

Produkt: **Dolfinin Q-fever CFT1 bulk**
Antigén na diagnostiku Q horúčky s RVK 1

Špecifikácia: Biela suspenzia vysoko purifikovaného a chemicky upraveného korpuskulárneho antigénu *Coxiella burnetii* 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 10.

Použitie: Pre reakciu väzby komplementu (RVK) na zistenie protilátok proti *C. burnetii* v krvnom sére zvierat a ľudí, ktorí sa dostali do styku s *C. burnetii*. Antigén sa používa na detekciu protilátok proti *C. burnetii* FII približne 10 dní po infekcii a je veľmi užitočný pri diagnostike akútnej formy Q horúčky v endemických oblastiach.

Pracovný postup: Pred použitím sa antigén dôkladne resuspenduje a pripraví sa pracovné riedenie 1+4 s použitím tlmivého roztoku. Možno použiť aj pracovné riedenie 1+9. 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, MgCl₂·6H₂O (1,68 g) a CaCl₂·2H₂O (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.

Titračia komplementu: Titračia komplementu sa robí v prítomnosti antigénu použitého pre vlastnú titráciu v jeho pracovnom riedení 1+4 (s tlmivým roztokom). Použite metódu danú pre príslušný komplement.

Vlastné vyšetrenie séra: **Makrometóda:** Titračia séra sa robí teplou metódou za použitia antigénu v pracovnom riedení 1+4, 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 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+4) 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. Titračia séra sa robí teplou metódou za použitia antigénu v pracovnom riedení 1+4, 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 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+4) 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 + 4 pre *C. burnetii* 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 Dolfín, spol. s r.o.