



zusoes8c122bf6

Příloha č. 2 výzvy/zadávací dokumentace

Kupní smlouva

uzavřená na základě ustanovení § 2079 zákona č. 89/2012 Sb., občanský zákoník, v platném znění
(dále jen „smlouva“)

Kupující: **Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě**
Sídlem: Partyzánské náměstí 2633/7, Moravská Ostrava, 702 00 Ostrava
Zastoupen: Ing. Eduardem Ježem, ředitelem
IČ: 71009396
DIČ: CZ 71009396
Státní příspěvková organizace, nezapsaná ve veřejném rejstříku
ID datové schránky: pubj9r8
Bankovní spojení: ČNB
č. ú.: 3235761/0710

(dále jen jako „kupující“)

a

Prodávající: **OXOID CZ s.r.o.**
Sídlem/místem podnikání: Kaštanová 539/64, Brno, Brněnské Ivanovice, 602 00
Zastoupen: [redacted] obchodní manažer
IČ: 27754146
DIČ: CZ27754146
zapsán v obchodním rejstříku vedeném Krajským soudem KS Brno OR odd. C, vložka 56775
ID datové schránky: 2nzryy2
Bankovní spojení: ING Bank N.V.
č. ú.: 1000541100/3500

(dále jen jako „prodávající“)

uzavírají níže uvedeného dne tuto kupní smlouvu v souladu se zadávací dokumentací kupujícího ze dne 10. 11. 2022, a to na základě výsledku řízení na veřejnou zakázku na dodávky s názvem „**Soupravy pro stanovení bakteriálních toxinů metodou reverzně pasivní latexové aglutinace 2022**“, zadanou v rámci DNS pod názvem: Dynamický nákupní systém na dodávky diagnostik (ev. č. ve VVZ: Z2020-009105) a podle zákona č. 134/2016 Sb. o zadávání veřejných zakázek v platném znění, a nabídkou prodávajícího ze dne 24.11. 2022.

Článek I.

Předmět a účel smlouvy

1. Předmětem této smlouvy jsou průběžné opakující se dodávky souprav pro stanovení bakteriálních toxinů metodou reverzně pasivní latexové aglutinace (RPLA) (dále jen „zboží“) specifikované v Příloze č. 1 této smlouvy. Jednotlivé dílčí objednávky budou uzavírány a realizovány po dobu platnosti této smlouvy.
2. Jednotlivá plnění v rámci této smlouvy budou realizována formou dílčích objednávek ze strany kupujícího (dále jen „objednávka“).
3. V rámci jednotlivých objednávek bude prodávající dodávat kupujícímu podle jeho konkrétních potřeb zboží specifikované dle Přílohy č. 1 této smlouvy.
4. Kupující negarantuje prodávajícímu odběr předpokládaného množství v celém rozsahu uvedeného v zadávací dokumentaci.

5. Za řádně uskutečněné dodávky se kupující zavazuje zaplatit prodávajícímu řádně a včas dohodnutou úplatu (čl. V. této smlouvy).
6. Prodávající se zavazuje dodávat kupujícímu nové, nepoškozené, nepoužité zboží.
7. Prodávající se zavazuje, že bude pro kupujícího dodávat zboží v objednaném množství a jakosti.
8. Prodávající se zavazuje kdykoliv po dobu platnosti této smlouvy, na základě žádosti kupujícího ke zboží předložit bezpečnostní listy a návody k použití v českém jazyce dle zákona č. 268/2014 Sb., v platném znění, a to buď v listinné, nebo v elektronické podobě.
9. Dodání předmětu plnění zahrnuje úplnou dodávku požadovaného zboží včetně návodu k použití v českém jazyce (v listinné nebo v elektronické podobě), balného, dopravy do místa plnění, roznosu do kupujícím určených prostor v místě plnění, pojištění zboží v rámci dopravy do místa plnění, celních, daňových a případných veškerých dalších poplatků spojených s realizací předmětu této smlouvy. Povinnost prodávajícího předložit kupujícímu návod k použití v českém jazyce (v listinné nebo v elektronické podobě) je splněna, pokud tak učiní v rámci 1. dílčí objednávky každého jednotlivého druhu zboží, nebo pokud již návod k použití v českém jazyce předložil kupujícímu v nabídce v rámci veřejné zakázky, která uzavření této smlouvy předcházela. Nastane-li během trvání této smlouvy na straně výrobce změna v obsahu či rozsahu návodu k použití, je prodávající povinen předložit kupujícímu aktuální (změněný) návod k použití zboží v českém jazyce, a to bez zbytečného odkladu od provedení změny v návodu k použití. Pro doručení návodu k použití v elektronické podobě prodávající použije elektronickou adresu kupujícího uvedenou v čl. XI. odst. 11 této smlouvy
10. Prodávající je povinen při plnění smlouvy postupovat s nejvyšší možnou odbornou péčí v zájmu kupujícího.

Článek II. Objednávky v rámci smlouvy

1. Objednávka musí obsahovat minimálně označení smluvních stran, určení druhu a množství zboží a místo dodání zboží. Objednávka může obsahovat též určení doby dodání zboží. Není-li lhůta dodání určena objednávkou, sjednává se max. do 14 pracovních dnů od doručení objednávky prodávajícímu.
2. Objednávka kupujícího vyžaduje písemnou formu. Přijetí (potvrzení) objednávky prodávajícím vyžaduje taktéž písemnou formu. Písemnou formou se podle této smlouvy rozumí objednávka či její potvrzení zaslané poštou, faxem, elektronicky datovou zprávou nebo e-mailem.
3. Prodávající se zavazuje potvrdit přijetí objednávky do 2 pracovních dnů od jejího doručení. Pro případ, že prodávající nebude mít dočasně na skladě kupujícím požadované zboží (např. z důvodu zpoždění dodávky zboží ze strany výrobce), dohodly se smluvní strany, že prodávající ihned (ve lhůtě do 2 pracovních dnů) písemně o této skutečnosti vyrozumí kupujícího, kterého současně upozorní na možné prodlení s dodáním objednaného zboží podle odst. 1. V takovém případě se prodávající dohodne s kupujícím na době dodání objednaného zboží. Tato dohoda bude stvrzena písemnou akceptací. Nebo prodávající kupujícímu nabídne obdobné plnění, které svým charakterem odpovídá předmětu této smlouvy, jež je v případě písemné akceptace kupujícím schopen dodat řádně a včas.
4. Smluvní strany se dohodly, že jednotlivé dodávky zboží budou realizovány na základě konkrétních požadavků kupujícího, resp. osoby oprávněné vystavit objednávku za kupujícího, a to na dodací místa dle ust. Čl. VI. této smlouvy.
5. V případě, že prodávající nebude schopen dodávat zboží v dohodnutém množství a termínech z důvodu zásahu vyšší moci nebo všeobecných zásobovacích potíží, je prodávající povinen informovat kupujícího o uvedených skutečnostech a bude v takovém případě hledat jiné řešení dodávek zboží.

6. Všeobecnou zásobovací potíží není předem nahlášený výpadek některého zboží.

V tomto případě prodávající neprodleně informuje osobu pověřenou kupujícím o této skutečnosti a po vzájemné dohodě se pokusí zajistit odpovídající množství uvedeného zboží nebo zboží zastupitelného.

Článek III. Doba trvání smlouvy

1. Tato smlouva se uzavírá na dobu určitou, a to na **12 měsíců** ode dne účinnosti nebo do vyčerpání celkové ceny předmětu plnění uvedené v Čl. V. odst. 1. této smlouvy, podle toho, co nastane dříve.
2. Tato smlouva nabývá platnosti a účinnosti dnem jejího podpisu oběma smluvními stranami, nejdříve však okamžikem jejího uveřejnění v registru smluv podle zákona č. 340/2015 Sb., v platném znění.

Článek IV. Jakost a provedení zboží

1. Dodávané zboží musí být v bezvadném stavu a jakosti, odpovídat specifikaci dle Přílohy č. 1 této smlouvy a právním předpisům, které se na zboží vztahují.
2. Kupující je oprávněn odmítnout zboží, které není v bezvadném stavu a neodpovídá specifikaci dle Přílohy č. 1 této smlouvy nebo konkrétní objednávce.
3. Prodávající se zavazuje předat kupujícímu doklady ke zboží, které se ke zboží vztahují ve smyslu § 2087 občanského zákoníku v českém jazyce (přínejmenším kupujícím potvrzený dodací list, specifikující dodanou položku zboží, její množství a cenu).
4. Prodávající prohlašuje, že zboží splňuje veškeré podmínky zákona č. 268/2014 Sb., o zdravotnických prostředcích a je v souladu s Evropskou směrnicí 98/79 EC o IVD ZP, s Nařízením vlády ČR č. 56/2015 Sb., o technických požadavcích na diagnostické prostředky in vitro a nese označení CE.
5. Součástí balení zboží je vyznačená doba použitelnosti, číslo šarže zboží.
6. Doba použitelnosti zboží (expirace) při jeho převzetí je minimálně 6 měsíců.
7. Prodávající se zavazuje balit dodané zboží obvyklým způsobem vylučujícím jeho jakékoliv poškození či jeho znehodnocení, zachovat skladovací a transportní podmínky až do převzetí dodávky v místě plnění. Kupující se dále zavazuje uchovávat dodané zboží způsobem, který jejich výrobce stanoví pro jejich úschovu a skladování.
8. Prodávající poskytuje kupujícímu na zboží záruku za jakost ve smyslu § 2113 a násl. občanského zákoníku.

