

# YERSINIA SEROLOGY

▽ 3 x 20

REF 63500

ANTI-YERSINIA ANTIKŪNŲ APTIKIMAS ŽMOGAUS KRAUJO SERUME SPECIMENYS



0001371 - 2022/04

**BIO-RAD**

## 1 TIKSLINIS NAUDOJIMAS

Yersinia bakterija priklauso Enterobacteriaceae šeimai. *Y. enterocolitica* ir *Y.pseudotuberculosis* sukelia įvairias ligas: gastroenteritą, artritą, kartais mazginę eritemą. Rinkinyje pateikta Yersinia antigeninė suspensija naudojama specifinių Yersinia antikūnų buvimui ar nebuvimui žmogaus serume nustatyti. Specifinių antikūnų buvimas suteikia informacijos apie Yersinia infekciją, kuri daugiausia naudojama epidemiologijos tikslais.

## 2 TESTO PAGRINDAI

Yersinijų infekcijos tyrimai - tai aptikimo ir titravimo technika, naudojant nužudytas Yersinijų suspensijas, kurios agliutinuojasi esant pacientų serumo skiediniams.

## 3 SUDĖTIS

- Išfasavimas: po 1 buteliuką, 5 ml

46 p.d.

Etiketė	Reagentas
<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3	Antigenų suspensija, Konservantas: 0,01 % timerozalis
<i>Yersinia enterocolitica</i> O:9	Antigenų suspensija, Konservantas: 0,01 % timerozalis
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> T:1	Antigenų suspensija, Konservantas: 0,01 % timerozalis

- **Laikyti:** prie +2-8°C, apsaugoti nuo tiesioginių saulės spindulių.
- **Galiojimo laikas** nurodytas ant įpakavimo, galioja tą patį laiką ir atidarius

## 4 SAUGUMO REIKALAVIMAI

Rezultatų tikslumas priklauso nuo Geros laboratorinės praktikos taisyklių laikymosi:

- Prieš naudojimą leisti reagentams pasiekti kambario temperatūrą (18- 30°C).
- Nenaudoti reagentų, kurių galiojimo laikas jau pasibaigęs.
- Naudoti išplautą distiliuotu vandeniu ir išdžiovintą stiklinę plokštelę arba pageidautina vienkartinės priemonės.
- Kiekvienam mėginiui naudoti naują pipetės antgalį.

## SVEIKATOS IR SAUGOS INSTRUKCIJOS

- Laikant reagentus, dėvėti vienkartinės pirštines.
- Nepipetuoti su burna.
- Bet kokia medžiaga, kuri tiesiogiai kontaktuoja su mėginiais, turėtų būti laikoma infekuota.
- Vengti reagentų išsiliejimo.
- Saugos duomenų lapą galima rasti svetainėje [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com).

## 5 MĖGINIAI

- 1 Serumai surenkami į sausus mėgintuvėlius.
- 2 Serumo surinkimo, paruošimo ir laikymo reikalavimai:
  - Serumai surenkami pagal rutininio darbo apsaugos reikalavimus.
  - Mėginiai turi galutinai sukrešėti prieš centrifuguojant.
  - Mėgintuvėlius laikyti sandariai uždarytus.
  - Po centrifugavimo atskiriame serumą, laikome sandariai uždarytame mėgintuvėlyje.
  - Mėginiai laikomi prie +2-8°C, jei testas bus atliktas per 24 val.
  - Laikant ilgesnį laikui, mėginiai užšaldomi iki -20°C ar mažiau.
  - Mėginiai atšildomi tik vieną kartą. Prieš naudojimą sumaišomi.
- 3 Didelių albumino ir bilirubino reikšmių įtaka tyrimui nežinoma. Nenaudoti lipeminių ar hemolizuotų mėginių.
- 4 Mėginių nekeitinti.

