

## Yersinia enterocolitica O testovací antigeny pro Widalovu reakci



Informace pro kvalifikované pracovníky

### Obvyklé použití

Testovací antigeny se používají při detekci existence a determinaci množství specifických aglutinujících protilátek Yersinia enterocolitica O (aglutininů) v lidském séru nebo sérech jiného původu za využití Widalovy reakce.

### Princip testu

Kvalitativní a kvantitativní bakteriální aglutinace je testována pomocí reakce antigen-protilátka (Widalova reakce) mezi Yersinia testovacím antigenem a specifickými protilátkami v séru, které vyšetřujeme. Cílem je determinovat hladinu ředění (titr) séra, ve kterém je stále ještě jasně viditelná aglutinace. Test se provádí v mikrotitrační destičce s obarveným antigenem.

### Složení

O-testovací antigeny jsou usmrcené bakterie serovaru O3, O5 nebo O9 (obarvené) ve fosfátovém pufru. Koncentrace bakterií je přizpůsobena hodnotě 10 a 15 x 10<sup>9</sup> bakterií/ml. Konzervační prostředek: Thiomersal 0,2 mg/ml

### Dostupnost výrobku

katalogové číslo

#### Obarvené testovací antigeny

Yersinia enterocolitica-O3 testovaný antigen (červený)	TS 1721
Yersinia enterocolitica-O5 testovaný antigen (zelený)	TS 1724
Yersinia enterocolitica-O9 testovaný antigen (modrý)	TS 1723

### Forma, ve které je výrobek dodáván, životnost a skladování

Obarvené testovací antigeny jsou lyofilizované. Neotevřené, originální balení skladujeme při teplotě 2-8 °C až do datumu expirace, který je uveden na obalu.

Po jejich otevření, jakmile jsou rozpuštěny ve 3 destilované vody, musí být antigeny uchovávány velmi dobře uzavřené, na tmavém místě při teplotě 2-8 °C. Za těchto podmínek jsou obarvené testovací antigeny použitelné po dobu následujících 4 týdnů.

### Upozornění a varování

Suspenze testovacího antigenu obsahuje 0,2 mg/ml thiomersalu – konzervačního prostředku. Zamezte kontaktu s kůží a sliznicemi; v případě kontaktu, opláchněte zasažené místo dostatečným množstvím vody.

### Materiál a zařízení, které není součástí tohoto balení

Fyziologický roztok fosfátového pufru (PBS, složení: 8,75 g NaCl, 1,424 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2 H<sub>2</sub>O p.a., a 0,272 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> na 1 litr destilované vody) nebo fyziologický roztok (NaCl, 9,0 g/l), MIC destičky (U dno), pipety, pipetovací špičky, vodní lázeň a inkubátor.

### Testovaný materiál a metodika

Inaktivujte sérum, které má být testováno, ve vodní lázni při teplotě 55-56 °C po dobu 30 minut.

## **Detekční reakce**

Pro detekční reakci připravte předředění pro každé inaktivované sérum pacienta v poměru 1:12,5 v PBS nebo NaCl (např. 50 µl séra + 575 µl PBS/NaCl). Naplňte 3 nebo 4 jamky MIC destičky (dno U) s 50 µl předředěného séra – každou. Pak pipetou přidejte 50 µl testovacích antigenů O3, O5 nebo O9 do každé jamky, tedy výsledné ředění séra pacienta je 1:25.

Promíchejte, přikryjte a inkubujte 16-20 hodin při 37 °C.

**Výsledky:** reakci na MIC destičce vyhodnocujte tak, že ji budete držet proti bílému pozadí. Pokud je reakce pozitivní, aglutinace se vysráží ve formě povlaku nebo tenké slupky (kůžičky). U negativní reakce, testovací obarvený antigen precipituje na dně jamky ve formě pupenu – knoflíku. V případě, že formace knoflíku je malá v porovnání s kontrolou, podržte MIC destičku ve vertikální poloze. Pokud knoflík teče, reakce by měla být vyhodnocena jako negativní.

Pokud je výsledek detekční reakce pozitivní, měl by být proveden kvantitativní protilátkový test.