Článek V. Kupní cena a platební podmínky

1. Celková cena předmětu plnění za dobu trvání smlouvy činí **210 482,00 Kč** bez DPH (slovy dvě stě deset tisíc čtyřicet osmdesát dva korun českých). Sazba DPH činí 21 %. Celková výše DPH činí **44 201,22 Kč** (slovy čtyřicet čtyři tisíc dvě stě jeden korun českých a dvacet dva haléřů). Celková cena předmětu plnění včetně DPH činí **254 683,22 Kč** (slovy dvě stě padesát čtyři tisíc šest set osmdesát tři korun českých a dvacet dva haléřů).

2. Jednotková cena za zboží je smluvními stranami sjednána následujícím způsobem:
 - Zboží, bude po celou dobu platnosti této smlouvy poskytováno kupujícímu za jednotkové ceny uvedené v Příloze č. 2 této smlouvy. Těmito cenami jsou smluvní strany vázány a prodávající není oprávněn tyto ceny po dobu platnosti této smlouvy měnit.
 - Na základě objednávek zaplatí kupující prodávajícímu cenu, která se vypočte v rámci příslušné objednávky dle skutečného počtu skutečně dodaného zboží v rámci příslušné objednávky, tzn., dle skutečného počtu kusů konkrétního zboží a jednotkové ceny uvedené v Příloze č. 2 této smlouvy, která je konečná, neměnná a platná po celou dobu trvání smlouvy.
3. Součástí kupní ceny a dodávky je český návod pro použití zboží, balné, doprava do místa plnění, roznos do kupujícím určených prostor v místě plnění, pojištění zboží v rámci dopravy do místa plnění, celní, daňové a případné veškeré další poplatky spojené s realizací předmětu této smlouvy.
4. Ke kupní ceně prodávající účtuje daň z přidané hodnoty podle právních předpisů platných v době uskutečnění zdanitelného plnění.
5. Jednotkové ceny za zboží uvedené v Příloze č. 2 této smlouvy je možné překročit pouze v závislosti se změnou daňových předpisů týkajících se DPH.
6. V případě, že dojde na trhu (během trvání smlouvy) ke snížení jednotkové ceny za zboží uvedeného v Příloze č. 1, je prodávající povinen provést snížení jednotkové ceny uvedené v Příloze č. 2 této smlouvy na srovnatelnou úroveň. Proávající změny oznámí kupujícímu písemně.
7. Kupující zaplatí kupní cenu na základě faktury, kterou prodávající vystaví po dodání zboží na základě smlouvy. Ke každé objednávce bude vystavena samostatná faktura s uvedením čísla objednávky.
8. Faktura vystavená prodávajícím je daňovým dokladem a musí mít náležitosti daňového dokladu stanovené v zákoně č. 235/2004 Sb., o dani z přidané hodnoty, ve znění pozdějších předpisů a stanovené touto smlouvou a musí být doručena kupujícímu.
9. Faktura je splatná ve lhůtě 30 kalendářních dnů ode dne prokazatelného doručení faktury kupujícímu, není-li na faktuře vyznačena delší lhůta splatnosti.
10. Jestliže faktura nebude obsahovat náležitosti stanovené právními předpisy a touto smlouvou, nebo jestliže údaje v ní uvedené nebudou správné, budou přepisované nebo jinak opravované, je kupující oprávněn vrátit ji ve lhůtě splatnosti prodávajícímu s uvedením chybějících náležitostí nebo nesprávných údajů. V takovém případě se přeruší lhůta splatnosti a počne běžet znovu ve stejné délce doručením opravené faktury do sídla kupujícího.
11. Platba faktury se považuje za uskutečněnou odepsáním příslušné částky z účtu kupujícího.
12. V případě, že se prodávající stane nespolehlivým plátcem ve smyslu § 106a zákona č. 235/2004 Sb., o dani z přidané hodnoty, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „zákon o DPH“), je povinen o tom neprodleně písemně informovat kupujícího. Bude-li prodávající ke dni uskutečnění zdanitelného plnění veden jako nespolehlivý plátcem nebo číslo bankovního účtu prodávajícího uvedené na faktuře nebude zveřejněno způsobem umožňujícím dálkový přístup podle § 96 zákona o DPH, je kupující oprávněn část kupní ceny odpovídající dani z přidané hodnoty uhradit přímo na účet správce daně v souladu s ust. § 109a zákona o DPH. O tuto částku bude ponížena celková kupní cena a prodávající obdrží kupní cenu bez DPH. Proávající souhlasí a bere na vědomí, že shora uvedeným postupem je zcela splněn závazek kupujícího uhradit vyfakturovanou kupní cenu. V případě, že z důvodu porušení povinností vyplývajících ze zákona o DPH prodávajícím bude kupující jako ručitel vyzván příslušným správcem daně k zaplacení dlužné částky DPH za prodávajícího, a to z jakéhokoliv důvodu, a tuto dlužnou částku DPH za

něj uhradí, zavazuje se prodávající uhradit kupujícímu tuto dlužnou částku do 30 dní ode dne, kdy k tomu bude ze strany kupujícího písemně vyzván. V případě, že se prodávající stane nespolehlivým plátcem ve smyslu tohoto odstavce, má kupující současně právo od této smlouvy odstoupit s účinky do budoucna.

13. Kupující neposkytuje zálohy.

Článek VI. Místo plnění

1. Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Partyzánské náměstí 2633/7, Moravská Ostrava, 702 00 Ostrava, Centrum klinických laboratoří.

Článek VII. Nebezpečí škody na zboží a vlastnické právo

1. Prodávající prohlašuje, že zboží je výhradně jeho vlastnictvím, není předmětem zástavy ani jiného závazku a že mu není známo, že by zboží bylo zatíženo jakýmkoliv právy třetích osob.
2. Riziko ztráty, zničení nebo poškození dodávaného zboží nese do okamžiku jeho převzetí prodávající.
3. Nebezpečí škody na zboží a vlastnické právo přechází na kupujícího převzetím zboží.

Článek VIII. Odpovědnost za vady

1. Kupující je povinen vady zboží, které zjistil při prohlídce zboží (neodpovídající doba použitelnosti zboží - expirace, nekompletnost dodávky, zjevné vady zboží, atp.), oznámit prodávajícímu bez zbytečného odkladu písemně poté, kdy je zjistil, nejpozději však do uplynutí doby použitelnosti (expirace) zboží.
2. Prodávající je povinen zboží s vadami bez zbytečného odkladu po jejich oznámení vyměnit a dát kupujícímu zboží bezvadné. V případě, že to není možné, vrátí kupující prodávajícímu zboží oproti dobropisu.
3. Kupující má právo také na odstranění vad vzniklých po převzetí zboží kupujícím, pokud je prodávající způsobil porušením své povinnosti. Projeví – li se vada v průběhu 6 měsíců od převzetí zboží, má se za to, že dodaná věc byla vadná již při převzetí.
4. Kupující má právo na úhradu nutných nákladů, které mu vznikly v souvislosti s uplatněním práva z odpovědnosti prodávajícího za vady.

Článek IX. Prodlení s dodáním zboží

1. V případě prodlení prodávajícího s dodáním objednaného zboží oproti termínu dle ust. Čl. II. odst. 1 této smlouvy je prodávající povinen zaplatit kupujícímu smluvní pokutu ve výši 0,1 % z kupní ceny objednaného zboží, s jehož dodáním se prodávající dostal do prodlení, a to za každý, byť i jen započatý den prodlení. To neplatí, pokud se smluvní strany dohodnou na dodání objednaného zboží v jiném dohodnutém termínu podle Čl. II. odst. 3 této smlouvy.
2. Pro případ nekompletní dodávky, nebo není-li dodáno zboží správně podle objednávky, sjednává se smluvní pokuta ve výši 500,- Kč za každé takovéto porušení, kterou je povinen uhradit prodávající kupujícímu. Tato sankce se neuplatňuje v případě, že nekompletnost dodávky byla

kupujícím doložitelně akceptována.

3. Smluvní strany se dohodly, že závazek zaplatit smluvní pokutu nevylučuje právo na náhradu škody.

Článek X. Ostatní ujednání

1. V případě, že se kupující dostane do prodlení s úhradou faktury, má prodávající právo požadovat úrok z prodlení pouze v zákonné výši dle nařízení vlády č.351/2013 Sb., v platném znění.