## 6 ATLIKIMAS

### a) REIKALINGOS PAPILDOMOS PRIEMONĖS

- 1 hemolizinių mėgintuvėlių stovas
- Hemoliziniai mėgintuvėliai (13 mm x 75mm)
- Fiziologinis tirpalas (9 % NaCl) arba fosfatinis buferis pH 7,2
- Mikropipetės ir antgaliai
- Termostatas (37°C)
- Kalibruotos pipetės

**b) KLASIKINĖ TECHNIKA**

1. Praskiedžiame serumą 1/5 fiziologiniu tirpalu arba fosfatinio buferiu pH 7,2 (0,1 serumo + 0,4 ml 9 ‰ NaCl).
2. Iš 1/5 skiedimo paruošiame suspensijas į 5 mėgintuvėlius pagal pateiktą lentelę:

MĖGINTUVĖLIAI	1	2	3	4	5	
Fiziologinis tirpalas	1 ml	1,9 ml	1 ml	1 ml	1 ml	
Tiriamasis serumas, skiestas 1/5	-	0,1 ml ➡ 1 ml	- ➡ 1 ml	- ➡ 1 ml	- ➡	1 ml išpilti
Antigenų suspensija	1 lašas	1 lašas	1 lašas	1 lašas	1 lašas	
Serumo praskiedimas	Kontrolė	1/100	1/200	1/400	1/800	

3. Sumaišome.
4. Inkubuojame prie 37°C, 24 val.
5. Inkubacinio periodo pabaigoje, mėgintuvėliuose gali būti stebima agliutinacija. Jei agliutinacija yra lengvai matoma akimi, rezultatas yra teigiamas.

**c) GREITA CENTRIFUGAVIMO TECHNIKA**

1. Praskiedžiame serumą 1/5 fiziologiniu tirpalu arba fosfatinio buferiu pH 7,2 (0,1 serumo + 0,4 ml 9 ‰ NaCl).
2. Iš 1/5 skiedimo, paruošiame suspensijas į 5 mėgintuvėlius pagal pateiktą lentelę:

MĖGINTUVĖLIAI	1	2	3	4	5	
Fiziologinis tirpalas	1 ml	1,9 ml	1 ml	1 ml	1 ml	
Tiriamasis serumas, skiestas 1/5	-	0,1 ml ➡ 1 ml	- ➡ 1 ml	- ➡ 1 ml	- ➡	1 ml išpilti
Antigenų suspensija	1 lašas	1 lašas	1 lašas	1 lašas	1 lašas	
Serumo praskiedimas	Kontrolė	1/100	1/200	1/400	1/800	

3. Sumaišome.
4. Inkubuojame prie 37°C, 2 val.
5. Centrifuguojame 800 g, kad nusodintume bakterijų suspensiją.
6. Suspenduojame nuosėdas. Jei suspensija tampa homogeniška – rezultatas neigiamas. Jei agliutinacija lengvai matoma akimi – rezultatas teigiamas.
7. Jei rezultatas neigiamas, galima pakartoti inkubavimą 37°C per 24val. ir vėl vertiname (klasikinė technika).

**Pastaba:** agliutinatų morfologija yra sunkiau išskiriama nei tyrimą atliekant klasikine technika. Paralelii jatestė negatyvą kontrolę, ievėrojęt iepriekš aprakstīto procedūru.

**d) MIKROTITRŲ TECHNIKA**

1. Praskiesti serumo mėginius testavimui iki 1/25 su 0,1 M fosfatinio buferiu pH 7.2 (0.1 ml serumo + 2.4 ml buferio).
2. Paskirstyti 50 µL fosfatinio buferio į kiekvieną šulinėlį.
3. Paskirstyti 50 µL iš anksto praskiesto serumo į 2 šulinėlį. Homogenizuoti.
4. Paimti 50 µL iš 2 šulinėlio ir perkelti į 3 šulinėlį. Homogenizuoti.
5. Pakartoti tokią procedūrą iki įskaitant 5 šulinėlio. Išmesti 50 µL mėginio pašalinto iš 5 šulinėlio.

