Clostridium tetani

IgG – ELISA

ELISA test pro kvantitativní stanovení obsahu IgG protilátek
proti toxinu Clostridium tetani v lidském krevním séru nebo plasmě
Pouze pro diagnostické použití *in vitro.*

CE

Katalogové číslo výrobku: TETG0430 (96 testů)

OBSAH

1. ÚVOD ... 3
2. POUŽITÍ ... 3
3. PRINCIP TESTU ... 3
4. MATERIÁLY ... 3
4.1. REAGENCIE DODÁVANÉ V SOUPRAVĚ ... 3
4.2. MATERIÁL DODÁVANÝ V SOUPRAVĚ ... 3
4.3. DALŠÍ POTŘEBNÉ MATERIÁL A ZAŘÍZENÍ ... 4
5. STABILITA A SKLADOVÁNÍ ... 4
6. PŘÍPRAVA REAGENTŮ ... 4
6.1. STRIPY MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY ... 4
6.2. KONJUGÁT ANTI-LIDSKÉ IGG HRP ... 4
6.3. STANDARDY ... 4
6.4. ŘEDÍCÍ ROZTOK VZORKŮ ... 4
6.5. PROMÝVACÍ ROZTOK (20X KONCENTR.) ... 4
6.6. TMB SUBSTRÁT ... 4
6.7. STOP ROZTOK ... 4
7. ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ ... 4
7.1. ŘEDĚNÍ VZORKŮ ... 4
8. POSTUP PROVEDENÍ TESTU ... 5
8.1. PŘÍPRAVA TESTU ... 5
8.2. MĚŘENÍ ... 5
9. VÝSLEDKY ... 5
9.1. KRITÉRIA PLATNOSTI TESTU ... 5
9.2. VÝPOČET VÝSLEDKŮ ... 5
9.3. TYPICKÁ KALIBRAČNÍ KŘIVKA ... 5
9.4 INTERPRETACE VÝSLEDKŮ A DOPORUČENÍ (UI/ML) ... 6
10. SPECIFICKÉ CHARAKTERISTIKY TESTU ... 6
10.1. PŘESNOST ... 6
10.2. DIAGNOSTICKÁ PŘESNOST ... 6
10.3. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST ... 6
10.4. ANALYTICKÁ CITLIVOST ... 6
11. LIMITY POSTUPU ... 6
12. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A UPOZORNĚNÍ ... 6
12.1. LIKVIDACE ODPADU ... 7
13. LITERATURA ... 7
14. INFORMACE PRO OBJEDNÁVKU ... 7
15. KONTAKTY ... 7
16. SCHÉMA TESTU ... 8

1. ÚVOD

Clostridium tetani je anaerobní, spóry tvořící, grampozitivní tyčinka. Kulaté spory se tvoří na terminálním konci, což pod mikroskopem připomíná tvar tenisové rakety.
Tetanus se rozvine, když se spóry Clostridia tetani rostou za striktně anaerobních podmínek poté, co se dostanou do zranění a malých lacerací. Klinické projevy choroby nejsou primárně způsobeny invazí původce, ale sekrecí silného neurotoxinu (tetanospasmin). Tento toxin blokuje inhibici přenosu signálu a má vysokou afinitu k centrálnímu nervovému systému. Následkem je nadměrná dráždivost svalů k externím podnětům v kombinaci s hlavním vzrůstem svalového napětí bez vědomého vlivu.. Začíná to tonickým spasmem svalů (trimus), mimických svalů a …..(gallet) svalů. Krční, zádová a břišní muskulatura následuje. Ve stejném čase může refektorní spasmus celých svalových skupin zapříčinit zabránění dýchání. Nadměrné slinění a porucha zažívání apiraci a pneumonii při dalším nadechnutí.. Clostridium tetani je celosvětově rozšířený organismus přítomný v půdě a výkalech zvířat a lidí. Pozření bakterie nebo její růst v trávicím traktu lidí nebo zvířat není nebezpečný. Spory jsou extrémně odolné proti vysokým teplotám a mohou zůstat infekční po velmi dlouhou dobu. Bakterie se může dostat pod kůži úplně malým zraněním. V Evropě se onemocnění tetanem vyskytuje hlavně po zraněních a někdy i po operacích, zatímco v rozvojových zemích je široce rozšířený. WHO zjistila, že na celém světě zemře na tetanus jeden milon lidí za rok.
Tetanus toxin je jedinečný imunogen u člověka– existuje jen jeden antigenický typ toxinu. Jediný efektivní způsob, jak předcházet onemocnění tetanem je profylaktická aktivní imunizace.