Článek XI. Závěrečná ustanovení

1. Vztahy účastníků z této smlouvy se řídí příslušnými ustanoveními zákona č.89/2012 Sb., občanský zákoník ve znění pozdějších předpisů.
2. Smluvní strany na sebe přebírají nebezpečí změny okolností v souvislosti s právy a povinnostmi smluvních stran vzniklými na základě této smlouvy. Smluvní strany vylučují uplatnění ust. § 1765 odst. 1 a § 1766 občanského zákoníku na svůj smluvní vztah založený smlouvou.
3. Tuto smlouvu lze změnit nebo zrušit jen písemně, nevyplyvá-li z jejich ustanovení něco jiného.
4. Kupující má právo tuto smlouvu vypovědět s výpovědní lhůtou jednoho měsíce, která počíná běžet prvním dnem kalendářního měsíce následujícího po kalendářním měsíci, v němž byla výpověď doručena druhé smluvní straně, jestliže:
 - a) Prodávající opakovaně (nejméně třikrát) nepotvrdí přijetí objednávky ve lhůtě stanovené dle ust. Čl. II. odst. 3. této smlouvy; nebo
 - b) Prodávající opakovaně (nejméně třikrát) nedodá zboží dle objednávky ve lhůtě stanovené dle ust. Čl. II. odst. 1 této smlouvy.
5. Prodávající má právo tuto smlouvu vypovědět s výpovědní lhůtou dvou měsíců, která počíná běžet prvním dnem kalendářního měsíce následujícího po kalendářním měsíci, v němž byla výpověď doručena druhé smluvní straně v případě, že kupující bude v prodlení s úhradou řádně vystavené a doručené faktury za dodané dodávky zboží delším než 30 dní od uplynutí lhůty splatnosti takové faktury a k úhradě nedojde ani po písemné výzvě prodávajícího.
6. Tuto smlouvu může vypovědět i kterákoliv ze smluvních stran i bez uvedení důvodu s výpovědní lhůtou dvou měsíců, která počíná běžet prvním dnem kalendářního měsíce následujícího po kalendářním měsíci, v němž byla výpověď doručena druhé smluvní straně.
7. Tato smlouva může být měněna pouze písemně, přičemž za písemnou formu nebude pro tento účel považována výměna e-mailových či jiných elektronických zpráv.
8. Případné spory z této smlouvy se smluvní strany zavazují přednostně řešit smírnou cestou. Nebude – li takto dosaženo vzájemné dohody, je kterákoli ze smluvních stran oprávněna obrátit se na věcně a místně příslušný soud České republiky.
9. Prodávající dále souhlasí a je srozuměn se skutečností, že kupující může být na základě zákona č. 106/1999 Sb., o svobodném přístupu k informacím, ve znění pozdějších předpisů a zákona č. 340/2015 Sb., o registru smluv, povinen uveřejnit tuto smlouvu v registru smluv nebo o této smlouvě a právním vztahu jí založeném zpřístupnit či poskytnout všechny informace, které citované zákony nebo jiné právní předpisy z uveřejnění nebo zpřístupnění nevylučují.

10. Smluvní strany se shodují, že zveřejnění této smlouvy v registru smluv podle zákona č. 340/2015 Sb., zajistí kupující.

11. Kontaktní osoby:

Za kupujícího je oprávněn jednat:

[Redacted]

Ve věci objednávek:

[Redacted]

Za prodávajícího je oprávněn jednat:

[Redacted]

Ve věci objednávek:

Zákaznické oddělení, [Redacted]

12. Tato smlouva je vyhotovena ve stejnopise v elektronické podobě.

13. Nedílnou součástí této smlouvy jsou:

- Příloha č. 1 Specifikace nabízeného zboží
- Příloha č. 2 Jednotková cena zboží.

14. Smluvní strany podpisem smlouvy prohlašují, že se s obsahem této smlouvy seznámily a bez výhrad s ní souhlasí.

V Ostravě dne:

za kupujícího:

**Ing. Eduard
Ježo**

Digitálně podepsal Ing.
Eduard Ježo
Datum: 2023.01.09
20:36:47 +01'00'

Ing. Eduard Ježo
ředitel Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě

V, dne:

za prodávajícího:

Digitally signed
[Redacted]
Date: 2023.01.09
20:56:38 +01'00'

obchodní manažer

Příloha č. 1 Specifikace nabízeného zboží



BCET-RPLA

TD0950A

Souprava pro detekci enterotoxinu *Bacillus cereus* (typ způsobující průjimy) v potravinách a kultivačních filtrátech za použití reverzní pasivní latexové aglutinace.

ÚVOD

Mikroorganismus *Bacillus cereus* ve sporulující i vegetativní formě se běžně vyskytuje v různých prostředích a může snadno kontaminovat potraviny. Pokud kontaminované potraviny nejsou po tepelné úpravě dostatečně zchlazeny a pokud mezi přípravou a požitím jídla uplyne delší doba, mohou přežít termorezistentní spory germinovat, čímž umožní množení mikroorganismů a tvorbu toxinů. Za těchto okolností může *B. cereus* způsobit otravu jídlem. V případech otravy jídlem v důsledku kontaminace *B. cereus* figurovaly rýže, těstoviny, maso, drůbež, zeleninová jídla, různé druhy polévek, pudinky a omáčky.^{1,2,3}

Tento mikroorganismus může způsobovat dva odlišné typy onemocnění: "emetický syndrom" s prudkým rozvojem zvracení, který je často spojován s vařenou rýží, a dále průjmový syndrom s pomalejším nástupem, který je spojen se širším spektrem potravin. Za charakteristické příznaky těchto dvou forem onemocnění zodpovídají odlišné toxiny: emetický toxin a průjmový enterotoxin.⁴

Tato souprava byla vyvinuta za účelem detekce průjmového enterotoxinu za použití reverzní pasivní latexové aglutinace (RPLA). Technika reverzní pasivní latexové aglutinace (RPLA) umožňuje detekci rozpustných antigenů, jako jsou bakteriální toxiny v aglutinačním testu.

Při standardním aglutinačním testu reagují rozpustné protilátky s částicovými antigeny, jako jsou např. bakteriální buňky. V případě reverzního aglutinačního testu protilátky, které jsou upevněny na detekčních částicích, reagují s rozpustným antigenem. Částice (v tomto případě latex) se reakce samostatně nezúčastní a proto jsou pasivní. Vytvoření příčné vazby latexových částic ke specifickému antigenu/protlátce vede k viditelné latex aglutinaci.

Test BCET-RPLA lze používat k detekci enterotoxinu *B. cereus* v širokém spektru potravin se semikvantitativním hodnocením výsledků. Test lze také používat k průkazu tvorby enterotoxinu v kultivovaných izolátech *B. cereus*.

PRINCIP TESTU

Polystyrénové latexové částice jsou senzitivovány purifikovaným antisérem získaným od králíků imunizovaných purifikovaným průjmovým enterotoxinem *B. cereus*. Tyto latexové částice aglutinují v přítomnosti enterotoxinu *B. cereus*. Kontrolní činidlo tvoří latexové částice senzitivované neimunním králíčím globulinem. Tento test se provádí na mikrotitračních destičkách s komůrkami ve tvaru V. Ředění extraktu z potravin nebo kultivačního filtrátu se provádí ve dvou řadách jamek, kdy se do každé jamky přidá určitý objem příslušné latexové suspenze a obsah se promíchá. Pokud je enterotoxin *B. cereus* přítomen, dochází k aglutinaci v důsledku tvorby mřížovité struktury. Po usazení vzniká na dně jamky difúzní sediment. Za nepřítomnosti *B. cereus*, nebo pokud je jeho koncentrace pod detekční mezí testu, se tato mřížovitá struktura nevytvoří a vznikne tuhá hrdka.

UPOZORNĚNÍ

Tento výrobek je určen pouze k diagnostice *In vitro*.

Nezmrazujte.

Činidla s odlišným číslem šarže nelze zaměňovat.

Činidla a pufr obsahují jako konzervační přísadu 0,1% azid sodný. Azid sodný může reagovat s olovem či mědí v odpadním potrubí a tvořit kovové azidy, které jsou při kontaktní detonaci výbušné. Jako prevenci hromadění azidů v odpadním potrubí veškerý odpad vzápětí spláchněte dostatečným množstvím vody.

SKLADOVÁNÍ

Systém BCET-RPLA je nutné skladovat při teplotě 2°C–8°C. Za uvedených podmínek si činidla zachovají svou účinnost nejméně do data uvedeného na označení soupravy. Po rekonstituci je nutné kontrolu s enterotoxinem skladovat při teplotě 2 °C až 8 °C. Za těchto podmínek si rekonstituovaná enterotoxinová

kontrola uchová svoji reaktivitu po dobu 3 měsíců nebo do data uvedeného na obalu podle toho, co naslane dříve.

PŘÍPRAVA VZORKU

1. Potravinové matrice

1.1 Přítomnost enterotoxínu lze testovat v širokém spektru potravin. Postup extrakce však u některých vzorků potravin může vyžadovat úpravy. Hlavním požadavkem je dosažení extraktu bez zákalu a bez tuků. Pro optimální senzitivitu je žádoucí dosáhnout nízkého dlučného faktoru, avšak pokud vlastnosti potravin vyžadují během extrakce větší naředění, dochází ke snížení senzitivity.

1.2 K získání reprezentativního vzorku z dané šarže se z různých oblastí vyšetřované potraviny odebrají vzorky po 10 g potraviny (viz plán odběru vzorků T.P.I, U.S.D.A nebo ekvivalent).

2. Filtráty kultur

B. cereus lze získat ze vzorků potravin nebo stolice a identifikovat za použití vhodných technik popsaných ve standardních učebnicích. Použití selektivního agaru *Bacillus Cereus Selective Agar* (Oxoid CM0617 a SR0099) pomůže při izolaci a presumptivní izolaci *B. cereus* před detekcí toxinu.⁵

METODIKA POUŽITÍ

1. Potřebný materiál, který není součástí dodávky

Mixer nebo homogenizační zařízení (požadované pouze pro potravinové matrice)

Mikrotitrační destičky (jamky ve tvaru V) a víčka. Fixní nebo variabilní pipety a špičky (25 µl)

Centrifuga schopná vytvoření 900 g (obvykle 3000 otáček za minutu u malé stolní centrifugy) nebo membránová filtrační jednotka, která využívá jednorázové filtry s nízkou vazbou proteinů s velikostí pórů 0,2 µm až 0,45 µm (např. Millipore SLGV)

Brain Heart Infusion (Oxoid CM0225)

Roztok chloridu sodného (0,85%)

Roztok chlomanu sodného

(>1,3 % w/w) (dezinfekční prostředek)

Kapátko o objemu 25 µl (volitelný materiál)

Ředící zařízení 25 µl (volitelný materiál)

Mikromixer (volitelný materiál)

Vlhká komora (volitelný materiál)

2. Složení soupravy

Senzitizovaný latex TD0951 (Sensitised latex). Latex senzitivizovaný specifickou protilátkou proti enterotoxínu *B. cereus* (králičí IgG).

