

Salmonela Total kit

Diagnostická reagentie pro stanovení protilátek proti salmonele v lidském séru pro Widalovi a Weil-Felixovi testy.

REF



409037 8 x 100 testů + 2 kontroly
 411037 8 x 100 testů

Obsah: 1 x 5 mL Salmonella paratyphi AH
 1 x 5 mL Salmonella paratyphi AO
 1 x 5 mL Salmonella paratyphi BH
 1 x 5 mL Salmonella paratyphi BO
 1 x 5 mL Salmonella paratyphi CH
 1 x 5 mL Salmonella paratyphi CO
 1 x 5 mL Salmonella typhi H
 1 x 5 mL Salmonella typhi O
 1 x 1 mL Polyvalentní pozitivní kontrola (pouze 409037)
 1 x 1 mL Polyvalentní negativní kontrola (pouze 409037)

Pouze pro profesionální in vitro diagnostické použití.

PARAMETRY TESTU

Metoda Bakteriální aglutinace
 Životnost 36 měsíců od data výroby
 Skladování 2-8°C

ÚČEL POUŽITÍ

Kit Salmonela total se používá pro kvalitativní a semi-quantitativní stanovení protilátek proti salmonele v lidském séru pro Widalovi a Weil-Felixovi testy.

DIAGNOSTICKÝ VÝZNAM

K diagnostice horečkových nemocí je možné přistupovat buď izolací mikroorganismů z krve, moči nebo stolice nebo titrací specifických protilátek, somatických (O) nebo flagelárních (H). Stanovení těchto protilátek tvoří základ dlouho zavedeného Widalova testu. Tento test udává, že sérum s vysokými hladinami aglutinujících protilátek proti O a H >1/100 poukazuje na infekci těmito mikroorganismy.

Tyto produkty jsou určeny pro použití jako vitro diagnostické prostředky pro stanovení protilátek proti různým bakteriálním patogenům pomocí proužkové nebo zkumavkové aglutinační metody. Reagentie jsou obarvené, mrtvé a standardizované suspenze patogenních bakterií dodávané v pohodlných kapátkových láhvích pro jednoduché použití. Pouze pro profesionální použití.

PRINCIP TESTU

Bakteriální antigenní test je proužkový a zkumavkový aglutinační test pro kvalitativní a semi-quantitativní stanovení protilátek proti salmonele v lidském séru. Reagentie, standardizovaná suspenze mrtvých a obarvených bakterií, aglutinuje po smíchání se vzorky obsahující homologní protilátky.

SLOŽENÍ REAGENCIE

Bakteriální antigeny: Suspenze salmonel v glycinovém pufru, pH 8.2.
 Konzervant
 Kontroly: Zvířecí sérum, konzervant

POTŘEBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

- Mechanický rotátor nastavitelný na 80 – 100 r.p.m.
- Inkubátor na 37°C, vortexový mixer, pipety 50 µL

PŘÍPRAVA REAGENCIE

Antigenní suspenze: Připravená k použití. Před použitím musí být jemně promíchána. Vialky držte vždy ve vertikální poloze. Pokud dojde ke změně polohy, vialku jemně promíchejte pro rozpuštění agregátů, které by mohly být přítomny.
 Kontroly: Připravené k použití. **Znehodnocení reagentie:** Přítomnost částic a shluků.

STABILITA A SKALDOVÁNÍ

Vialky držte vždy ve vertikální poloze. Pokud dojde ke změně polohy, vialku jemně promíchejte pro rozpuštění agregátů, které by mohly být přítomny.
 Kontroly: Připravené k použití. **Znehodnocení reagentie:** Přítomnost částic a shluků. Všechny složky kitu jsou stabilní do data expirace uvedeného na označení, pokud jsou skladovány při 2-8 °C. chraňte před světlem a kontaminací. Nezamrazujte.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- V některých geografických oblastech s vysokou prevalencí febrilních protilátek se před vykonáním testu doporučuje zředění vzorku ¼ roztokem NaCl 9 g/L.
- Postup inkubace může být urychlen následovnou inkubací:
 - Somatické (O) antigeny: 48-50°C po dobu 4 h a –flagelární (H) antigeny: 48-50°C po dobu 2 h.
- Samostatný pozitivní výsledek má menší význam jako odhalení rostoucího nebo klesajícího titru protilátek jako důkazu infekce. Klinická diagnóza by neměla být učiněna na základě zjištění jednoho výsledku testu ale měla by spájet jak klinické tak i laboratorní údaje.
- Somatická reakce (O) je charakterizována hrubou, kompaktní aglutinací, která zvykne být těžko rozpílitelná, zatímco flagelární (H) má charakteristickou volnou, vločkovou aglutinaci.

ODBĚR A STABILITA VZORKU

- Stabilita: Při 2-8 °C 2 dny
 Při -20 °C 6 týdnů
- Sérum Odeberte vzorek žilové krve pacienta, nechte vzniknout sraženinu a ustoupit. Centrifugujte vysrážený vzorek krve a odeberte čiré sérum. Jsou potřebné čerstvé vzorky séra.

Pro testování nepoužívejte hemolyzované, kontaminované nebo lipemické vzorky, protože to může negativně ovlivnit výsledky.

