

Bordetella pertussis/toxin

IgG – ELISA

ELISA test pro semikvantitativní stanovení obsahu IgG protilátek
proti Bordetella pertussis a Bordetella pertussis toxinu
v lidském krevním séru nebo plasmě

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.



Číslo výrobku: BOPG0030 (96 testů)

OBSAH

| | |
|---|----------|
| 1. ÚVOD | 3 |
| 2. POUŽITÍ | 3 |
| 3. PRINCIP TESTU | 3 |
| 4. MATERIÁLY | 3 |
| 4.1. REAGENTY DODÁVANÉ V SOUPRAVĚ | 3 |
| 4.2. MATERIÁL DODÁVANÝ V SOUPRAVĚ | 4 |
| 4.3. DALŠÍ POTŘEBNÉ MATERIÁLY A ZAŘÍZENÍ | 4 |
| 5. STABILITA A SKLADOVÁNÍ | 4 |
| 6. PŘÍPRAVA REAGENTŮ | 4 |
| 6.1. STRIPY MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY | 4 |
| 6.2. KONJUGÁT ANTI-IGG | 4 |
| 6.3. KONTROLNÍ VZORKY | 4 |
| 6.4. IGG ŘEDÍCÍ ROZTOK VZORKŮ | 4 |
| 6.5. PROMÝVACÍ ROZTOK (20X KONCENTR.) | 4 |
| 6.6. ROZTOK TMB SUBSTRÁTU | 4 |
| 6.7. STOP ROZTOK | 5 |
| 7. ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ | 5 |
| 7.1. ŘEDĚNÍ VZORKŮ | 5 |
| 8. POSTUP PROVEDENÍ TESTU | 5 |
| 8.1. PŘÍPRAVA TESTU | 5 |
| 8.2. PRACOVNÍ POSTUP | 5 |
| 8.3. MĚŘENÍ | 6 |
| 9. VÝSLEDKY | 6 |
| 9.1. VALIDITA TESTU | 6 |
| 9.2. VÝPOČET VÝSLEDKŮ | 6 |
| 9.3. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ | 6 |
| 9.3.1. VÝSLEDKY V JEDNOTKÁCH FIRMY NOVA TEC (NTU) | 6 |
| 10. SPECIFICKÉ CHARAKTERISTIKY TESTU | 6 |
| 10.1. PŘESNOST | 6 |
| 10.2. DIAGNOSTICKÁ PŘESNOST | 6 |
| 10.3. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST | 6 |
| 11. LIMITY POSTUPU | 7 |
| 12. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A UPOZORNĚNÍ | 7 |
| 12.1. LIKVIDACE ODPADU | 7 |
| 13. LITERATURA | 7 |
| 14. INFORMACE PRO OBJEDNÁVKU | 7 |
| 15. KONTAKTY | 8 |
| 16. SCHÉMA TESTU | 8 |

1. ÚVOD

Bordetella je opouzdřený gramnegativní (0,3-0,5 µm silný a 1 µm dlouhý) kulový bacil netvořící spóry. Tento rod se skládá z pro člověka nebezpečných druhů Bordetella pertussis, Bordetella parapertussis a Bordetella bronchiseptica, která způsobuje enzootické infekce u různých druhů divokých i domestikovaných zvířat.

Bordetella pertussis způsobuje u lidí syndrom známý jako černý kašel. Je to velmi nakažlivá dětská choroba, asi 80 % případů se vyskytuje u dětí do věku 5 let, která se přenáší kapénkovou infekcí. Stupeň úmrtnosti je poměrně vysoký (1 – 2 % během prvního roku života, později asi 1 ‰). Aktivní imunizací lze černému kašli předcházet. Po klinickém onemocnění černým kašlem vzniká přirozená imunita, která je dlouhodobá, ale ne trvalá. Rozšíření této choroby je celosvětově ovlivňované preventivním očkováním a dalšími nepřesně definovanými sociálními, ekonomickými a nutričními faktory. Ve většině zemí se doporučuje aktivní vakcinace. Imunizační opatření se obvykle kombinuje s opatřeními proti záškrtu a tetanu.