Latexová kontrola TD0952 (Latex control). Latexové částice jsou senzitivizované neimunním králičím globulinem.

Enterotoxinová kontrola TD0953 (Enterotoxin control) (lyofilizovaná). Lyofilizovaný enterotoxin *B. cereus*.

Pufir TD0954 (Diluent). Fyziologický roztok s fosfátovým pufrům obsahující hovězí sérový albumin.

Příbalový leták

3. Extrakce nebo příprava toxinů

3.1 Extrakce z potravinových maticí

- Rozmíchejte 10 g vzorku s 10 ml roztoku chloridu sodného (0,85 %) v mixeru nebo homogenizátoru.
- Centrifugujte rozmíchaný vzorek rychlostí 900g při teplotě 4°C po dobu 30 minut.

POZNÁMKA: Pokud nemáte k dispozici chlazenou centrifugu, ochlaďte před centrifugací vzorek na teplotu 4 °C.

- Supernatant přefiltrujte přes membránový filtr s nízkou vazbou proteinů s velikostí pórů 0,2 µm-0,45 µm. Filtrát uchovejte pro testování obsahu toxinu.

3.2 Tvorba enterotoxinu v kultivačních tekutinách

- Izolovaný mikroorganismus inokulujte do bujónu Brain Heart Infusion (CM0225) a inkubujte při teplotě 32 °C až 37 °C po dobu 6 až 18 hodin, pokud možno s protřepáváním (250 cyklů za minutu).
- Po dokončení kultivace centrifugujte při rychlosti 900 g po dobu 20 minut při teplotě 4 °C nebo filtrujte přes membránu za použití filtru s nízkou vazbou proteinů o velikosti pórů 0,2 µm až 0,45 µm. **Filtrát uchovejte pro test obsahu toxinu.**

POZNÁMKA: Příslušnou používanou metodu kultivace je vhodné zkontrolovat za použití standardního kmene produkujícího enterotoxin, jako např. enterotoxin *B. cereus* NCTC 11145.

4. KONTROLA

Rekonstituovaná toxinová kontrola aglutinuje se senzitivovaným latexem. Použití toxinové kontroly slouží jako reference pro pozitivní vzorce uvedené níže (viz Interpretace výsledků testu).

Kontrolu je nutné čas od času použít pouze k ověření správné funkce latexových činidel. Toxinová kontrola se nedává na specifikované koncentraci, a proto nelze používat jako prostředek ke kvantifikaci koncentrace toxinu detekovaného v testovaném vzorku.

5. Provedení testu

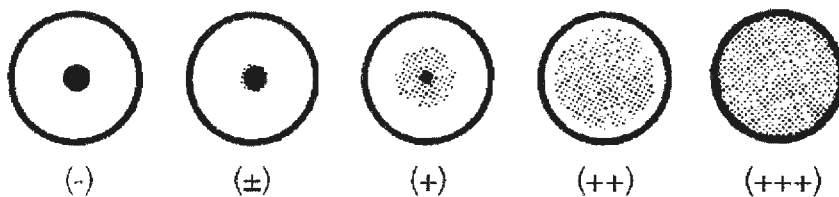
5.1 Pracovní činidla

Latexová činidla (TD0951, TD0952) a pufr (TD0954) se dodávají připravená k použití. Latexová činidla je nutné před použitím důkladně protřepat k získání homogenní suspenze. K rekonstituci enterotoxinové kontroly (TD0953) přidejte do každé lahvičky 0,5 ml pufru (TD0954). Šetrně protřepte, dokud se obsah nerozpustí.

- 5.2 Kazetu nastavte tak, aby v každé řadě bylo 8 jamek. U každého vzorku budou zapotřebí 2 takové řady.
- 5.3 Pipetou nebo kapátkem aplikujte do každé jamky ve dvou řadách po 25 µl pufru, s výjimkou první jamky v každé řadě.
- 5.4 Do první a druhé jamky v obou řadách aplikujte 25 µl testovaného vzorku.
- 5.5 Pipetou nebo ředícím zařízením odeberte v druhé řadě v každé řadě 25 µl tekutiny a v každé řadě proveďte dvojnásobné ředění. U 7. jamky zastavte a poslední jamku ponechte pouze s obsahem pufru (TD0951).
- 5.6 Do každé jamky v první řadě aplikujte 25 µl senzitivovaného latexu (TD0951).
- 5.7 Do každé jamky v druhé řadě aplikujte 25 µl kontrolního latexu (TD0952).
- 5.8 K promíchání obsahu v jamkách ťepejte kazetou na mikromixeru nebo protřepte ručně. Dbejte na to, aby se obsah nedostal z jamek.
- 5.9 Kazetu přikryjte víčkem, aby nedocházelo k odpařování. Přijatelnou alternativou je vložení kazety do vlhké komory. Kazetu poté nechte v klidu na rovném povrchu bez vibrací v pokojové teplotě po dobu 20 až 24 hodin. Uložení kazety na černý papír po dobu této inkubace napomůže při následném odečítání výsledků testu.
- 5.10 Aglutinaci v každé jamce v každé řadě hodnotěte proti černému pozadí.
- 5.11 Centrifugační zkumavky, membránové filtry, mikrořítační destičky, víčka a pipetovací špičky sterilizujte autoklávováním při teplotě 121 °C po dobu 15 minut nebo před likvidací ponořte do dezinfekčního chlomanového roztoku (>1,3 % w/w).
- 5.12 Extrakty kultur, extrakty potravin, vzorky a kontroly enterotoxinu zlikvidujte v chlomanovém roztoku (>1,3 % w/w).

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

Vzniklou aglutinaci posuzujte srovnáním s následujícím obrázkem.



Jako pozitivní se hodnotí výsledky označené (+), (++) a (+++).

Výsledky v řadě jamek s kontrolním latexem (TD0952) mají být negativní. V některých případech lze pozorovat nespecifickou aglutinaci. V takovém případě je nutné výsledky hodnotit jako pozitivní pouze pokud je reakce se senzitivizovaným latexem (TD0951) pozitivní ve větším ředění testovaného vzorku než pozitivní ředění u kontrolního latexu (TD0952). Poslední jamky ve všech řadách mají být negativní. Pokud se v některé z těchto jamek objeví pozitivní výsledek, je nutné reakci hodnotit jako neplatnou.

OMEZENÍ TESTU

Senzitivita tohoto testu při detekci enterotoxinu je 2 ng/ml testovaného extraktu. Pokud se extrakt z potravin míchá v poměru 1:1 s pufrům (TD0954), je senzitivita v potravinovém vzorku 4 ng/g. Detekční limit se může lišit podle dalších ředících podmínek způsobených typem potravinové matrice. Koncentrace enterotoxinu v potravinovém extraktu lze ovlivnit řadou metod, např. ultrafiltrací.


Tvorba enterotoxinu ve filtrátu z kultury závisí na růstových podmínkách. Pozitivní výsledek získaný tímto způsobem prokazuje tvorbu enterotoxinu, avšak neznamená tvorbu toxinu *in vivo* v takovéto koncentraci.

LITERATURA

1. Kramer, J.M. and Gilbert, R.J. (1988). In Foodborne Bacterial Pathogens (ed. M.P. Doyle) pp. 21-70. Marcel Dekker Inc., New York.
2. Hauge, S. (1955) J. Appl. Bacteriol. 18: pp. 591-595.
3. Mortimer, P.R. and McCann, G. (1974). Lancet 1: pp. 1043-1045.
4. Turnbull, P.C.B. (1986). In Pharmacology of Bacterial Toxins (ed. F. Dornier and J. Drews) pp. 397-448. Pergamon Press, Oxford.
5. Holbrook, R. and Anderson, J.M. (1980). Can. J. Microbiol. 26: pp. 753-759.

Pro technickou podporu se obraťte na výhradního dodavatele v České republice:

OXOID CZ s.r.o.
Kaštanová 539/64
620 00 Brno


www.oxid.com
IČO 277 54 146

Datum poslední revize české verze: září 2009



TST-RPLA TD0940A

STAPHYLOCOCCAL TOXIC SHOCK SYNDROME TOXIN TEST KIT

Souprava pro detekci stafylokokového toxinu, který zapříčiňuje vznik syndromu toxického šoku v kultivačních filtrátech za použití reverzní pasivní latexové aglutinace.

ÚVOD

Nemoc známou jako syndrom toxického šoku jako první popsalí Todd *et al.*¹ Byly popsány kmeny *Staphylococcus aureus* izolované z pacientů s tímto syndromem, které produkují toxin, konkrétně toxic shock syndrome toxin-one (TSST-1)^{1,2,3}. Souprava TST-RPLA pro detekci TSST-1 v kultivační tekutině *Staphylococcus aureus* byla vyvinuta pod vedením Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health.

Technika reverzní pasivní latexové aglutinace (RPLA) umožňuje detekci rozpustných antigenů, jako jsou bakteriální toxiny, v aglutinačním testu.

Při standardním aglutinačním testu reagují rozpustné protilátky s částicovými antigeny, jako jsou např. bakteriální buňky. V případě REVERZNÍHO aglutinačního testu protilátky, které jsou upevněny na detekčních částicích, reagují s rozpustným antigenem. Částice (v tomto případě latex) se reakce samostatně nezúčastní a proto jsou PASIVNÍ. Vytvoření příčné vazby latexových částic ke specifickému antigenu/protilátce vede k viditelné LATEXOVÉ AGLUTINACI.