Druh	Onemocnění	Symptomy	Mechanismus infekce
Clostridium tetani	Tetanus	Těžké a bolestivé křeče a strnulost příčně pruhovaného svalstva, následované selháním srdce,ledvin a krevního oběhu.	Zranění, inokulace

Infekci ze zjistit následujícími metodami:

- Mikroskopicky: barvením podle Grama
- Sérologicky: detekcí hladiny protilátek metodou **ELISA**

2. POUŽITÍ

Souprava firmy NovaTec Imundiagnostica Clostridium tetani IgG ELISA je určena pro **kvantitativní** stanovení IgG protilátek proti **toxinu** Clostridium tetani, přítomných v lidském krevním séru nebo plasmě (citrát). Stanovení tak umožňuje určit stav odolnosti pacienta vůči onemocnění a tím usnadnit individuální doporučení o nutnosti provést základní imunizaci nebo přeočkování.

3. PRINCIP TESTU

Tento kvantitativní test protilátek IgG proti toxoidu Tetanu je založen na principu ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay).
Stěny jamek stripu mikrotitrační destičky jsou potaženy deaktivovanými toxoidy Tetanu, které na sebe navazují odpovídající protilátky ze vzorku. Po promytí jamek, kterým se odstraní nenavázaný materiál vzorků, se do jamek přidá konjugát antilidské IgG s křenovou peroxidázou (HRP), který se naváže na zachycené specifické protilátky anti-toxoid Tetanus ze vzorku. Takto vytvořený imunokomplex je zviditelněn reakcí se substrátem tetrametylbenzidinu (TMB) za vzniku modrého zabarvení roztoku. Intenzita zabarvení je přímo úměrná množství specifických protilátek proti toxoidu Tetanu ve vzorku. Imunochemická reakce je zastavena přidáním kyseliny sírové, čímž dojde ke žlutému zabarvení roztoku. Absorbance roztoku v jamce se měří pomocí ELISA readeru při vlnové délce 450 nm.

4. MATERIÁLY

4.1. Reagencie dodávané v soupravě

- **Mikrotitrační destička,** 12 lomivých stripů po 8 jamkách, jejichž stěny jsou potaženy antigeny deaktivovaného toxoidu; vakuově baleno v uzavírací aluminiové fólii.
- **IgG ředící roztok vzorků** ***: 1 lahvička 100 ml, pufr na ředění vzorků, pH 7,2 ± 0,2, připraven k okamžitému použití, barva **žlutá**, bílý uzávěr.
- **Stop roztok:** 1 lahvička 15 ml 0,2 mol/l kyseliny sírové, připraven k okamžitému použití, červený uzávěr.
- **Promývací roztok (20x konc.)*:** 1 lahvička 50 ml 20x koncentrovaného pufru (pH 7,2 ± 0,2) určeného k promývání jamek mikrotitrační destičky, bílý uzávěr.
- **Konjugát HRP/ antihuman-IgG****: 1 lahvička 20 ml anti-lidské IgG značené křenovou peroxidázou, barva červená, připraven k okamžitému použití, černý uzávěr.
- **Substrát TMB:** 1 lahvička 15 ml 3,3',5,5'-tetra-methyl-benzidinu (TMB), připraven k okamžitému použití, žlutý uzávěr.
- **Standardy IgG Tetanus toxoid***: 4 lahvičky po 2 ml, připraveno k okamžitému použití,.

