

Produkt:**Dolfinin Q-fever IFA1 bulk****Antigén na diagnostiku Q horúčky s IFA 1**

Špecifikácia:

Biela suspenzia vysoko purifikovaných buniek *Coxiella burnetii* vo fáze II v izotonickom roztoku chloridu sodného s fosfátovým tlmivým roztokom a tiomersalom ako konzervačnou látkou. Pri dlhšom státi vytvára sediment. Vzniknutý sediment možno ľahko resuspendovať.

Použitie:

Pre nepriamy mikroimunofluorescenčný test (IFA) na zistenie protilátok proti *C. burnetii* v krvnom sére zvierat a ľudí, ktorí sa dostali do styku s *C. burnetii*. Antigén sa používa najmä na detekciu IgM a IgG protilátok proti *C. burnetii* FII v skorých štádiách infekcie a je veľmi užitočný pri diagnostike akútnej formy Q horúčky v endemických oblastiach.

Fixácia antigénu na sklíčko:

Sklíčko sa vyčistí ponorením do roztoku etanolu s acetónom zmiešaného 1:1 (v/v). Pred použitím sa antigén dobre resuspenduje injekčnou striekačkou. Pripraví sa 3 % suspenzia žltkového vaku v izotonickom roztoku chloridu sodného s fosfátovým tlmivým roztokom (PBS). Pripraví sa pracovné riedenie antigénu 1+4 použitím 3 % suspenzie žltkového vaku v PBS. Do každej jamky na sklíčko sa kvapne nariadený antigén, odsaje sa papierovou vatou a nechá sa zaschnúť 30 min. pri laboratórnej teplote. Sklíčko sa fixuje ponorením do acetónu na 15 min.

Pracovný postup pre IgG:

Pred použitím majú všetky reagenty laboratórnu teplotu. Vyšetrované séra sa riedia v PBS v rade od 1:25 (10 µl séra + 240 µl PBS), 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, atď. Rovnakým spôsobom sa nariaedia kontrolné séra. Nariadené séra, pozitívna a negatívna kontrola sa pridajú po 20 µl do jednotlivých jamiek na sklíčko. Sklíčko sa inkubuje 30 min. vo vlhkej komôrke pri 37 °C. Sklíčko sa premyje 2 krát po 5 min. v PBS. Opláchne sa v deionizovanej vode a vysuší pri laboratórnej teplote. Zmieša sa 50 µl Evansovej modrej s 5 ml PBS. Príslušný IgG FITC konjugát sa riedi 1:200 s nariadeným roztokom Evansovej modrej. Na každú jamku sa pridá 20 µl nariadeného IgG FITC konjugátu. Sklíčko sa inkubuje 30 min. vo vlhkej komôrke pri 37 °C. Sklíčko sa premyje 2 krát po 5 min. v PBS. Opláchne sa v deionizovanej vode a vysuší pri laboratórnej teplote. Na sklíčko sa kvapne montovacie médium a upevní krycie sklíčko. Sklíčko sa čo najskôr prezerá fluorescenčným mikroskopom pri 400 x zväčšení.

Pracovný postup pre IgM a IgA:

Pred použitím majú všetky reagenty laboratórnu teplotu. Zmieša sa 5 µl séra s 5 µl PBS a 10 µl IgG sorbentu (RF Absorbent, Dade Behring, resuspendovaný v 1,5 ml deionizovanej vody). Inkubuje sa 15 min. pri laboratórnej teplote za stáleho miešania. Pridá sa 20 µl RF Absorbentu a inkubuje sa 15 min. pri laboratórnej teplote za stáleho miešania. Pridá sa 85 µl PBS (konečné riedenie je 1:25) a zmes sa centrifuguje 9 min. pri 12000 – 15000 otáčkach. Séra opracované sorbentom sa riedia s PBS v pomere 1:1 (65 µl séra + 65 µl PBS). Urobia sa dvojnásobné riedenia až po 1:200. Pozitívna a negatívna kontrola sa opracujú sorbentom a nariaedia rovnako ako vzorky sér. Nariadené séra, pozitívna a negatívna kontrola sa pridajú po 20 µl do jednotlivých jamiek na sklíčko. Sklíčko sa inkubuje vo vlhkej komôrke pri 37 °C. Pre stanovenie IgA 30 a IgM 90 min.

Sklíčko sa premyje 2 krát po 5 min. v PBS. Opláchne sa v deionizovanej vode a vysuší pri laboratórnej teplote.

Zmieša sa 50 µl Evansovej modrej s 5 ml PBS. Príslušný IgA a IgM FITC konjugát sa riedi 1: 100 s nariadeným roztokom Evansovej modrej.

Na každú jamku sa pridá 20 µl nariadeného IgA alebo IgM FITC konjugátu.

Sklíčko sa inkubuje 30 min. vo vlhkej komôrke pri 37 °C.

Sklíčko sa premyje 2 krát po 5 min. v PBS. Opláchne sa v deionizovanej vode a vysuší pri laboratórnej teplote.

Na sklíčko sa kvapne montovacie médium a upevní krycie sklíčko.

Sklíčko sa čo najskôr prezerá fluorescenčným mikroskopom pri 400 x zväčšení.

Pri každom stanovení sa ako kontroly použijú pozitívne a negatívne séra.

Vyhodnotenie testu: Pozitívne sérum dáva v mikroskope typický fluorescenčný obraz .

Skladovanie: Antigén sa uchováva na suchom a tmavom mieste pri teplote 2 - 8 °C.

Expirácia: 1 rok od dátumu výroby.