PRINCIP TESTU

Polystyrenové latexové částice jsou senzitivizovány purifikovaným antisérem od králíků, kteří byli imunizováni⁴ purifikovaným toxinem TSST-1. Tyto latexové částice aglutinují v přítomnosti toxinu TSST-1. Kontrolní činidlo tvoří latexové částice senzitivizované neimunním králíčím globulinem.

Test se provádí na mikrotitračních destičkách s V-jamkami. Ředění kultivačního filtrátu se provádí ve dvou řadách jamek, kdy se do každé jamky přidá určitý objem latexové suspenze a obsah se promíchá. V přítomnosti toxinu TSST-1 dochází k tvorbě mřížkovité struktury a aglutinaci. Po usazení vzniká na dně jamky difuzní sediment. Při nepřítomnosti TSST-1, nebo pokud je jeho koncentrace pod detekční schopností testu, se tato mřížovitá struktura nevytvoří a vznikne tuhá hruška.

UPOZORNĚNÍ

Tento výrobek je určen pouze k diagnostice *in vitro*.

Nezmrazujte.

Činidla s odlišným číslem šarže nelze zaměňovat.

Činidla a vzorkový pufr obsahují jako konzervační přísadu 0,1% azid sodný. Azid sodný může reagovat s olovem či mědí a tvořit kovové azidy, které jsou při kontaktní detonaci

výbušné. Jako prevenci hromadění azidů v odpadním potrubí veškerý odpad vzápětí spláchněte velkým množstvím vody.

SKLADOVÁNÍ

Soupravu TST-RPLA je nutné skladovat při teplotě 2–8°C. Za uvedených podmínek si činidla zachovají svou účinnost do data uvedeného na označení soupravy. Po rekonstituci je nutné skladovat TST kontroly při teplotě 2°C až 8°C. Za těchto podmínek si rekonstituované TST kontroly uchovávají svoji reaktivitu po dobu 3 měsíců nebo do data uvedeného na obalu podle toho, co nastane dříve.

PŘÍPRAVA VZORKU

Staphylococcus aureus může být pro testování získán ze stěrů, atd a identifikován vhodnými metodami popsanými ve standardních učebnicích.

Jsou-li stafylokoky izolovány z míst v těle (např. vagina), které jsou za normálních okolností stafylokoky kolonizovány, doporučuje se testovat samostatně několik kolonií s cílem zajistit vyšší pravděpodobnost detekce kmenů produkujících TSST-1.

METODIKA POUŽITÍ

1. Potřebný materiál, který není součástí dodávky

- Mikrotitrační destičky (V jamky) a víčka
- Pipety a špičky s fixním nebo proměnlivým objemem (25 μ l)
- Centrifuga schopná vytvoření 900 g (u malých stolních centrifug obvykle 3000 otáček/min) nebo membránová filtrační jednotka, která využívá jednorázové filtry s nízkou vazbou proteinů s velikostí pórů 0,2 μ m až 0,45 μ m (např. Millipore SLGV)
- Médium Brain Heart Infusion Broth
- Roztok chlóranu sodného (>1,3% w/w).
- Kapátko o objemu 25 μ l (volitelný materiál)
- Dilutor pro ředění o objemu 25 μ l (volitelný materiál)
- Mikromixer (volitelný materiál)
- Vlhká komora (volitelný materiál)

2. Složení soupravy

- TD0941 Senzitivizovaný latex.** Latexová suspenze senzitivizovaná specifickými protilátkami (králíčí IgG) proti stafylokokovému toxinu TSST-1
- TD0942 Kontrolní latex.** Latexová suspenze senzitivizovaná neimunním králíčím globulinem.
- TD0943 Kontrolní TST.** Vysušený toxin syndromu toxického šoku
- TD0944 Vzorkový pufr.** Fosfátový pufr obsahující hovězí sérový albumin.

3. Tvorba toxinu v kultivačních tekutinách

- 3.1 Izolovaný mikroorganismus** inokulujte do média Brain Heart Infusion Broth. Inkubujte při teplotě 37°C po dobu 18 až 24 hodin, pokud možno s protřepáváním.

Po dokončení inkubace buď centrifugujte při rychlosti 900 g po dobu 20 minut při teplotě 4°C a použijte supernatant jako testovací vzorek nebo filtrujte přes membránu za použití filtru s nízkou vazbou proteinů o velikosti pórů 0,2 µm až 0,45 µm a použijte filtrát jako testovací vzorek.

4. Kontrola

Rekonstituovaný kontrolní latex způsobí aglutinaci se senzitizedním latexem. Použití kontrolního toxínu slouží jako reference pro pozitivní vzorce uvedené níže (viz Interpretace výsledků testu). Kontrolu je nutné čas od času použít pouze k ověření správné funkce testovacího latexu. Kontrolní toxín se nedodává ve specifikované koncentraci, a proto jej nelze používat jako prostředek ke kvantifikaci koncentrace toxínu detekovaného v testovaném vzorku.

5. Provedení testu

5.1 Pracovní činidla

Latexová činidla a vzorkové pufrы se dodávají připravené k použití. Latexová činidla je nutné před použitím důkladně protřepat k získání homogenní suspenze. K rekonstrukci kontrolního toxínu přidejte do každé lahvičky 0,5 ml vzorkového pufru (TD0944). Šetrně protřepte, dokud se obsah nerozpustí.

- 5.2 Destičku nastavte tak, aby v každé řadě bylo 8 jamek. Pro každý vzorek je zapotřebí 2 takových řad.
- 5.3 Pipetou nebo kapátkem aplikujte do každé jamky ve dvou řadách po 25 µl vzorkového pufru (kromě první jamky v každé řadě).
- 5.4 Do první a druhé jamky v každé řadě aplikujte 25 µl testovaného vzorku.
- 5.5 Pipetou nebo dilutorem odebírejte od druhé jamky v každé řadě 25 µl tekutiny a u obou řad proveďte dvojnásobné ředění. U sedmé jamky zastavte a poslední jamku ponechte pouze s obsahem vzorkového pufru.
- 5.6 Do každé jamky v první řadě aplikujte 25 µl senzitizedního latexu.
- 5.7 Do každé jamky ve druhé řadě aplikujte 25 µl kontrolního latexu.
- 5.8 K promíchání obsahu v jamkách třepete destičkou na mikromixeru nebo protřepte ručně. Dbejte na to, aby se obsah nedostal z jamek.
- 5.9 Destičku přikryjte víčkem, aby nedocházelo k odpařování. Přijatelnou alternativou je vložení destičky do vlhké komory. Destičku poté nechte v klidu na rovném povrchu bez vibrací při pokojové teplotě po dobu 20 až 24 hodin. Uložení destičky na černý papír po dobu této inkubace napomůže při následném odečítání výsledků testu.
- 5.10 Aglutinaci v každé jamce v každé řadě hodnotte proti černému pozadí.
- 5.11 Centrifugační zkumavky, membránové filtry, mikrotitrační destičky, víčka a pipetovací špičky sterilizujte autoklárováním při teplotě 121°C nebo před likvidací ponořte do dezinfekčního chlomanového

roztoku (>1,3 % w/w).

- 5.12 Extrakty kultur a kontroly enterotoxinu zlikvidujte v chlomanovém roztoku (>1,3 % w/w).

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Vzniklou aglutinaci posuzujte srovnáním s následujícím obrázkem.



Jako pozitivní se hodnotí výsledky označené (+), (++) a (+++).

Výsledky v řadě jamek s kontrolním latexem mají být negativní. V některých případech lze pozorovat nespecifickou aglutinaci. Je-li reakce se senzitizedním latexem pozitivní v řadě větší než v tom u kontrolního latexu, je nutné hodnotit výsledky jako pozitivní. Poslední jamka v každé řadě musí být negativní. Pokud se v některé z těchto jamek objeví pozitivní výsledek, je nutné reakci hodnotit jako neplatnou.

OMEZENÍ TESTU

Sensitivita tohoto testu při detekci TSST-1 je přibližně 2 ng/ml v extraktu. TSST-1, který je přítomen v koncentraci nižší, dává negativní výsledky.


Sama produkce TSST-1 bakterií *Staphylococcus aureus* nestanovuje diagnózu syndromu toxického šoku. Kmeny produkující TSST-1 byly izolovány i ze zdravých jedinců, i když s nižší frekvencí než u pacientů se syndromem toxického šoku.

LITERATURA

1. Todd, J., Fishaut, M., Kapral, F. and Welch, T. (1978). *Lancet* ii: 116.
2. Cohen, M.L. and Falkow, S. (1981). *Science* 211: 842.
3. Bergdoll, M.S. and Schievert, P.M. (1984) *Lancet* ii: 691.
4. Igarashi, H., Fujikawa, H., Usami, H., Kawabata S. and Morita, T. (1984). *Infection and Immunity* 44: 175.

Oxoid Limited
Wade Road, Basingstoke
Hampshire, RG24 8PW, Anglie

Vyrobeno pro Oxoid ve společnosti Denka Seiken Ltd (Japonsko)
Oxoid je obchodní známka

 X2831D Listopad 2003

Datum poslední revize české verze: leden 2017

Pro technickou podporu se obraťte na místního distributora:
Dodavatel v České republice:

OXOID CZ s.r.o.
Kaštanová 539/64
620 00 Brno

www.oxoid.cz

PET-RPLA TD0930A

CLOSTRIDIUM PERFRINGENS ENTEROTOXIN TEST KIT

Souprava pro detekci enterotoxinu A *Clostridium perfringens* ve vzorcích stolice nebo kultivačních filtrátech za použití reverzní pasivní latexové aglutinace.