	1	2	3	4	5
Fosfatinis buferis	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL
Serumas yra testuojamas iš anksto praskiestas iki 1/25		50 µL	50 µL	50 µL	50 µL

išmesti 50 µL

6. Pridėti 50 µL antigeno suspensijos (gerai išmaišyti prieš naudojimą) į kiekvieną šulinėlį.

	1	2	3	4	5
Antigeno suspensija	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL	50 µL
Galutinis serumo skiedimas	kontrolė	1/100	1/200	1/400	1/800

7. Sumaišyti maišant plokštelėje 2 minutes.
8. Inkubuoti prie + 37°C per 24 valandas.
9. Pabaigoje inkubacijos periodo, sekti išvaizdą galimos agliutinacijos šulinėliuose. Jeigu agliutinacija yra lengvai matoma plika akimi, rezultatas yra teigiamas.  
Pakartoti procedūrą kiekvienai antigeno suspensijai

## 7 REZULTATŲ INTERPRETAVIMAS

Testas gali būti vertinamas kai neigiama kontrolė yra neigiama ir teigiamas kontrolinis serumas (kodas 63505) duoda nustatytą titrą (+/- 1 skiedimas).

Agliutinacijos vertinimas makroskopinis. Titrą nustatomas pagal paskutinį mėgintuvėlį, kuriame vyksta agliutinacija.

Antigenų suspensija paruošta su:	Serumo titras	Rezultatai
Yersinia enterocolitica O:3	< 200 ≥ 200	Neigiama <i>Y. enterocolitica</i> O:3 Teigiama <i>Y. enterocolitica</i> O:3
Yersinia enterocolitica O:9	< 200 ≥ 200	Neigiama <i>Y. enterocolitica</i> O:9 Teigiama <i>Y. enterocolitica</i> O:9
Yersinia pseudotuberculosis T:1	< 200 ≥ 200	Neigiama <i>Y. pseudotuberculosis</i> T:1 Teigiama <i>Y. pseudotuberculosis</i> T:1

Dažniausiai, antikūnai pasiekia didžiausią titrą praėjus dviem savaitėm nuo infekcijos pradžios (*Y. pseudotuberculosis* ūmioje fazėje) ir toliau palaipsniui mažėja. Dėl blokuotų antikūnų ir zonos fenomeno kartais gali būti gautas klaidingai neigiamas rezultatas. Dėl antigenų panašumo galimos klaidingai teigiamos reakcijos (bruceliozė).

## 8 TESTO KOKYBĖS KONTROLĖ

Yersinia suspensijos atlikimo kontrolė atliekama naudojant Yersinia kontrolinį serumą (kodas 63505).

Kontrolės serumus užskata par iepriekš atšķaidītiem līdz 1/5. Inkubācijai un nolastīšanai ievērojiet iepriekš minētos norādījumus. Novērot atbilstošās aglutinācijas.

## 9 GAMYBOS KOKYBĖS KONTROLĖ

Visi reagentai yra paruošti pagal mūsų Kokybės kontrolės sistemą, pradedant nuo recipient neparuoštos medžiagos iki galutinio komercinio produkto. Su kiekviena partija yra atliekami kokybės kontrolės testai ir į prekybą yra išleidžiamos tik tos partijos, kurios atitinka visus kriterijus. Užrašai apie kiekvienos partijos produkciją ir kontrolę yra saugomi Bio-Rad.

## 10 NUORODOS

1. BOTTONE, E.J., (1981) CRC Press, Boca Raton, Florida, 95 - 104, 125- 133.
2. BUTLER, T. (1983) Plenum Medical Book Company, New York, 168-177.
3. DANIELS, J.J.H.L.M. (1973) Contri. to Microbiol. & Immunology, 2, 210- 213.
4. MOLLARET, H.H., (1971) Path-Biol., 19, 189-205.
5. ROSE, N.R. & FRIEDMANN, H. (1980) Manual of Clin. Immunology, Washington, D.C., 474- 477.
6. VANDEPITTE, J. (1980) Tijdschrift van de BVL, 7, 151 - 161.
7. WAUTERS, G. (1973) Médecine et maladies infectieuses, 3, 434 - 441.
8. WINBLAD, S., (1980) Contrib. to Microbiol. & Immunology, 2, 474 - 478.

BIO-RAD yra „Bio-Rad Laboratories, Inc.“ prekės ženklas.

Visi čia naudojami prekių ženklai yra jų atitinkamo savininko nuosavybė.



**Bio-Rad**  
3, boulevard Raymond Poincaré  
92430 Marnes-la-Coquette - France  
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00  
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33  
www.bio-rad.com

2022/04  
0001371