| Druh | Onemocnění | Příznaky | Mechanismus infekce |
|----------------------|-------------|---|--|
| Bordetella pertussis | černý kašel | Katarální stádium: onemocnění s nespecifickými symptomy včetně zhoršujícího se kašle, nasálních symptomů, lehkou horečkou. Paroxysmální stádium: silné onemocnění, záchvatový kašel. | Kapénková infekce: styk organismu s tracheálními a bronchiálními řasami, ztráta funkce a konečné zničení tkáně, inkubační doba 7 – 14 dní. |

Infekci lze identifikovat:

- Mikroskopicky: identifikace v kulturách, IF
- Sérologicky: stanovením protilátek metodou ELISA

Pro efektivní léčbu pacienta, izolaci ohrožených neočkovaných dětí a pro odlišení černého kašle od atypických onemocnění a chronických infekcí přesná diagnóza je nutná.

2. POUŽITÍ

Souprava firmy NovaTec Imundiagnostica Bordetella pertussis IgG-ELISA je určena pro kvalitativní stanovení IgG protilátek proti Bordetella pertussis a Bordetella pertussis toxinu v lidském krevním séru nebo plasmě (citrát).

3. PRINCIP TESTU

Stanovení IgG protilátek proti Bordetella pertussis je založeno na principu ELISA. Stěny jamek stripů mikrotitrační destičky jsou potaženy antigeny Bordetella pertussis toxin, které na sebe navazují odpovídající protilátky ze vzorku pacienta. Po promytí jamek, kterým se odstraní nenavázaný materiál vzorků, se do jamek přidá konjugát protilátky proti lidskému IgG s křenovou peroxidázou (HRP), který se na zachycené specifické protilátky proti Bordetella pertussis. Takto vytvořený imunokomplex je zviditelněn přidáním substrátu tetramethylbenzidinu (TMB) za vzniku modrého zbarvení. Intenzita zbarvení je přímo úměrná množství IgG protilátek proti Bordetella pertussis přítomných ve vzorku pacientova séra. Reakce se zastaví změnou pH, přidáním kyseliny sírové. Intenzita konečného žlutého zbarvení se měří pomocí ELISA readeru při vlnové délce 450 nm.

4. MATERIÁLY

4.1. Reagenty dodávané v soupravě

- **Mikrotitrační destička**, 12 lomitelných stripů po 8 jamkách potažených antigeny Bordetella pertussis; vakuově zabaleno v uzavírací aluminiové fólii.
- **IgG ředící roztok vzorků** ***: 1 lahvička, 100 ml pufru pro ředění vzorků, připraveno k okamžitému použití, pH 7,2 ± 0,2, barva žlutá, bílý uzávěr.
- **Stop roztok**: 1 lahvička, 15 ml 0,2 mol/l kyseliny sírové, připraveno 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 anti-IgG** **: 1 lahvička, 20 ml králíčí protilátky proti lidskému IgM značené křenovou peroxidázou, barva červená, připraveno k okamžitému použití, černý uzávěr.
- **Substrát TMB**: 1 lahvička, 15 ml 3,3',5,5'-tetra-methyl-benzidinu (TMB), připraveno k okamžitému použití, žlutý uzávěr.
- **Pozitivní kontrola Bordetella pertussis IgG** ***: 1 lahvička, 2 ml pozitivního séra, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, červený uzávěr.
- **Cut-off kontrola Bordetella pertussis IgG** ***: 1 lahvička, 3 ml pozitivního séra, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, zelený uzávěr.

- **Negativní kontrola Bordetella pertussis IgG ***:** 1 lahvička, 2 ml negativního séra, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, **modrý** uzávěr.

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

4.2. Materiál dodávaný v soupravě

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

4.3. Další potřebné materiály a zařízení

- ELISA reader pro měření absorbance při 450 nm s referenčním filtrem 620 nm
- Inkubátor pro 37° C
- Ruční nebo automatická promývačka mikrotitračních destiček
- Pipety pro dávkování objemů od 10 - 1000 µl
- Vortex
- Deionizovaná voda
- Jednorázové zkumavky
- Stopky

5. STABILITA A SKLADOVÁNÍ

Reagenty obsažené v soupravě jsou při teplotě 2 - 8 °C stabilní až do doby expirace uvedené na nálepce.