ÚVOD

Otrava jídlem může vzniknout po požití potravin kontaminovaných *Clostridium perfringens*. Požití buňky se množí ve střevě pacienta a produkuje spory. S produkcí spor souvisí i tvorba enterotoxinu. Proto se enterotoxin detekuje ve vzorcích stolice získaných od pacienta nebo v kultivační tekutině bakteriálních izolátů.

Přímá detekce enterotoxinů *Cl. perfringens* ve stolici je nejspolehlivější metodou díky množství toxinu, který se v mnohem větší míře tvoří *in vivo*. Při kultivaci v umělém prostředí je obtížné dosáhnout dostatečné produkce enterotoxinu *Cl. perfringens*, proto je kultivace méně spolehlivá. Reverzní pasivní latexová aglutinace (RPLA) se uvádí jako spolehlivá metoda pro detekci enterotoxinu *Cl. perfringens*¹. Technika reverzní pasivní latexové aglutinace (RPLA) umožňuje detekci rozpustných antigenů, jako jsou bakteriální toxiny, v aglutinačním testu.

Při standardním aglutinačním testu reagují rozpustné protilátky s částicovými antigeny, jako jsou např. bakteriální buňky. V případě REVERZNÍHO aglutinačního testu protilátky, které jsou upevněny na detekčních částicích, reagují s rozpustným antigenem. Částice (v tomto případě latex) se reakce samostatně nezúčastní a proto jsou PASIVNÍ. Vytvoření příčné vazby latexových částic ke specifickému antigenu/protilátce vede k viditelné LATEXOVÉ AGLUTINACI.

PRINCIP TESTU

Polystyrenové latexové částice jsou senzitivizovány purifikovaným antiserem od králíků, kteří byli imunizováni² purifikovaným enterotoxinem *Cl. perfringens*. Tyto latexové částice aglutinují v přítomnosti enterotoxinu *Cl. perfringens*. Kontrolní činidlo tvoří latexové částice senzitivizované neimunním králíčím globulinem.

Test se provádí na mikrotitračních destičkách s V-jankami. Ředění kultivačního filtrátu se provádí ve dvou řadách jamek, kdy se do každé jamky přidá určitý objem latexové suspenze a obsah se promíchá. V přítomnosti enterotoxinu *Cl. perfringens* dochází k tvorbě mřížkovité struktury a aglutinaci. Po usazení vzniká na dně jamky difuzní sediment. Při nepřítomnosti enterotoxinu *Cl. perfringens*, nebo pokud je jeho koncentrace pod detekční schopností testu, se tato mřížkovitá struktura nevytvoří a vznikne luhá hruška.

UPOZORNĚNÍ

Tento výrobek je určen pouze k diagnostice *In vitro*.
Nezmrazujte.

Činidla s odlišným číslem šarže nelze zaměňovat.

Činidla a vzorkový pufr obsahují jako konzervační přísadu 0,1% azid sodný. Azid sodný může reagovat s olovem či mědí a tvořit kovové azidy, které jsou při kontaktní detonaci výbušné. Jako prevenci hromadění azidů v odpadním potrubí veškerý odpad vzápětí spláchněte velkým množstvím vody.

SKLADOVÁNÍ

Soupravu PET-RPLA je nutné skladovat při teplotě 2–8°C. Za uvedených podmínek si činidla zachovají svou účinnost do data uvedeného na označení soupravy. Po rekonstituci je nutné kontroly s enterotoxinem skladovat při teplotě 2°C až 8°C. Za těchto podmínek si rekonstituované enterotoxinové kontroly uchovávají svoji reaktivitu po dobu 3 měsíců nebo do data uvedeného na obalu podle toho, co nastane dříve.

PŘÍPRAVA VZORKU

Přímá detekce enterotoxinů *Cl. perfringens* ve stolici je nejspolehlivější metodou a měla by být použita, pokud je k dispozici dostatečné množství fekálního materiálu. Je také mnohem rychlejší než kultivace, výsledek je dostupný cca do 24 h od odběru vzorku faeces.

V případě, že je nutné diagnostikovat otravu jídlem kontaminovaným *Cl. perfringens* pomocí kultivace, je třeba poznamenat, že *Cl. perfringens* je běžným obyvatelům střeva. Doporučuje se samostatně testovat alespoň 8 kolonií s cílem zajistit vyšší pravděpodobnost detekce kmene produkujícího enterotoxin.

Neexistuje jeden jediný postup kultivace vhodný pro všechny kmene *Cl. perfringens* produkující enterotoxin. Každý kultivační postup může selhat v důsledku nedostatečné produkce toxinu, která může být způsobena nedostatečným růstem, slabou tvorbou spor nebo toxinu. Některé enterotoxin-pozitivní kmene mohou být zničeny tepelným zpracováním a proto v dalším médiu nevyprodukují enterotoxin. Doporučuje se kontrolovat životaschopnost každé kultury po zahřátí.

Je vhodné otestovat použitou kultivační metodu známým enterotoxin-produkujícím kmenem, např. *Cl. perfringens* NCTC 8239 nebo *Cl. perfringens* ATCC 12917.

METODIKA POUŽITÍ

1. Potřebný materiál, který není součástí dodávky

- Mikrotitrační destičky (V jamky) a víčka
- Pipety a špičky s fixním nebo proměnlivým objemem (25µl)
- Centrifuga schopná vytvoření 900 g (u malých stolních centrifug obvykle 3000 otáček/min) nebo membránová filtrační jednotka, která využívá jednorázové filtry s nízkou vazbou proteinů s velikostí pórů 0,2 µm až 0,45 µm (např. Millipore SLGV)

Kultivační média pro růst kmenů *Cl. perfringens* produkujících enterotoxin (vhodné médium vyvinuli Duncan a Strong³ a modifikovali Harmon a Kautter¹ (viz příloha))

Roztok chlornanu sodného (>1,3% w/w).

Kapátko o objemu 25 μ l (volitelný materiál)

Dilutor pro ředění o objemu 25 μ l (volitelný materiál)

Mikromixer (volitelný materiál)

Vlhká komora (volitelný materiál)

2. Složení soupravy

TD0931 Senzitivovaný latex. Latexová suspenze senzitivovaná specifickými protilátkami (králičí IgG) proti enterotoxinu *Cl. perfringens*

TD0932 Kontrolní latex. Latexová suspenze senzitivovaná neimunním králičím globulinem.

TD0933 Kontrolní enterotoxin. Vysušený enterotoxin *Cl. perfringens*

TD0934 Vzorkový pufr. Fosfátový pufr obsahující hovězí sérový albumin.

Příbalová informace

3. Extrakce nebo příprava toxinů

Extrakce z faeces

- Ke vzorku faeces přidejte podobný objem fyziologického roztoku pufrovaného fosfátem (Oxoid Phosphate Buffered Saline BR0014).
- Zcela homogenizovaný vzorek centrifugujte rychlostí 1300 g při teplotě 4°C po dobu 20 minut a po té přefiltrujte přes membránový filtr s nízkou vazbou proteinů s velikostí pórů 0,2 μ m - 0,45 μ m. Filtrát uchovejte pro test obsahu toxinu.

Tvorba enterotoxinu v kultivačních tekutinách

- Izolovaný mikroorganismus kultivujte v médiu Cooked Meat Medium (Oxoid CM0081) a inkubujte při teplotě 37°C po dobu 18 až 20 hodin, poté inaktivujte zahřátím při teplotě 75°C po dobu 20 minut. Dále pomnožte v médiu určeném pro podporu tvorby enterotoxinu^{3,4} (viz příloha).
- Naočkejte 16 až 18 ml média s 0,8 ml kultivace Cooked Meat Medium (odebrané z dolní části zkumavky). Poznámka: Je-li ředění větší než 1:20, Cooked Meat Medium lze přenést v množství dostatečném pro inhibici tvorby spor.
- Inkubujte při teplotě 37°C po dobu 24 hodin. Po dokončení inkubace buď centrifugujte při rychlosti 900 g po dobu 20 minut při teplotě 4°C a použijte supernatant jako testovací vzorek nebo filtrujte přes membránu za použití filtru s nízkou vazbou proteinů o velikosti pórů 0,2 μ m až 0,45 μ m a použijte filtrát jako testovací vzorek.

4. Kontrola

Rekonstituovaná toxinová kontrola způsobí aglutinaci se senzitivovaným latexem. Použití kontrolního toxinu slouží jako reference pro pozitivní vzorce uvedené níže (viz Interpretace výsledků testu). Kontrolu je nutné čas

od času použití pouze k ověření správné funkce testovacího latexu. Kontrolního toxinu se nedodává ve specifikované koncentraci, a proto nelze používat jako prostředek ke kvantifikaci koncentrace toxinu detekovaného v testovaném vzorku.

5. Provedení testu

5.1 Pracovní činidla

Latexová činidla a vzorkové pufrы se dodávají připravené k použití. Latexová činidla je nutné před použitím důkladně protřepat k získání homogenní suspenze. K rekonstituci kontrolního enterotoxinu přidejte do každé lahvičky 0,5 ml vzorkového pufru (TD0934). Šetmě protřepete, dokud se obsah nerozpustí.

5.2 Destičku nastavte tak, aby v každé řadě bylo 8 jamek. Pro každý vzorek je zapotřebí 2 takových řad.

5.3 Pipetou nebo kapátkem aplikujte do každé jamky ve dvou řadách po 25 μ l vzorkového pufru (kromě první jamky v každé řadě).

5.4 Do první a druhé jamky v každé řadě aplikujte 25 μ l testovaného vzorku.

5.5 Pipetou nebo dilutorem odeberte od druhé jamky v každé řadě 25 μ l tekutiny a u obou řad proveďte dvojnásobné ředění. U sedmé jamky zastavte a poslední jamku ponechte pouze s obsahem vzorkového pufru.