Rozmražené vzorky musí být před měřením promíchány. Vzorky opakovaně nezmrázujte, protože to způsobuje nesprávné výsledky.

POSTUP TESTU

A. Proužková aglutinační metoda (kvalitativní test)

1. Reagentie a vzorky přiveďte na pokojovou teplotu. Při nízkých teplotách může být snížena citlivost testu.
2. Umístěte 50 µL vzorku pro testování a 1 kapku každé kontroly do samostatných kroužků na proužkovém testu.
3. Antigenní vialku před použitím důkladně promíchejte nebo použijte vortexový mixer. Přidejte 1 kapku (50 µL) antigenu ke každému kroužku vedle vzorku pro testování.
4. Zamíchejte jednorázovým míchadlem a rozeste po celé ploše kroužku.
5. Proužek umístěte na mechanický rotátor při 80 – 100 r.p.m. na 1 minutu.

B. Proužková aglutinační metoda (titrace)

1. Pomocí mikropipety naneste 80, 40, 20, 10 a 5 µL nefeděného séra do samostatných kroužků na proužkovém testu.
2. Naneste 1 kapku (50 µL) antigenu ke každému kroužku vedle vzorku pro testování.
3. Zamíchejte jednorázovým míchadlem a rozeste po celé ploše kroužku.
4. Proužek umístěte na mechanický rotátor při 80 – 100 r.p.m. na 1 minutu.

C. Zkumavková aglutinační metoda

1. Připravte sadu zkumavek pro každý vzorek následovně:

| Ředění | 1/20 | 1/40 | 1/80 | 1/160 | 1/320 | 1/640 | ... |
|-----------------|------|------|------|-------|-------|-------|------------------|
| Vzorek (µL) | 100 | - | - | - | - | - | ... |
| NaCl 9 g/L (mL) | 1.9 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | ... |
| | 1 mL | 1 mL | 1 mL | 1 mL | 1 mL | 1 mL | 1 mL zlikvidujte |

2. Připravte 2 zkumavky pro pozitivní a negativní kontrolu: 0.1 mL kontroly + 0.9 mL NaCl 9 g/L.
3. Přidejte 1 kapku (50 µL) antigenní suspenze do každé zkumavky.
4. Důkladně promíchejte a inkubujte zkumavky při 37 °C 24 hodin.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Proužková aglutinační metoda

Makroskopicky vyhodnotte přítomnost nebo nepřítomnost shluků během 1 minuty od vybrání proužku z rotátoru porovnáním výsledku testu s kontrolními séry. Reakce získané v proužkové titrační metodě jsou zhruba odpovídající těm, ke kterým by došlo v zkumavkovém testu s ředěními séra 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 a 1/320. Pokud byla nalezena reakce, doporučuje se jí potvrdit a stanovit titer zkumavkovým testem.

Zkumavkový aglutinační test

Makroskopicky vyhodnotte aglutinační vzor a výsledky porovnejte s výsledky všech kontrolních zkumavek. Pozitivní kontrola by měla poskytovat částečnou nebo úplnou aglutinaci. Negativní kontrola by neměla vykazovat viditelné shluky.

Částečná nebo úplná aglutinace s variabilním stupněm vyčefení supernatantu se zaznamenává jako pozitivní. Titr séra je definován jako nejvyšší ředění vykazující pozitivní výsledek.

KONTROLA KVALITY

Pozitivní a negativní kontroly jsou doporučeny pro sledování činnosti postupu, a také jako porovnávací obrazec pro lepší interpretaci výsledků. Všechny výsledky odlišující se od výsledku negativní kontroly budou považovány za pozitivní.

CHARAKTERISTIKY ČINNOSTI

Neinterferují bilirubin (20 mg/dL), hemoglobin (10 g/L), lipidy (10 g/L) a revmatoidní faktory (300 IU/mL).
 Salmonela: Titry $\geq 1/80$ (O protilátek) a $\geq 1/160$ (H protilátek) a indikují současnou infekci. Titr menší jako 1/160 by neměl být považován za významný. Hladina „normálních“ aglutininů proti těmto organismům se v různých zemích a různých komunitách mění. Doporučuje se, aby si každá laboratoř zavedla vlastní referenční rozsah.

NÁVAZNOST

Neexistuje žádná mezinárodní reference pro standardizaci citlivosti těchto reagentů. Z tohoto důvodu byla zavedena interní kontrola obsahující zvířecí sérum s protilátkami proti salmonelám a byla titrována komerčními reagenty certifikované kvality.

LIMITACE

- Falešně negativní výsledky je možné získat při nemoci v počátku, imunitní neodpovídatosti a při antibiotické léčbě (somatické),

LIKVIDACE ODPADU

Držte se prosím místních požadavků.

LITERATURA

1. Edward J Young. Clinical Infectious Diseases 1995; 21: 283-290.
2. Coulter JBS. Current Pediatrics 1996; 6: 25-26.
3. David A et al. Current Opinion in Infectious Diseases 1994; 7: 616-623.
4. David R et al Current Opinion in Infectious Diseases 1993; 6: 54-62.
5. Bradley D Jones. Annu Rev Immunol 1996; 14: 533-61.

