

**Produkt:** **Dolfinin Chlamydia CFT bulk**  
**Antigén na diagnostiku chlamýdií s reakciou väzby komplementu (RVK)**

---

**Špecifikácia:** Biela alebo mierne nažltlá suspenzia vysoko purifikovaných buniek *Chlamydophila psittaci* v izotonickom roztoku chloridu sodného s fosfátovým tlmivým roztokom a tiomersalom ako konzervačnou látkou. Pri dlhšom státi vytvára sediment. Vzniknutý sediment možno ľahko resuspendovať. Antigén má titer 24.

**Použitie:** Pre reakciu väzby komplementu (RVK) na zistenie protilátok proti chlamýdiám v krvnom sére zvierat a ľudí, ktorí sa dostali do styku s chlamýdiami. Antigén môže detegovať protilátky aj po dlhšom období, preto je vhodný pre sérologický skrining a surveillance.

**Pracovný postup:** Pred použitím sa antigén dôkladne resuspenduje a pripraví sa pracovné riedenie 1+11 s použitím tlmivého roztoku. Možno použiť aj pracovné riedenie 1+23. Ku koncu expirácie antigénu sa doporučuje uskutočniť kontrolný pokus či obe riedenia dávajú rovnaké výsledky.

**Príprava tlmivého roztoku pre makrometódu a mikrometódu:**

V 500 ml redestilovanej, alebo Mili Q vody rozpustíme 85,0 g NaCl a 3,75 g 5,5-dietylbarbiturátu sodného. Potom rozpustíme 5,75 g kyseliny 5,5-dietylbarbiturovej, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (1,68 g) a CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (0,37 g) v 500 ml horúcej redestilovanej, alebo Mili Q vody. Zmiešame obidva roztoky, ochladíme na laboratórnu teplotu a doplníme presne do 2000 ml.

Pred použitím sa roztok riedi 1+4 s redestilovanou, resp. Mili Q vodou. Titrácia amboceptoru sa vykonáva podľa bežne používaných laboratórnych postupov.

**Titrácia komplementu:** Titrácia komplementu sa robí v prítomnosti antigénu použitého pre vlastnú titráciu v jeho pracovnom riedení 1+11 (s tlmivým roztokom). Použije metódu danú pre príslušný komplement.

**Vlastné vyšetrenie séra:** **Makrometóda:** Titrácia séra sa robí teplou metódou za použitia antigénu v pracovnom riedení 1+11, 2 MHD komplementu a 2 MHD amboceptoru. Pred vyšetrením je potrebné sérum inaktivovať pri 56 °C po dobu 30 min. Vyšetrované sérum sa riedi v tlmivom fyziologickom roztoku v rade od 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, atď. Ku každému riedeniu séra s objemom 0,1 ml sa pridá 0,1 ml antigénu (v pracovnom riedení 1+11) a 0,1 ml komplementu (2 MHD). Inkubuje sa 90 min. vo vodnom kúpeli pri 37 °C, potom sa pridá 0,2 ml hemolytického systému. Nasleduje inkubácia 30 min. vo vodnom kúpeli pri 37 °C.

**Mikrometóda:** Uskutočňuje sa na mikrotitračných platničkách typu U. Titrácia séra sa robí teplou metódou za použitia antigénu v pracovnom riedení 1+11, 2 MHD komplementu a 2 MHD amboceptoru. Pred vyšetrením je potrebné sérum inaktivovať pri 56 °C po dobu 30 min. Vyšetrované sérum sa riedi v tlmivom fyziologickom roztoku v rade od 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, atď. Ku každému riedeniu séra s objemom 25 µl sa pridá 25 µl antigénu (v pracovnom riedení 1+11) a 25 µl komplementu (2 MHD). Platničky sa inkubujú 30 min. pri 37 °C, potom sa pridá 50 µl hemolytického systému. Nasleduje inkubácia 30 min. pri 37 °C. Po inkubácii sa platničky centrifugujú a odčíta sa výsledok, alebo sa nechajú 12-24 h pri 4 °C a potom odčítavame výsledok. Pri každom stanovení sa ako kontroly použijú pozitívne a negatívne séra.

**Vyhodnotenie testu:** **Makrometóda:** ++++ = úplná zábrana hemolýzy  
+++ , ++ , + = zábrana hemolýzy v postupne klesajúcej intenzite  
- = úplná hemolýza krviniek

Titer vyšetrovaného séra udáva jeho najvyššie riedenie, ktoré ešte dáva reakciu najmenej na +++.

**Mikrometóda:** pozitívny výsledok = úplná zábrana hemolýzy (na dne jamky sa vytvorí červený „gombík“)  
negatívny výsledok = úplná hemolýza krviniek (číra jamka)

**Skladovanie:** Uchovávať na suchom a tmavom mieste pri teplote 2-8 °C.  
**Expirácia:** 1 rok od dátumu výroby.

## Titrácia komplementu\*

### Titrácia komplementu:

Titrácia komplementu sa robí v prítomnosti antigénu použitého pre vlastnú titráciu v jeho pracovnom riedení 1 + 11 pre *C. psittaci* antigén.

Titrácia sa robí podľa nasledujúcej tabuľky:

Skúmavka č.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Komplement 1 : 25 (ml)	0.20	0.16	0.14	0.12	0.10	0.08	0.07	0.06	0.04	0.02
Tlmivý roztok (ml)	0.10	0.14	0.16	0.18	0.20	0.22	0.23	0.24	0.26	0.28
Antigén (ml)	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Inkubácia 30 min. pri 37°C										
Hemolytický systém = ambo- ceptor 2 MHD + rovnaký diel 2% krvinky (ml)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Inkubácia 30 min. pri 37°C										
Riedenie komple- mentu (1MHD)	12.5	15.625	17.86	20.83	25	31.25	35.70	41.66	62.5	125
(2MHD)	6.25	7.812	8.93	10.42	12.5	15.625	17.85	20.83	31.25	62.5

\*Komplement – dodáva Dolfin spol s r.o.