5.6 Do každé jamky v první řadě aplikujte 25 μ l senzitivovaného latexu.

5.7 Do každé jamky ve druhé řadě aplikujte 25 μ l kontrolního latexu.

5.8 K promíchání obsahu v jamkách třepte destičkou na mikromixeru nebo protřepte ručně. Dbejte na to, aby se obsah nedostal z jamek.

5.9 Destičku přikryjte víčkem, aby nedocházelo k odpařování. Příjatelnou alternativou je vložení destičky do vlhké komory. Destičku poté nechte v klidu na rovném povrchu bez vibrací při pokojové teplotě po dobu 20 až 24 hodin. Uložení destičky na černý papír po dobu této inkubace napomůže při následném odečítání výsledků testu.

5.10 Aglutinaci v každé jamce v každé řadě hodnotte proti černému pozadí.

5.11 Centrifugační zkumavky, membránové filtry, mikrotitrační destičky, víčka a pipetovací špičky sterilizujte autoklavováním při teplotě 121°C nebo před likvidací ponořte do dezinfekčního chlornanového roztoku (>1,3 % w/w).

5.12 Extrakty kultur a kontroly enterotoxinu zlikvidujte v chlornanovém roztoku (>1,3 % w/w).

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Vzniklou aglutinaci posuzujte srovnáním s následujícím obrázkem.



Jako pozitivní se hodnotí výsledky označené (+), (++) a (+++).

V některých případech lze pozorovat nespecifickou aglutinaci. Pokud vzorek faeces nebo kulturační filtrát reaguje se senzitizedním latexem v ředění větším než v tom u kontrolního latexu, je nutné hodnotit výsledky jako pozitivní. Poslední jamka v každé řadě musí být negativní. Pokud se v některé z těchto jamek objeví pozitivní výsledek, je nutné reakci hodnotit jako neplatnou.

OMEZENÍ TESTU

Sensitivita tohoto testu při detekci enterotoxinů je 2 ng/ml. Enterotoxin, který je přítomen v koncentraci nižší, dává negativní výsledky.

Tato souprava není určena pro detekci enterotoxinů jiných typů *Clostridium perfringens*.

LITERATURA

1. Harmon, S.M. and Kautter, D.A. (1986). *J. Food Prot.* 49: 523
2. Sakaguchi, G. Vemura, T. and Riemann, H.P. (1973). *J. Appl. Microbiol.* 28: 762
3. Duncan, C.L. and Strong, D.H. (1968). *J. Appl. Microbiol.* 1: 82.
4. Harmon, S.M. and Kautter, D.A. (1986). *J. Food Protection* 49: 706.

PŘÍLOHA

Modifikované médium dle Duncan a Stronga ^{3,4}

	g/l destil. vody
Kvasničný extrakt (Oxoid LP0021)	4,0
Proteosový pepton (Oxoid LP0085)	15,0
Rozpustný škrob	4,0
Thioglykolát sodný	1,0
Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	10,0

Autoklávuje při teplotě 121°C po dobu 15 minut. Ke zvýšení pH na 7,8 ± 0,1 přidejte dostatečné množství 0,86 M uhlíčitanu sodného sterilizovaného filtrací.



X2830 Listopad 2003

Datum poslední revize české verze: leden 2017

Pro technickou podporu se obraťte na místního distributora:
Dodavatel v České republice:

OXOID CZ s.r.o.
Kaštanová 539/64
620 00 Brno

www.oxid.cz



SET-RPLA TD0900A

STAPHYLOCOCCAL ENTEROTOXIN TEST KIT

Souprava pro detekci stafylokokových enterotoxinů A, B, C a D v potravinách a kultivačních filtrátech za použití reverzní pasivní latexové aglutinace.

ÚVOD

Stafylokoková otrava jídlem vzniká po požití potravin kontaminovaných enterotoxiny, které produkuje některé kmeny *Staphylococcus aureus*. V literatuře byly publikovány práce o analýze těchto toxinů reverzní pasivní latexovou aglutinací (RPLA)^{1,2,3}.

Reverzní pasivní latexová aglutinace (RPLA) umožňuje detekci rozpustných antigenů, jako jsou bakteriální toxiny v aglutinačním testu.

Při **standardním** aglutinačním testu reagují rozpustné protilátky s částicovými antigeny, jako jsou např. bakteriální buňky. V případě REVERZNÍHO aglutinačního testu protilátky, které jsou upevněny na detekčních částicích, reagují s rozpustným antigenem. Částice (v tomto případě latex) se reakce samostatně nezúčastní a proto jsou PASIVNÍ. Vytvoření příčné vazby latexových částic ke specifickému antigenu/protilátce vede k viditelné LATEXOVÉ AGLUTINACI.

Testovací souprava SET-RPLA je založena na výsledcích, které publikovali Shingaki *et al.*¹ a Oda *et al.*⁴ Tento test byl vyvinut pod záštitou Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health.

Test SET-RPLA lze používat k detekci stafylokokových enterotoxinů v širokém spektru potravin se semikvantitativním hodnocením výsledků. Test lze také používat k průkazu tvorby enterotoxinu v kultivovaných izolátech *S. aureus*. Je nutné připomenout, že u stafylokokové otravy jídlem byly izolovány i některé kmeny koaguláza-negativních stafylokoků, které produkují enterotoxin⁵.

PRINCIP TESTU

Polystyrenové latexové částice jsou senzitivizovány purifikovaným antisérem od králíků, kteří byli imunizováni jednodívnými purifikovanými stafylokokovými enterotoxiny A, B, C a D. Tyto latexové částice aglutinují v přítomnosti příslušného enterotoxinu. Kontrolní činidlo tvoří latexové částice senzitivizované neimunním králíčím globulinem. Test se provádí na mikrotitračních destičkách s V-jankami. Ředění extraktu z potravin nebo kultivačního filtrátu se provádí v pěti řadách jamek, kdy se do každé jamky přidá určitý objem příslušné latexové suspenze a obsah se promíchá. Pokud jsou přítomny stafylokokové enterotoxiny A, B, C nebo D, dochází k aglutinaci, což vede k tvorbě mléčkovité struktury. Po usazení vzniká na dně jamky difuzní sediment. Za nepřítomnosti stafylokokových toxinů, nebo pokud je jejich koncentrace pod detekční schopností testu, se tato mléčkovitá struktura nevytvoří a vznikne tuhá hruška.

Dodávaný vzorkový pufr obsahuje hexametaphosforečnan sodný, který prokazatelně snižuje výskyt nespecifických reakcí ve složkách potravinových matic⁶.

UPOZORNĚNÍ

Tento výrobek je určen pouze k diagnostice *In vitro*.

Nezmrazujte.

Činidla s odlišným číslem šarže nelze zaměňovat.

Činidla a vzorkový pufr obsahují jako konzervační přísadu 0,1% azid sodný. Azid sodný může reagovat s olovem či mědí a tvořit kovové azidy, které jsou při kontaktní detonaci výbušné. Jako prevenci hromadění azidů v odpadním potrubí veškerý odpad vzápětí spláchněte velkým množstvím vody.

SKLADOVÁNÍ

Soupravu SET-RPLA je nutné skladovat při teplotě 2–8°C. Za uvedených podmínek si činidla zachovají svou účinnost nejméně do data uvedeného na označení soupravy. Po rekonstituci je nutné kontroly s enterotoxiny skladovat při teplotě 2°C až 8°C. Za těchto podmínek si rekonstituované enterotoxinové kontroly uchovají svoji reaktivitu po dobu 3 měsíců nebo do data uvedeného na obalu podle toho, co nastane dříve.

PŘÍPRAVA VZORKU

1. Potravinové matrice

1.1 Na stafylokokové enterotoxiny lze testovat široké rozpětí potravin, u určitých potravin může být nutné modifikovat postup extrakce. Hlavním požadavkem je získat nezakalený extrakt bez obsahu tuku. Pro optimální senzitivitu je žádoucí dosáhnout nízkého dilučního faktoru, avšak pokud vlastnosti potravin vyžadují během extrakce větší naředění, dochází ke snížení senzitivity.

1.2 K získání reprezentativního vzorku z dané šarže se z různých oblastí vyšetřované potravin odebírají vzorky po 10 g potravin (viz plán odběru vzorků T.P.I, U.S.D.A nebo ekvivalent).

2. Filtráty kultur

Stafylokoky lze získat ze vzorků potravin nebo z klinických vzorků a identifikovat za použití vhodných technik popsanych ve standardních učebnicích.