Standard A	0	UI/ml; modrý uzávěr
Standard B	0,1	UI/ml; zelený uzávěr
Standard C	0,5	UI/ml; žlutý uzávěr
Standard D	1,0	UI/ml; červený uzávěr

* obsahuje 0,01 % Kathonu – po zředění
** obsahuje 0,2 % Bronidoxu L
*** obsahuje 0,1 % Kathonu

4.2. Materiál dodávaný v soupravě

- Rámeček mikrotitrační destičky pro stripy

- 2 krycí fólie
- 1 protokol testu
- 1 schéma rozložení a identifikace vzorků na destičce

4.3. Další potřebné materiál a zařízení

- ELISA reader, vybavený pro měření absorbance při 450 nm a 620 nm
- Inkubátor pro 37° C
- Ruční nebo automatická promývačka mikrotitračních destiček
- Pipety pro dávkování objemů od 10 µl do 1000 µl
- Vortex
- Deionizovaná voda
- Jednorázové zkumavky
- Minutky

5. STABILITA A SKLADOVÁNÍ

Reagencie jsou při teplotě 2 °C - 8 °C stabilní až do doby exspirace uvedené na nálepce.

6. PŘÍPRAVA REAGENTŮ

Před zahájením testu je velmi důležité nechat všechny reagenty, vzorky a kontrolní vzorky dosáhnout laboratorní teploty (20-25 °C)!

6.1. Stripy mikrotitrační destičky

Stripy jsou potaženy deaktivovanými antigeny toxoidu tetanu. Jsou připraveny k okamžitému použití. Skladujte při teplotě 2 – 8 °C. Stripy jsou vakuově zabaleny. *Ihned po otevření sáčku musí být nepoužité stripy opět vzduchotěsně uzavřeny do aluminiového obalu s vysoušecím prostředkem dodávaným v soupravě, a musí být skladovány při teplotě 2 – 8 °C. Jsou stabilní až do exspirace.*

6.2. Konjugát anti-lidské IgG HRP

Lahvička obsahuje 20 ml roztoku anti-lidské IgG, křenové peroxidázy, pufru, stabilizátorů, konzervantů a inertního červeného barviva. Tento roztok je připraven k okamžitému použití. Skladujte při teplotě 2 – 8 °C. *Po prvním otevření je obsah stabilní až do doby exspirace pokud je uložen při teplotě 2 – 8 °C.*

6.3. Standardy

Lahvičky označené jako Standard A, B, C a D obsahují standardní kontrolní roztoky připravené k okamžitému použití. Koncentrace standardů, kalibrovaných podle 1. mezinárodní normy TETANUS IMMUNOGLOBULIN, HUMAN, (kód TE 3) institutu National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC), Potters Bar, UK (Národní institut pro biologické normy a kontrolu Velké Británie se sídlem v Potters Bar) jsou:

Standard A	0,0	UI/ml
Standard B	0,1	UI/ml
Standard C	0,5	UI/ml
Standard D	1,0	UI/ml

Tyto roztoky musí být skladovány při teplotě 2 – 8 °C, obsahují 0,1% Kathonu.
Po prvním otevření je obsah stabilní až do doby exspirace pokud je uložen při teplotě 2 – 8 °C.

6.4. Ředící roztok vzorků

Lahvička obsahuje 100 ml roztoku fosfátového pufru, stabilizátorů, konzervantů a inertního žlutého barviva. Používá se pro předředění pacientských vzorků. Roztok je připraven k okamžitému použití a musí se skladovat při teplotě 2 – 8 °C. *Po prvním otevření je obsah stabilní až do doby exspirace pokud je uložen při teplotě 2 – 8 °C.*

6.5. Promývací roztok (20x koncentr.)

Lahvička obsahuje 50 ml koncentrovaného roztoku pufru, detergentů a konzervantů. Rozřeďte v poměru 1 + 19; např. 10 ml promývacího roztoku + 190 ml čerstvé a zárodků prosté redestilované vody. Naředěný roztok je stabilní po dobu 5 dnů, je-li skladován při pokojové teplotě. *Krystaly v roztoku zmizí po zahřátí na teplotu 37°C ve vodní lázni. Po prvním otevření je obsah stabilní až do doby exspirace pokud je uložen při teplotě 2 – 8 °C*

6.6. TMB substrát

Lahvička obsahuje 15 ml 3,3',5,5'-tetra-methyl-benzidinu (TMB) a peroxidu vodíku. Připraveno k okamžitému použití. Skladujte při teplotě 2 – 8 °C. Chraňte před světlem. *Tento roztok by měl být bezbarvý nebo lehce namodralý. Pokud tento substrát zmodrá, je možné, že byl kontaminován a měl by být zlikvidován. Po prvním otevření je obsah stabilní až do doby exspirace pokud je uložen při teplotě 2 – 8 °C.*

