeny H₇ do aglutynacji szkiełkowej
Surowica *Salmonella* dla antygeny Vi do aglutynacji szkiełkowej

SKŁAD I WŁAŚCIWOŚCI

Surowice odpornościowe królicze zawierają przeciwciała przeciw określonym antygenom szczepów *Salmonella*. Surowice są absorbowane, rozcieńczane fizjologicznym roztworem chlorku sodu.

Jako środek konserwujący surowice zawierają tiomersal w ilości nie przekraczającej 0,01%.

Identyfikacja polega na ustaleniu struktury antygenowej badanego szczepu. Opiera się na wykrywaniu antygenów somatycznych „O”, antygenów rzęskowych „H” i antygeny powierzchniowego „Vi”.

Antygeny wyizolowanych szczepów *Salmonella* reagują ze swoistą surowicą odpornościową.

W wyniku reakcji antygenów somatycznych z przeciwciałami swoistymi powstaje aglutynacja grudkowa, wynikiem reakcji antygenów rzęskowych „H” z przeciwciałami swoistymi jest aglutynacja obłoczkowa.

MATERIAŁ KLINICZNY DO BADANIA

- 18–20 godzinne hodowle szczepów na podłożach stałych
- 3% roztwór NaCl

Materiały i urządzenia do wykonania testu przygotowane przez użytkownika testu

- odfuszczone szkiełka podstawowe do aglutynacji
- ciemna płytka stanowiąca tło aglutynacji
- eża; szklana lub plastikowa, jałowa bagietka

SPOSÓB UŻYCIA

Przygotowanie surowic diagnostycznych

- surowice doprowadzić do temperatury pokojowej (18°C–25°C)
- w przypadku zmętnienia surowice odwirować

Wykonanie odczynu

Na odfuszczonym szkiełku podstawowym umieścić kroplę 3% roztworu NaCl.

Wyżarzoną i ostudzoną eżą lub jałową bagietką pobrać szczep z podłoża i umieścić obok kropli NaCl. Szczep rozetrzeć na szkiełku i połączyć z roztworem NaCl.

Kołyszając lekko szkiełkiem ruchem kołowym przez 3 minuty obserwować wynik reakcji.

Zawiesina powinna pozostać homogenna. Wystąpienie aglutynacji wskazuje na to, że badany szczep jest w fazie R (szczep szorstki) i nie nadaje się do identyfikacji serologicznej w odczynie aglutynacji szkiełkowej.

Do dalszej identyfikacji przeznaczyć tylko szczepy, które nie aglutynują w 3% roztworze NaCl.

Oznaczenie przynależności szczepu do rodzaju *Salmonella* (przy użyciu surowicy HM)

Na odfuszczonym szkiełku podstawowym umieścić kroplę surowicy HM. Wyżarzoną i ostudzoną eżą lub jałową bagietką pobrać szczep z podłoża i umieścić obok kropli.

Rozetrzeć szczep na szkiełku i połączyć z surowicą tak, aby powstała jednolita zawiesina.

Kołysząc lekko szkiełkiem ruchem kolistym przez 3 minuty obserwować wynik reakcji (aglutynacja jest lepiej widoczna, jeśli wynik reakcji obserwuje się nad ciemnym tłem). Dodatni wynik reakcji z surowicą HM pozwala nam zaliczyć badany szczep do rodzaju *Salmonella*.

Dalsze typowanie, umożliwiające zaliczenie badanego szczepu do jednej z pięciu najczęściej występujących grup w klasyfikacji wg Kauffmanna-White'a, należy prowadzić z surowicami grupowymi AO, BO, CO, DO, EO oraz z surowicą dla antygenu Vi.

Zakwalifikowanie badanego szczepu do grupy serologicznej wg Kauffmanna-White'a AO, BO, CO, DO, EO

Na odłuszczonych szkiełkach podstawowych nakropić po jednej kropli każdej z pięciu surowic grupowych: AO, BO, CO, DO, EO. Obok każdej kropli umieścić szczep pobrany z badanej hodowli. Połączyć szczep kolejno z wszystkimi surowicami tak, aby powstały homogenne zawiesiny. Kołysząc lekko szkiełkiem ruchem kolistym przez 3 minuty obserwować wynik reakcji (aglutynacja jest lepiej widoczna, jeśli wynik reakcji obserwuje się nad ciemnym tłem).

Dodatni wynik reakcji z jedną z pięciu surowic grupowych AO, BO, CO, DO, EO pozwala określić grupę serologiczną, do której należy badany szczep; w dalszym toku postępowania identyfikacyjnego należy określić skład antygenowy szczepu przy pomocy surowic zawierających przeciwciała przeciwko zespołom antygenów lub pojedynczym antygenom.