METODIKA POUŽITÍ

1. Potřebný materiál, který není součástí dodávky

Mixér nebo homogenizátor

Mikrotitrační destičky (V jamky) a víčka

Pipety a špičky s fixním nebo proměnlivým objemem (25µl)

Centrifuga schopná vytvoření 900 g (u malých stolních centrifug obvykle 3000 otáček/min)

Membránová filtrační jednotka, která využívá jednorázové filtry s nízkou vazbou proteinů s velikostí porů 0,2 µm až 0,45 µm (např. Millipore SLGV)

Bujón Tryptone Soya Broth (CM0129)
Roztok chloridu sodného (0,85%)
Roztok chlomanu sodného (>1,3% w/w).
Kapátko o objemu 25 μ l (volitelný materiál)
Diktor pro ředění o objemu 25 μ l (volitelný materiál)
Mikromixer (volitelný materiál)
Vlhká komora (volitelný materiál)

2. Složení soupravy

- TD0901 Testovací latex senzitivovaný protilátkou proti enterotoxínu A.** Latexová suspenze senzitivovaná specifickými protilátkami (králíčí IgG) proti stafylokokovému enterotoxínu A.
- TD0902 Testovací latex senzitivovaný protilátkou proti enterotoxínu B.** Latexová suspenze senzitivovaná specifickými protilátkami (králíčí IgG) proti stafylokokovému enterotoxínu B.
- TD0903 Testovací latex senzitivovaný protilátkou proti enterotoxínu C.** Latexová suspenze senzitivovaná specifickými protilátkami (králíčí IgG) proti stafylokokovému enterotoxínu C.
- TD0904 Testovací latex senzitivovaný protilátkou proti enterotoxínu D.** Latexová suspenze senzitivovaná specifickými protilátkami (králíčí IgG) proti stafylokokovému enterotoxínu D.
- TD0905 Kontrolní latex.** Latexové částice senzitivované neimunním králíčím globulínem.
- TD0906 Kontrolní stafylokokový enterotoxin A.**
- TD0907 Kontrolní stafylokokový enterotoxin B.**
- TD0908 Kontrolní stafylokokový enterotoxin C.**
- TD0909 Kontrolní stafylokokový enterotoxin D.**
- TD0910 Vzorkový pufr.** Fosfátový pufr obsahující hovězí sérový albumin a hexametaphosforečnan sodný.

Příbalová informace

3. Extrakce nebo příprava toxinů

Extrakce z potravinových maticí

- 3.1 Rozmíchejte 10 g vzorku s 10 ml roztoku chloridu sodného (0,85%) v mixeru nebo homogenizátoru.
- 3.2 Centrifugujte rozmixovaný vzorek rychlostí 900g při teplotě 4°C po dobu 30 minut. **POZNÁMKA:** Pokud nemáte k dispozici chlazenou centrifugu, ochlaďte před centrifugací vzorek na teplotu 4°C.
- 3.3 Supernatant přefiltrujte přes membránový filtr s nízkou vazbou proteinů s velikostí pórů 0,2 μ m - 0,45 μ m. Filtrát uchovejte pro test obsahu toxinů.

Tvorba enterotoxinu v kultivačních tekutinách

- 3.4 Izolovaný mikroorganismus inokulujte do bujónu Tryptone Soya Broth (CM0129) a inkubujte při teplotě 37°C po dobu 18 až 24 hodin, pokud možno s protřepáváním.
- 3.5 Po dokončení kultivace centrifugujte při rychlosti 900 g po dobu 20 minut při teplotě 4°C nebo filtrujte přes membránu za použití filtru s nízkou vazbou proteinů o velikosti pórů 0,2 μ m až 0,45 μ m. Filtrát uchovejte pro test obsahu toxinů.

4. Kontrola

Každá rekonstituovaná toxinová kontrola způsobí aglutinaci s příslušným senzitivovaným latexem. Použití toxinové kontroly slouží jako reference pro pozitivní vzorce uvedené níže (viz Interpretace výsledků testu). Kontrolu je nutné čas od času použít pouze k ověření správné funkce latexových činidel. Toxinová kontrola se nedodává ve specifikované koncentraci, a proto nelze používat jako prostředek ke kvantifikaci koncentrace toxinu detekovaného v testovaném vzorku.

5. Provedení testu

5.1 Pracovní činidla

Latexová činidla a vzorkové pufrы se dodávají připravené k použití. Latexová činidla je nutné před použitím důkladně protřepat k získání homogenní suspenze. K rekonstrukci kontrolních činidel přidejte do každé lahvičky 0,5 ml vzorkového pufru (TD0910). Šetrně protřepte, dokud se obsah nerozpustí.

- 5.2 Destičku nastavte tak, aby v každé řadě bylo 8 jamek. Pro každý vzorek je zapotřebí 5 takových řad.
- 5.3 Pipetou nebo kapátkem aplikujte do každé jamky v pěti řadách po 25 μ l vzorkového pufru.
- 5.4 Do první jamky v každé řadě aplikujte 25 μ l testovaného vzorku.
- 5.5 Pipetou nebo dilutorem odeberte v první jamce v každé řadě 25 μ l tekutiny a v každé z pěti řad proveďte dvojnásobné ředění. U sedmé jamky zastavte a poslední jamku ponechte pouze s obsahem vzorkového pufru.
- 5.6 Do každé jamky v první řadě aplikujte 25 μ l latexu senzitivovaného protilátkou proti enterotoxínu A.
- 5.7 Do každé jamky ve druhé řadě aplikujte 25 μ l latexu senzitivovaného protilátkou proti enterotoxínu B.
- 5.8 Do každé jamky ve třetí řadě aplikujte 25 μ l latexu senzitivovaného protilátkou proti enterotoxínu C.
- 5.9 Do každé jamky ve čtvrté řadě aplikujte 25 μ l latexu senzitivovaného protilátkou proti enterotoxínu D.
- 5.10 Do každé jamky v páté řadě aplikujte 25 μ l kontrolního latexu.
- 5.11 K promíchání obsahu v jamkách třepíte destičkou na mikromixeru nebo protřepte ručně. Dbejte na to, aby se obsah nedostal z jamek.
- 5.12 Destičku přikryjte víčkem, aby nedocházelo k odpařování. Přijatelnou alternativou je vložení destičky do vlhké komory. Destičku poté nechte v klidu na rovném povrchu bez vibrací při pokojové teplotě po dobu 20 až 24 hodin. Uložení kazety na černý papír po dobu této inkubace napomůže při následném odečítání výsledků testu.
- 5.13 Aglutinaci v každé jamce v každé řadě hodnotte proti černému pozadí.
- 5.14 Centrifugační zkumavky, membránové filtry, mikrotitrační destičky, víčka a pipetovací špičky sterilizujte autoklávacím při teplotě 121°C nebo před likvidací ponořte do dezinfekčního chlomanového roztoku (>1,3 % w/w).
- 5.15 Extrakty kultur, extrakty potravin, vzorky a kontroly

enterotoxínu zlikvidujte v chlomanovém roztoku (>1,3 % w/w).

Datum poslední revize české verze: leden 2017

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Vzniklou aglutinaci posuzujte srovnáním s následujícím obrázkem.



Jako pozitivní se hodnotí výsledky označené (+), (++) a (+++).

Výsledky v řadě jamek s kontrolním latexem mají být negativní. V některých případech lze pozorovat nespecifickou aglutinaci. V takovém případě je nutné výsledky hodnotit jako pozitivní pouze pokud je reakce se senzitizedním latexem pozitivní ve větším ředění testovaného vzorku než pozitivní ředění u kontrolního latexu. Poslední jamka v každé řadě musí být negativní. Pokud se v některé z těchto jamek objeví pozitivní výsledek, je nutné reakci hodnotit jako neplatnou. POZNÁMKA: Některé stafylokokové kmeny produkují více než jeden enterotoxín.

OMEZENÍ TESTU

Udávaná senzitivita tohoto testu při detekci enterotoxinů je 0,5 ng/ml testovaného extraktu. Pokud se extrakt z potravinové směsi smíchá se vzorkovým pufrům v poměru 1:1, je senzitivita v potravinovém vzorku 1 ng/g. Detekční limit se může lišit podle dalších ředících podmínek způsobených typem potravinové matrice. Koncentrace enterotoxinu v potravinovém extraktu lze ovlivnit řadou metod, např. ultrafiltrací. Produkce v kultuře SET závisí na růstových podmínkách. Pozitivní výsledek získaný z dané kultury prokazuje tvorbu jednoho nebo více stafylokokových enterotoxinů, avšak neznamená tvorbu toxinu *in vivo* v takovéto koncentraci.

LITERATURA

1. Shingaki, M., et al. (1981). Ann. Rep. Tokyo Metro. Lab. Public Health 32: 128.
2. Oda, T., et al. (1979) Ann. Rep. Fukuoka City Lab Hyg. 4: 33.
3. Park, C. and Szabo, R. (1986). Can. J. Microbiol. 32: 723.
4. Oda, T. (1978). Jap. J. Bacteriol. 33: 743.
5. Crass, B. and Bergdoll, M. (1986). J. Clin. Microbiol. 23: 43.
6. Rose, S., Bankes, P. and Stringer, M. (1989). Int. J. Food Microbiol. 8: 65-72.

Pro technickou podporu se obraťte na místního distributora.

Dodavatel v České republice:

OXOID CZ s.r.o.
Kaštanová 539/64
620 00 Brno



X2829D Listopad 2003

Příloha č. 2 Jednotková cena zboží

P.č.	Položka	Jednotka	Obchodní název	Cena za jednotku v Kč bez DPH	Cena za jednotku v Kč včetně DPH	Počet jednotek v 1 balení	Jednotková cena za 1 balení v Kč bez DPH	Jednotková cena za 1 balení v Kč s DPH	Katalogové číslo
1	Souprava k detekci enterotoxinů A-D <i>Staphylococcus aureus</i>	souprava	SET RPLA KIT	726,50	879,07	20	14 530,00	17 581,30	TD0900A
2	Souprava k detekci toxinu syndromu toxického šoku (TSST-1) <i>Staphylococcus aureus</i>	souprava	TST RPLA	462,70	559,87	20	9 254,00	11 197,34	TD0940A
3	Souprava k detekci enterotoxinu <i>Clostridium perfringens</i>	souprava	PET RPLA KIT	457,50	553,58	20	9 150,00	11 071,50	TD0930A
4	Souprava k detekci enterotoxinu <i>Bacillus cereus</i>	souprava	BCET RPLA KIT	478,00	578,38	20	9 560,00	11 567,60	TD0950A