6.7. Stop roztok

Lahvička obsahuje 15 ml 0,2 molární kyseliny sírové (R 36/38, S 26). Připraveno k okamžitému použití. Skladujte při teplotě 2 – 8 °C. *Po prvním otevření je obsah stabilní až do doby exspirace.*

7. ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Jako vzorek může být pro vyšetření použito lidské krevní sérum nebo plazma (citrát). Pokud test provádíte do 5 dní po odběru vzorků, mohou být vzorky skladovány při teplotě 2–8 °C, jinak musejí být zamrazeny (–70 až -20°C). Pokud jsou vzorky skladovány v hluboce zmrazeném stavu, před použitím je nutno je rozmrazit a dobře promíchat. *Nezmrazujete a nerozmrazujte vzorky opakovaně.*

7.1. Ředění vzorků

Před testem se musí vzorky zředit v poměru 1+100 ředícím roztokem vzorků. Pipetujte 10 µl vzorku a 1 ml ředícího roztoku do zkumavek a obsah pečlivě promíchejte na Vortexu.

U pacientů, u nichž se očekává vyšší koncentrace antitoxinu než Standard D (1,0 UI/ml) se musí provést další ředění v poměru 1+10 tohoto již rozředěného vzorku (1+100), např. 20 µl již předředěného vzorku a 200 µl ředícího roztoku vzorků (dobře promíchejte). Ředící faktor: 11.

Standardy dodávané v soupravě jsou připraveny k okamžitému použití a nesmí se ředit.

8. POSTUP PROVEDENÍ TESTU

8.1. Příprava testu

Dříve než začnete provádět rozbor, přečtěte si pečlivě protokol testu. Spolehlivost výsledků závisí na přesném dodržení popsaného postupu**.** Následující postup je validován pouze pro ruční provedení. Při provádění testu na ELISA automatickém systému doporučujeme zvýšit počet promývacích cyklů ze tří na pět a objem promývacího roztoku zvýšit z 300 µl na 350 µl k zabránění efektů z promývání. Stanovte si plán rozložení a identifikace všech vzorků pacientů a kontrolních vzorků na mikrotitrační destičce, můžete použít přiložený formulář. Do rámečku vložte požadovaný počet stripů nebo jamek.

Dodržte následující minimální počet jamek:
1 jamka (např. A1) pro slepý test se substrátem (BLANK)
4 jamky (např. B1, C1, atd.) pro standardy A, B, C a D.

Doporučujeme v případě nutnosti provádět test vzorků pacienta duplicitně.
Provádějte všechny kroky v uvedeném pořadí a bez zbytečných přestávek mezi jednotlivými kroky.

Pro dávkování každého jednotlivého vzorku je nutno používat čisté jednorázové špičky.

Inkubátor nastavte na teplotu 37±1°C.

1. Pipetujte 100 µl standardů (A, B, C a D) a předředěných vzorků do vybraných jamek destičky. Jamku A1 ponechejte volnou pro substrátový BLANK.
2. Jamky přikryjte adhezivní fólií dodávanou jako součást soupravy.
3. **Inkubujte 1 hodinu ± 5 minut při teplotě 37°C ± 1°C**.
4. Po skončení inkubace odstraňte krycí fólii, odsajte obsah jamek a promyjte je třikrát 300 µl promývacího roztoku. Zabraňte přeplnění a přetečení roztoku z jamek. Proplachovací doba mezi každým cyklem by měla být delší než 5 sekund. Nakonec opatrně odstraňte zbývající kapalinu oklepnutím mikrotitrační destičky na savý papír.
   Poznámka: Promývání je velmi důležité! Nedostatečné promytí může ovlivnit přesnost testu nebo vést k falešně zvýšeným hodnotám absorbancí.
5. Pipetujte 100 µl konjugátu Tetanus toxoid anti-IgG do všech jamek s výjimkou jamky A1 určené pro BLANK. Přikryjte krycí fólií.
6. **Inkubujte 30 minut při pokojové teplotě (20 – 25°C).** *Chraňte před přímým slunečním světlem.*
7. Opakujte promytí krok č. 4.
8. Pipetujte 100 µl substrátu TMB do všech jamek včetně A1.
9. **Inkubujte v temnu přesně 15 minut při pokojové teplotě (20-25°C)**.
10. Pipetujte 100 µl Stop roztoku do všech jamek ve stejném pořadí a stejnou rychlostí jakou jste aplikovali substrát. Modré zabarvení, které se objevilo během inkubace, se změní na žluté.
    Poznámka: Vzorky od velmi pozitivních pacientů mohou vytvořit tmavé sraženiny chromogenu! Tyto sraženiny mají vliv na snímání optické hustoty. U těchto vzorků doporučujeme provést předběžné ředění tak, jak je popsáno v odstavci 7.1 Ředění vzorku..
11. Do 30 minut po přidání Stop roztoku změřte absorbanci vzorků při 450 nm (alternativně i při 620 nm.)

