

Salmonella-O, OH- a H-testovací Antigeny pro Widalovu reakci



Informace pro kvalifikované pracovníky

Obvyklé použití

Testovací antigeny se používají při detekci existence a determinaci množství specifických aglutinujících protilátek Salmonella (nebo 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 Salmonella 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 je možno provádět buď ve zkumavce nebo na mikrotitrační destičce (O a OH testovací antigeny), nebo pouze ve zkumavce (H antigeny).

Složení

O, OH a H testovací antigeny jsou usmrcené suspence bakterií vybraných serovarů ve fyziologickém roztoku s 0,5% formalínem. U H testovacích antigenů je vyloučena křížová reakce s O a to selekcí vhodných výrobních kmenů. Koncentrace bakterií je přizpůsobena hodnotě 10 a 15 x 10⁹ bakterií/ml.

Dostupnost výrobku

- Salmonella Paratyphi A-O-testovací antigen (1, 2, 12)
- Salmonella Paratyphi B-O-testovací antigen (1, 4, 5, 12)
- Salmonella Paratyphi C-O-testovací antigen (6, 7)
- Salmonella Typhi O-testovací antigen (9, 12)
- Salmonella Paratyphi A-OH-testovací antigen (2, 12:a:-)
- Salmonella Paratyphi B-OH-testovací antigen (1, 4, 5, 12:b:1, 2)
- Salmonella Paratyphi C-OH-testovací antigen (6, 7:c:1, 5)
- Salmonella Typhi OH-testovací antigen (9, 12:d:-)
- Salmonella Typhimurium OH-testovací antigen (1, 4, 5, 12:i: 1, 2)
- Salmonella Enteritidis OH-testovací antigen (1, 9, 12:g, m:-)
- Salmonella H a-testovací antigen (S.Paratyphi A)
- Salmonella H b-testovací antigen (S.Paratyphi B, fáze 1)
- Salmonella H c-testovací antigen (S.Paratyphi C, fáze 1)
- Salmonella H d-testovací antigen (S.Typhi)

Velikost balení je 10 ml.

Expirace a skladování

Pokud skladujeme neotevřené, originální i otevřené balení při teplotě 2-8°C, antigeny mohou být používány až do data expirace, který je uveden na obalu. Po otevření originálních balení je třeba lahvičky zpět dobře uzavírat.

Upozornění a varování

Všechn tento materiál, obsahuje formalín, proto se vyvarujte styku s kůží a sliznicemi. V případě zasažení prosím opláchněte místo velkým množstvím vody.

Materiál a zařízení, které není součástí tohoto balení

Fyziologický roztok fosfátového pufru (PBS, složení: 8,75 g NaCl, 1,424 g Na₂HPO₄ x 2 H₂O p.a., a 0,272 g KH₂PO₄ na 1 litr destilované vody), zkumavky, MIC destičky (U dno), pipety, pipetovací špičky, vodní lázeň a inkubátor.

Testovaný materiál a metodika

Předřed'te sérum k testování v poměru 1:25 v PBS (např. 50 µl séra + 1,2 ml PBS). Pak, pro každý testovací antigen, připravte sérii ředění séra v PBS a inkubujte s naředěným (1:10) testovacím antigenem.

Testování ve zkumavce: Připravte 6 zkumavek a naplňte je 0,5 ml PBS (do každé zkumavky). Potom napipetujte 0,5 ml naředěného séra (1:25) do první zkumavky v klesající ředící linii (abyste dostali ředění 1:50). Promíchejte, pak napipetujte 0,5 ml ředění 1:50 z první zkumavky do druhé zkumavky. Analogicky pokračujte v této metodě až k 6. zkumavce diluční série zkumavek. U 6. zkumavky odpipetujte po promíchání 0,5 ml a toto množství zlikvidujte.

H-testovací antigeny jsou vhodné pouze pro provádění testů v testovacích zkumavkách.

Testování v mikrotitrační destičce: Do každé jamky destičky napipetujte 50 µl PBS. Pak, napipetujte 50 µl předředěného séra (1:25) do první jamky a v klesající ředící linii (abyste dostali ředění 1:50). Promíchejte, pak napipetujte 50 µl ředění 1:50 z první jamky A do druhé jamky B. Analogicky pokračujte v této metodě až k jamce F. U jamky F odpipetujte po promíchání 50 µl a toto množství zlikvidujte.