W przypadku ujemnego wyniku reakcji z każdą z surowic grupowych, należy wykonać odczyn aglutynacji z surowicą dla antygenu Vi. W razie dodatniego odczynu z surowicą dla antygenu Vi, badany szczep należy zawiesić w roztworze fizjologicznym NaCl, ogrzewać przez 30 minut we wrzącej łaźni wodnej i powtórnie wykonać odczyn aglutynacji z surowicami grupowymi.

W przypadku dodatniego odczynu z surowicą Vi i ujemnego odczynu z surowicami grupowymi badany szczep należy przesłać do Ośrodka Referencyjnego do identyfikacji.

Określenie serotypu badanego szczepu

Na odłuszczonych szkiełkach podstawowych nakropić odpowiednio:

- kroplę surowicy O4, gdy badany szczep zakwalifikowano do grupy serologicznej BO
- po jednej kropli surowicy O7 i O8,20, gdy badany szczep zakwalifikowano do grupy serologicznej CO
- po jednej kropli surowicy O9 i O46, gdy badany szczep zakwalifikowano do grupy serologicznej DO
- po jednej kropli surowicy O15; O1,3,19, gdy badany szczep zakwalifikowano do grupy serologicznej EO

Obok każdej kropli umieścić szczep pobrany z badanej hodowli. Odczyn aglutynacji wykonać analogicznie jak w przypadku surowic grupowych. Obserwować wynik reakcji uwzględniając charakter aglutynacji.

Dodatni wynik reakcji z surowicą O4 potwierdza przynależność badanego szczepu do grupy BO.

Dodatni wynik reakcji z surowicą O7 lub O8,20 potwierdza przynależność badanego szczepu do grupy CO.

Dodatni wynik reakcji z surowicą O9 i/lub O46 potwierdza przynależność badanego szczepu do grupy DO.

Dodatni wynik reakcji z surowicami O15 i/lub O1,3,19 potwierdza przynależność badanego szczepu do grupy EO.

W dalszym toku postępowania identyfikacyjnego, w celu określenia serotypu badanego szczepu należy określić skład antygenowy szczepu przy pomocy surowic zawierających przeciwciała przeciwko antygenom rzęskowym, zgodnie z tabelami klasyfikacji wg Kauffmanna-White'a.

Odczyn aglutynacji wykonać jak w przypadku surowic dla antygenów somatycznych uwzględniając charakter aglutynacji.

ODCZYT I INTERPRETACJA WYNIKÓW

Odczytu aglutynacji dokonać wg następującej skali:

- ++++ obecne liczne aglutynaty rozmieszczone w całej zupełnie przejrzystej kropli lub tylko na jej obwodzie
- +++ obecne liczne aglutynaty rozmieszczone w całej przejrzystej kropli
- ++ obecne drobne aglutynaty rozmieszczone w całej półprzejrzystej kropli
- + obecne drobne aglutynaty na obrzeżu kropli, kropla mlecznobiała
- (-) brak aglutynatów, kropla mlecznobiała

Wynik + nie pozwala na ustalenie rozpoznania.

Za dodatni wynik reakcji, **który pozwala na ustalenie rozpoznania**, uznaje się wystąpienie aglutynacji określonej co najmniej na ++.

Brak aglutynacji – ujemny wynik reakcji.

Dodatni wynik reakcji z surowicą HM wskazuje na obecność pateczek *Salmonella*.

Dodatni wynik reakcji z surowicami grupowymi AO, BO, CO, DO, EO pozwala zaliczyć badany szczep do grupy serologicznej wg klasyfikacji Kauffmanna-White'a.

Dodatni wynik reakcji z wybranymi surowicami dla antygenów „O”, „H” i „Vi” pozwala ustalić skład antygenowy badanego szczepu i określić serotyp.

Ujemny wynik reakcji z surowicami grupowymi i surowicą dla antygenu „Vi”, przy jednoczesnym dodatnim wyniku z surowicą HM - należy powtórzyć odczyn aglutynacji z surowicą HM. Ponowne wystąpienie aglutynacji z surowicą HM świadczy o nieswoistości reakcji, a wynik traktuje się jako ujemny.

W przypadku trudności z identyfikacją badanego szczepu należy skontaktować się z Krajowym Ośrodkiem *Salmonella*.

ZAWARTOŚĆ OPAKOWANIA

– 1 butelka po 5 ml z zakraplaczem

– instrukcja używania

Opakowanie wystarcza na wykonanie ok. 100–120 oznaczeń.

PRZECHOWYWANIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Przechowywać w lodówce (2°C–8°C).

Chronić przed światłem.

W przypadku zmętnienia surowicę odwirować.

Nie stosować po upływie terminu ważności zamieszczonego na opakowaniu.



WYTWÓRCA

Instytut Biotechnologii Surowic i Szczepionek

BIOMED Spółka Akcyjna

Al. Sosnowa 8

30-224 Kraków

Tel.: +48 12 37 69 200

Fax: +48 12 37 69 205

e-mail: biomed@biomed.pl

Data aktualizacji instrukcji używania: 2014-05