

5. Przed użyciem należy upewnić się, że płytka podstawowa do aglutynacji jest czysta i sucha.

PRZECHOWYWANIE I OKRES WAŻNOŚCI PRODUKTU

Test Microscreen® Legionella nie będący w użyciu należy przechowywać w temperaturze 2-8°C. Nie należy używać testu po przekroczeniu daty ważności produktu, wydrukowanej na etykiecie pudełka.

PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Kolonie wyhodowane na płytkach z selektywnymi podłożami agarowymi mogą być badane z użyciem testu Microscreen® Legionella. Kolonie pobierane do testu powinny charakteryzować się morfologią przypominającą Legionella.

PROCEDURA

Kontrola jakości:

W przypadku każdorazowego użycia testu należy przeprowadzić poniższe kontrole.

1. Kontrola Odczynników: Delikatnie zamieszać Odczynniki lateksowe testu Microscreen® (M45a, M45b), a następnie nanieść po jednej kropli każdego z nich do oddzielnych studzienek na płycie podstawowej do aglutynacji. Do każdej z kropli odczynników lateksowych dodać kroplę roztworu soli fizjologicznej (M40). Za pomocą bagietek, oddzielnych dla każdej studzienki, dokładnie wymieszać odczynniki lateksowe i roztwór soli fizjologicznej, rozprowadzając ciecz po całej powierzchni każdej ze studzienek. Delikatnie kołysać płytką podstawową przez 2 minuty i obserwować czy zachodzi aglutynacja. Jeżeli aglutynacja jest widoczna, oznacza to, że co najmniej jeden z odczynników jest zanieczyszczony i w takim wypadku należy zastosować nowy zestaw testowy.
2. Kontrola pozytywna: Nanieść jedną kroplę Kontroli pozytywnej (M45c) do jednej ze studzienek na płycie podstawowej do aglutynacji. Delikatnie zamieszać Odczynnik testu 1 (M45a), a następnie dodać jedną kroplę do tej samej studzienki. Nie należy dopuścić do fizycznego kontaktu kropiemiernia z kontrolą pozytywną. Całość wymieszać za pomocą bagietki, a następnie kołysać delikatnie płytką przez 2 minuty i obserwować czy zachodzi aglutynacja. Powinna być widoczna aglutynacja wskazująca na pozytywny wynik. Powyższe czynności należy powtórzyć dla Odczynnika testu 2-15 (M45b). Ponownie powinien być widoczny pozytywny wynik. Jeżeli z którymkolwiek z odczynników lateksowych nie zachodzi aglutynacja, należy zastosować nowy zestaw testowy.
UWAGA: Natężenie reakcji z Kontrolą pozytywną może być inne dla Odczynnika testu 1 i dla Odczynnika testu 2-15. (patrz ZASADA DZIAŁANIA TESTU powyżej)

Procedura testu:

1. Nanieść po 1 kropli izotonicznego roztworu soli fizjologicznej (M40) do każdej z dwóch studzienek na płycie podstawowej do aglutynacji.
2. Za pomocą ezy bakteriologicznej pobrać kilka kolonii przypominających Legionella z płytki z podłożem selektywnym i zrobić gęsty, równomierny rozsmaz obok każdej kropli soli fizjologicznej na płycie.
3. Zmieszać kolonie bakterii z solą fizjologiczną aż do uzyskania gęstej, jednorodnej zawiesiny, rozprowadzając ciecz na całej powierzchni studzienki.
4. Delikatnie kołysać płytką przez okres do 2 minut i obserwować czy zachodzi aglutynacja lub powstawanie grudek. Jeżeli zawiesina pozostaje jednorodna, przejść do punktu 7. Jeśli zawiesina jest „włóknista” lub „grudkowata” (często spowodowana przez stare i/lub śluzowate hodowle) wykonać następujące czynności:
5. Dodać 0,5ml 0,85% izotonicznego roztworu soli fizjologicznej do szklanej probówki. Sporządzić jednorodną, mętną zawiesinę organizmów pobranych z płytki z podłożem selektywnym.
6. Gotować zawiesinę przez 5 minut. Schłodzić do temperatury pokojowej. Nanieść po 30 µl gotowanej zawiesiny do każdej z dwóch studzienek na płycie podstawowej do aglutynacji.

7. Delikatnie zamieszać każdy z Odczynników lateksowych (M45a, M45b) w celu otrzymania jednorodnej zawiesiny.
8. Dodać jedną kroplę Odczynnika testu 1 do jednej z zawiesin bakterierynych oraz jedną kroplę Odczynnika testu 2-15 do drugiej z zawiesin. Nie należy dopuścić do fizycznego kontaktu kropiemiernia z zawiesiną.
9. Zmieszać odczynniki i zawiesiny za pomocą czystych, oddzielnych bagietek dla każdej z kombinacji. Rozprowadzić ciecz na całej powierzchni studzienki.
10. Delikatnie kołysać płytką przez 2 minuty i obserwować czy zachodzi aglutynacja.
11. Zużyte płytki podstawowe i bagietki wyrzucić do pojemnika z odpowiednim środkiem dezynfekującym.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wskaźnikiem zajęcia reakcji aglutynacji jest widoczna agregacja cząsteczek lateksu. Wyniki otrzymane w teście Microscreen® Legionella należy interpretować następująco:

Reakcja z Odczynnikami testu 1	Reakcja z odczynnikami testu 2-15	Interpretacja
+	-	Obecne bakterie <i>L. pneumophila</i> z serogrupy 1
-	+	Obecne bakterie <i>L. pneumophila</i> z serogrup 2-15
-	-	Brak obecności bakterii <i>L. pneumophila</i> z serogrup 1-15
+	+	Możliwa niespecyficzna aglutynacja. Wynik nie rozstrzygający*

*Wzór niespecyficznego aglutynacji nie wyklucza obecności bakterii *L. pneumophila*, ale wynik należy interpretować jako nie rozstrzygający.

OGRANICZENIA METODY

1. Wyniki testu powinny być interpretowane przez lekarza w odniesieniu do wszelkich dostępnych informacji klinicznych i laboratoryjnych.
2. Reakcje dające włóknisty obraz na płycie mogą nie być w rzeczywistości pozytywne, w związku z czym wymagane są dalsze testy.
3. Stare i/lub śluzowate hodowle mogą nie dawać jednorodnych zawiesin w roztworze soli fizjologicznej i skutkować atypową aglutynacją. W takim wypadku należy je uprzednio zagotować, jak zostało to opisane w procedurze testu powyżej.
4. Test Microscreen® Legionella przeznaczony jest do identyfikacji bakterii *L. pneumophila* z serotypów 1-15 otrzymanych z hodowli na płytkach z selektywnymi podłożami agarowymi. Kolonie dające wyniki pozytywne powinny zostać posiane na selektywne podłoże hodowane bez cysteiny, w celu potwierdzenia ich przynależności do rodzaju *Legionella spp.*, na którym bakterie te wykazują niezdołność wzrostu.

CHARAKTERYSTYKA METODY

Test Microscreen® Legionella został opracowany w porównaniu ze sprawdzonym, dostępnym komercyjnie lateksowym testem aglutynacyjnym dla bakterii *L. pneumophila*. Za pomocą obydwu testów zbadano 128 izolatów bakterii *L. pneumophila*, *Legionella spp.* nie powodujących zapalenia płuc oraz bakterii potencjalnie reagujących krzyżowo.

		Microscreen® Legionella (wszystkie serogrupy)		Razem
		Pozytywne	Negatywne	
Komercyjny	Pozytywne	50*	0	50