Salmonella-testovací antigeny musí být protřepávány opatrně a rozředěny v poměru 1:10 s PBS před jejich použitím. Pro každý test by se mělo připravovat čerstvé ředění antigenů.

Napipetujte 0,5 ml (do zkumavky) nebo 50 µl (do destičky) testovacího antigenu připraveného k použití do každého kroku ředění séra (= každá zkumavka, každá jamka). První diluční krok má konečné ředění séra 1:100.

Zkumavky/destičky protřepejte, abyste zajistili řádné promíchání vzorků a před inkubací je přikryjte. **Zkumavky inkubujte s O nebo OH antigeny po dobu 16-20 hodin ve vodní lázni při teplotě 50° C. Zkumavky s H-antigeny po dobu 4 hodin ve vodní lázni při teplotě 50° C. Destičky inkubujte po dobu 16-20 hodin při teplotě 37° C.**

Kvalitativní kontroly

Kvůli validitě testů je třeba testovat pozitivní a negativní kontroly paralelně.

1. Pozitivní kontrolní sérum

Připravte sérii ředění relevantního pozitivního kontrolního séra (viz. SIFIN nabídka) v PBS stejným způsobem jako je popsáno u testovaného séra. Titr kontrolního séra je deklarován na štítku lahvičky. Přidejte 0,5 ml suspenze antigenu připravené k použití do každé zkumavky (nebo 50 µl do každé jamky destičky).

2. Negativní kontroly

Kontrolní séra: smíchejte kontrolní sérum s PBS v poměru 1:25 namísto testovacího antigenu.

Kontrolní antigeny: smíchejte suspenze testovacího antigenu s PBS namísto séra.

Vyhodnocení

Zkumavka: Lehce protřepejte každou zkumavku (poznámka: H-aglutinace se rozbíjí velice rychle) a vyhodnoťte reakce pomocí aglutinoskopu nebo lupy (zvětšení 6x) proti tmavému pozadí.

Pozitivní: formování jasně viditelné aglutinace (granulární O aglutinace, chomáčkovitá H aglutinace).

Negativní: roztok ve zkumavce zůstává mléčně neprůhledný.

Destička: Držte si destičku nad světleným zdrojem a pouhým okem vyhodnoťte.

Pozitivní: precipitace aglutinace ve formě blanek nebo tenké kůže. Pozitivní výsledek je také v případě vzniku knoflíku pokud je signifikantně menší než kontrolní antigen a neteče nebo nepohybuje se ve chvíli, kdy držíte destičku.

Negativní: Testovací antigen precipituje na dně jamky ve formě knoflíku, který teče nebo se pohybuje do tvaru jazyka ve chvíli, kdy držíte destičku.

Titř, který se počítá, je hladina ředění séra při které byla jasně viditelná pozitivní reakce.

Zhodnocení kontrol

1. Pozitivní kontrolní sérum

Kontrolní sérum musí dosáhnout titru, který je deklarován na lahvičce (je povolena odchylka jedné titrační jednotky).

2. Negativní kontroly

Sérum a kontrolní antigeny nesmí vykazovat aglutinaci.

Interpretace výsledků

Protože hladina titru může být ovlivněna různými faktory (např. běžné O antigeny různých serovarů Salmonella, anamnestické reakce), neexistuje žádný obecný titrační limit. Hodnoty vyšší než 1:100 je třeba dále testovat. Rozhodujícím je detekce pohybu titru nejméně 2 titračních kroků ve dvou sérech (vzorku) odebrané v intervalu 10-14 dnů.

Vysvětlení použitých symbolů



in vitro diagnostikum



číslo šarže (LOT)



katalogové číslo



skladovací podmínky



datum expirace RRRR-MM (MM = konec měsíce)

Datum revize: červenec 2008

Datum překladu: srpen 2013

Výrobce:

SIFIN Institut für Immunpräparate und Nährmedien GmbH Berlin
Berliner Allee 317/321
13088 Berlin
Germany
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