8.2. Měření

Vynulujte ELISA reader pomocí BLANKU (jamka A1 se slepým testem substrátu).

Pokud reader nelze z technických důvodů nulovat pomocí BLANKU, odečtěte hodnotu absorbance naměřenou na jamce A1 od všech dalších hodnot naměřených v ostatních jamkách. Obdržíte přesné hodnoty!

Změřte absorbanci všech jamek při 450 nm a zaznamenejte naměřené hodnoty absorbance vzorků do identifikačního plánu rozložení jamek.

Doporučujeme provést duální měření při 620 nm.

Vypočítejte průměrné hodnoty absorbance všech replikátů provedených testů.

9. VÝSLEDKY

9.1. Kritéria platnosti testu

Aby bylo možno test považovat za platný, musí být splněna následující kritéria:

- **Slepý test substrátu** (A1): Hodnota absorbance **nižší než 0,100.**
- **Standard A** (B1): Hodnota absorbance **nižší než 0,300.**

9.2. Výpočet výsledků

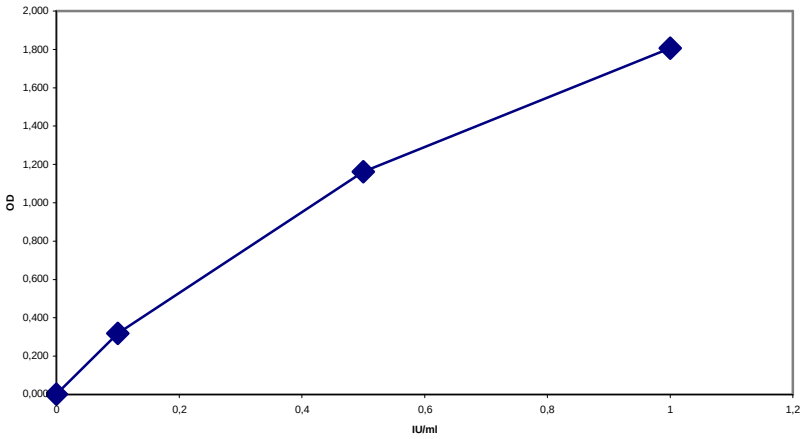
Abyste dostali **kvantitativní výsledky v jednotkách UI/ml** vyneste průměrnou hodnotu absorbance standardů A, B, C a D do lineárního grafu na milimetrový papír proti jejich korespondujícímu koncentracím (0,0 – 0,1 – 0,5 – 1,0 UI/ml) a vykreslete kalibrační křivku (hodnoty absorbance jsou na svislé ose y, koncentrace jsou na vodorovné ose x).

Výsledky (antitoxin IgG koncentrace v IU/ml) odečtěte z kalibrační křivky grafu s použitím průměrných hodnot absorbance každého ze vzorků pacienta i z kontrolních vzorků.

*Poznámka: Abyste dostali správný výsledek **dodatečně** ředěných vzorků musí se jejich zjištěná hodnota násobit příslušným faktorem ředění! (Ředění: 1 + 10 = Faktor ředění: 11) (Viz odstavec „Příprava vzorku“)*

Pro automatický výpočet křivky a výsledků vzorků lze použít veškeré k tomu vhodné počítačové programy.