## **Determinace titru**

Připravte sérii ředění inaktivovaného séra v PBS nebo NaCl v MIC destičce tak, že postupujete geometrickou řadou s faktorem 2 s počátečním ředěním 1:12,5. Naplňte jamky od druhé jamky až k poslední jamce 50 µl PBS/NaCl – každou. Pak přidejte 50 µl ředěného patientského séra (1:12,5) do první jamky a 50 µl do druhé jamky. Po zamíchání odeberte 50 µl z druhé jamky a přeneste je do třetí jamky. Analogicky pokračujte až k poslední jamce v sérii. Po zamíchání odeberte 50 µl z poslední jamky a zlikvidujte je. Pak přidejte 50 µl relevantního testovacího antigenu (suspense) do každé jamky v sérii v souladu s výsledky detekční reakce.

MIC destičku protřepejte, přikryjte a inkubujte 16-20 hodin při 37°C a reakci vyhodnoťte, jak je popsáno výše.

## **Kvalitativní kontroly**

Paralelně je třeba provádět konfirmaci validity testu, pozitivních a negativních kontrol.

### **1. Pozitivní kontroly**

#### **1.1 Kontrola schopnosti aglutinovat (screeningový test)**

Pokud chcete zkontrolovat schopnost aglutinovat testovacího antigenu, postupujte následovně. Smíchejte 50 µl jednoho z kontrolních sér Anti-Yersinia enterocolitica O3, O5 a O9 (ředění 1:12,5 v PBS/NaCl) s 50 µl každého homologického testovacího antigenu.

#### **1.2 Determinace titru**

Jako u patientského séra, připravte sérii ředění kontrolního séra Anti-Yersinia enterocolitica O3, O5 nebo O9 v PBS/NaCl. Titry kontrolního séra naleznete na nálepce lahvičky. V každém případě smíchejte 50 µl naředěného séra s 50 µl homologického testovacího antigenu (suspense).

### **2. Negativní kontroly**

#### **2.1 Kontroly séra**

Namísto testovacího antigenu, smíchejte PBS nebo NaCl s vyšetřovaným sérem a kontrolním sérem (ředění 1:12,5).

#### **2.2 Kontroly antigenu**

Namísto séra, smíchejte PBS/NaCl se suspenzí antigenu. Pokračujte s kontrolami stejným způsobem jako u samotného testu.

### **3. Hodnocení kontrol**

#### **3.1 Pozitivní kontroly**

Kontrola schopnosti aglutinovat u detekčního testu musí být pozitivní.

Při determinaci titru musí kontrolní séra dosáhnout titru, který je uveden na lahvičce (povolena odchylka jedné titrační jednotky).

### **3.2 Negativní kontroly**

Kontroly séra a kontroly antigenu musí být negativní.

#### **Interpretace výsledků**

Detekce protilátek indikuje nějaký kontakt s antigenem. Hladina titru je ovlivněna četnými faktory a může se v individuálních případech velmi lišit, tedy obecný limit titru nemůže být fixně udán.

Hodnoty **vyšší než 1:50** vyžadují u humánních vzorků další vyšetření.

V případě akutního střevního onemocnění je vyžadováno vyšetření druhého séra během 10-14 dnů. Maximální titr je dosažen obecně 1-2 týdny po vypuknutí onemocnění.

V případě přidružených imunopatologických stavů (např. artritida, Erythema nodosum) a když vezmeme v úvahu anamnestická a klinická data na počátku onemocnění a v jeho průběhu, test by měl být proveden, aby se zkontrolovala dynamika protilátky.

Hraniční hodnoty, které vykazují nulový pohyb titru při dalších testech, nemohou být důvodem k dedukci závěru.

#### **Limitace procedury**

Pokud je výsledek pozitivní, je třeba brát v úvahu možnost křížové reakce mezi serotypy *Yersinia enterocolitica* a *Brucellae*.

#### **Vysvětlení použitých symbolů**



in vitro diagnostikum



číslo šarže (LOT)



katalogové číslo



skladovací podmínky



datum expirace RRRR-MM (MM = konec měsíce)

Datum revize: 20. 8. 2013

Datum překladu: 8. 7. 2014

#### **Výrobce:**

Sifin Diagnostics GmbH

Berliner Allee 317/321

13088 Berlin

Germany

[www.sifin.de](http://www.sifin.de)

#### **Zplnomocněný zástupce výrobce v České republice:**

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Tůmova 2265/60, 616 00 Brno

IČ: 634 71 507, DIČ: CZ63471507