9.3. Typická kalibrační křivka



9.4 Interpretace výsledků a doporučení (UI/ml)

< 0,01	Žádné ochranné protilátky! Doporučuje se okamžitá základní imunizace
0,01 – 0,1	Žádná spolehlivá ochrana! Doporučuje se přeočkování a kontrola koncentrace protilátek 4-6 týdnů později.
0,11 – 0,5	Spolehlivá ochrana! Doporučuje se přeočkování a kontrola koncentrace protilátek o 4 až 6 týdnů později.
0,51 – 1,0	Spolehlivá ochrana! Doporučuje se kontrola koncentrace protilátek po asi 2 letech. Přeočkování není nutné. *Poznámka: V případech koncentrace vyšší než 0,5 UI/ml může mít vakcinace vedlejší účinky!.*
1,1 – 5,0	Dlouhodobá ochrana. Kontrola za 5 až 10 let.
> 5,0	Dlouhodobá ochrana. Kontrola za 10 let.

10. SPECIFICKÉ CHARAKTERISTIKY TESTU

10.1. Přesnost

Intraassay	**n**	**Průměrná hodnota**	**CV (%)**
Slabě pozit. sérum	24	0,56	7,1
Pozit. sérum	24	1,24	4,9
Interassay	**n**	**Průměrná hodnota (IU/ml)**	**CV (%)**
Slabě pozit. sérum	10	0,22	11,3
Pozit. sérum	10	0,54	7,7

10.2. Diagnostická přesnost

Pravděpodobnost, že test vykáže negativní výsledky při absenci specifického analytu. Přesnost testu je >95 %.

10.3. Diagnostická citlivost

Pravděpodobnost, že test vykáže pozitivní výsledky za přítomnosti specifického analytu. Citlivost testu je >95 %.

10.4. Analytická citlivost

Zjevná koncentrace analytu, kterou lze odlišit od nulového kalibrátoru. Analytická citlivost testu je < 0,05 UI/ml.

10.5. Interference

Interference s hemolytickými, lipemickými nebo ikterickými séry nebyly sledovány do koncentrací: hemoglobin 10 mg/ml, trigylceridy 5 mg/ml a bilirubin 0,2 mg/ml.

Poznámka: Tyto výsledky se vztahují ke konkrétním testovaným vzorkům. Stejné výsledky nelze v praxi zaručit.

11. LIMITY POSTUPU

Naměřené hodnoty absorbance mohou být ovlivněny opakovaným zmrazováním a rozmrazováním vzorků nebo bakteriální kontaminací. Diagnóza infekční choroby by neměla být založena na výsledku jediného testu. Přesná diagnóza by měly vzít v úvahu klinickou minulost pacienta, symptomatologii a také sérologická data. U pacientů s oslabeným imunitním systémem a u novorozenců mají sérologická data pouze omezenou platnost.

12. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A UPOZORNĚNÍ

- V souladu s článkem 1 paragrafu 2b Evropské direktivy 98/79/EC je výrobce povinen zajistit vhodnost, funkčnost a bezpečnost produktu. Proto postup testu, informace, upozornění a varování v návodu pro použití musí být striktně dodržovány. Použití testovací soupravy na analyzátoru a podobných zařízeních musí být validováno. Jakákoliv změna ve vzhledu, složení a postupu testu, a také použití v kombinaci s jinými produkty neschválené výrobcem není autorizované; uživatel sám je zodpovědný za takovéto změny. Výrobce není zodpovědný za falešné výsledky a nehody tímto způsobené. Výrobce není zodpovědný za žádné výsledky získané vizuální analýzou pacientova vzorku.
- Souprava je určena pouze pro diagnostické použití in vitro.

- Všechny komponenty lidského původu použité pro výrobu reagentů tohoto testu byly otestovány na přítomnosti protilátek proti HIV, HCV a HbsAg a byly shledány nereaktivní. Nicméně, všechny materiály by měly být považovány za potenciálně infekční, a s jako takovými by s nimi mělo být nakládáno.
- Nezaměňujte reagenty a destičky z různých výrobních šarží.
- S reagenty této testovací sady se nesmí používat žádné reagenty od jiných výrobců.
- Nepoužívejte reagenty po uplynutí doby jejich exspirace uvedené na štítku.
- Používejte vždy pouze čisté jednorázové špičky, vícekanálové pipety a laboratorní zařízení.
- Nezaměňujte šroubovací víčka z lahviček mezi sebou, zabráníte tím křížové kontaminaci.
- Lahvičky s reagenty dobře a těsně zavírejte okamžitě po použití, abyste zabránili odpařování a mikrobiální kontaminaci.
- Po prvním otevření a po následném skladování zkontrolujte před dalším použitím konjugát i lahvičky s kontrolními vzorky, zde u nich nedošlo k mikrobiální kontaminaci.
- Abyste zabránili křížové kontaminaci a falešně zvýšeným hodnotám výsledků, pipetujte vzorky a ostatní reagencie na dno jamek bez pokapání okolí jamky.

Upozornění:

POZOR	Bronidox L v použité koncentraci nepředstavuje při kontaktu s pokožkou a sliznicí téměř žádné toxikologické riziko!
POZOR:	Kyselina sírová dráždí oči a pokožku. Přechovávejte z dosahu dětí. Při vniknutí do očí, důkladně promyjte vodou a vyhledejte lékaře.

12.1. Likvidace odpadu

Zbytky chemikálií a preparátů se obecně považují za nebezpečný odpad. Likvidace tohoto typu odpadu je regulována národními a místními zákony a nařízeními. Spojte se s místními úřady nebo se firmami zabývajícími se likvidací nebezpečného a toxického odpadu, které vám poradí jak máte naložit s nebezpečným odpadem.

13. LITERATURA

Ambrosch,F.,Wiedermann,G.,Müller,H.: Eine neue Mikro-ELISA-Methode zur Bestimmung der Tetanus-Antikörper.Zbl.Bakt.Hyg.A258,173-182 (1984)

Mai,K.,Bartelheimer,H.K.,Rosin,H.:Über den Stand und die Dauer des Impfschutzes gegen Tetanus bei Kindern.Dtsch.med.Wschr.95,1044 (1970)

Müller,H.E.,Müller,M.,Schiek,W.: Tetanus-Schutzimpfung-Indikation und Kontraindikation.Dtsch.med.Wschr.113,1326 (1988)

Pietsch,M.:Impfserologie zur Ergänzung von Impfungen.Allgemeinarzt 15,1155-1156 (1993)

Schröder,J.P.,Kuhlmann,W.D.: Tetanusimmunität bei Männern und Frauen in der BRD.Immun.Infekt.19,14 (1991)

14. INFORMACE PRO OBJEDNÁVKU

Katalogové číslo výrobku: TETG0430 Clostridium tetani IgG ELISA (96 testů)

15. KONTAKTY

Výrobce: NovaTec Immundiagnostica GmbH
Technologie & Waldpark
Waldstr. 23 A6D-63128 Dietzenbach, Germany
T: +49 6074-48760, F: +49 6074-487629, E: info@NovaTec-ID.com
http: www.NovaTec-ID.com

Distributor: **LABOSERV s.r.o.**
Hudcova 78b
612 00 Brno, Česká republika
T: 541 243 113, F: 541 243 114, E:laboserv@laboserv.cz, http://www.laboserv.cz

16. SCHÉMA TESTU

SCHÉMA TESTU

Clostridium tetani IgG-ELISA

Příprava testu

Připravte reagenty a vzorky tak, jak je popsáno.
Připravte plán umístění a identifikace vzorků pacientů a kontrolních vzorků.
Vyberte potřebný počet jamek mikrotitrační destičky a vložte je do rámečku.

Postup testu

	slepý test substrátu (např. A1)	Standard A	Standard B	Standard C	Standard D	Vzorek (ředěný 1+100)
Standard A	-	100µl	-	-	-	-
Standard B	-	-	100µl	-	-	-
Standard C	-	-	-	100µl	-	-
Standard D	-	-	-	-	100µl	-
Vzorek (ředěný 1+100)	-	-	-	-	-	100µl
Přikryjte folií ze soupravy **Inkubace 1 hodinu při teplotě 37°C** Promytí 3 x 300 µl promývacího roztoku						
Konjugát	-	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl
Přikryjte folií ze soupravy **Inkubace 30 min při pokojové teplotě** Promytí 3 x 300 µl promývacího roztoku						
TMB Substrát	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl
Inkubace 15 min při pokojové teplotě, v temnu						
Stop Roztok	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl
Fotometrické měření při 450 nm (referenční vlnová délka: 620 nm)						