6. PŘÍPRAVA REAGENTŮ

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

6.1. Stripy mikrotitrační destičky

Stěny jamek mikrotitračních stripů jsou potaženy antigeny Bordetella pertussis. 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 expirace.*

6.2. Konjugát anti-IgG

Lahvička obsahuje 20 ml králičí protilátky proti lidskému IgG značené křenovou peroxidázou, 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 expirace pokud je uložen při teplotě 2 - 8 °C.*

6.3. Kontrolní vzorky

Lahvičky označené jako Pozitivní kontrola, Cut-off kontrola a Negativní kontrola obsahují kontrolní roztoky připravené k okamžitému použití. Roztoky obsahují 0,1% Kathon a musí být skladovány při teplotě 2 - 8 °C *Po prvním otevření je obsah stabilní až do expirace pokud je uložen při teplotě 2 - 8 °C.*

6.4. IgG ředící roztok vzorků

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

6.5. Promývací roztok (20x koncentrac.)

Lahvička obsahuje 50 ml koncentrovaného roztoku pufru, detergentů a konzervantů. Rozředte v poměru 1:20; např. 10 ml promývacího roztoku + 190 ml deionizované vody. Naředěný roztok je stabilní 5 dní při laboratorní teplotě. *Krystaly v roztoku zmizí po zahřátí na teplotu 37°C ve vodní lázni.*

6.6. Roztok TMB Substrátu

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 byl kontaminován a měl by být zlikvidován. Po prvním otevření je obsah stabilní do expirace 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). Přípraveno k okamžitému použití. Skladujte při teplotě 2 – 8 °C. *Po prvním otevření je obsah stabilní do expirace.*

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 nerozmrazujete vzorky opakovaně.*

7.1. Ředění vzorků

Před provedením testu musíte všechny vzorky předředit v poměru 1:101 ředícím roztokem vzorků. Pipetujte 10 µl vzorku a 1 ml IgG ředícího roztoku vzorků do zkumavek a obsah pečlivě promíchejte na Vortexu. *Positivní a negativní kontroly dodávané v soupravě jsou připraveny k okamžitému použití a nesmí se dále 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. Níže uvedený postup platí pro manuální provedení testu. Budete-li jej provádět na automatu, doporučujeme zvýšit počet promývacích kroků ze tří na pět a promývat 300-350 µl promývacího roztoku. Než začnete s prací, stanovte si plán rozložení a identifikace všech vzorků a kontrol na mikrotitrační destičce na příslušném formuláři dodávaném v soupravě. Vyberte požadovaný počet *mikrotitračních jamek* a vložte je do rámečku.

Je velmi důležité, aby před začátkem testu byly všechny reagenty vytemperovány na pokojovou teplotu!

Dodrže následující minimální počet jamek:

| | |
|-----------------------|---|
| 1 jamka (např. A1) | pro slepý test se substrátem <i>BLANK</i> |
| 1 jamka (např. B1) | pro negativní kontrolu |
| 2 jamky (např. C1+D1) | pro cut-off kontrolu |
| 1 jamka (např. E1) | pro pozitivní kontrolu |

Ponecháváme na uživateli, zda se v případě nutnosti rozhodne provádět test vzorků pacienta i test kontrolních vzorků 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°C ± 1°C.

8.2. Pracovní postup

- Pipetujte 100 µl negativní kontroly, pozitivní kontroly a předředených vzorků do jamek, které jste vybrali. Jamku A1 ponechejte pro *BLANK*.
- Jamky přikryjte fólií dodávanou jako součást soupravy
- Inkubujte 1 hodinu ± 5 minut při teplotě 37°C ± 1°C.**
- Po skončení inkubace odstraňte krycí fólii, odsajte obsah jamek, a promyjte 3 x 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 vést k malé přesnosti testu nebo k falešným hodnotám absorbance.
- Pipetujte 100 µl konjugátu anti-IgG do každé jamky s výjimkou jamky A1 určené pro *BLANK*. Přikryjte krycí fólií.
- Inkubujte 30 minut při pokojové teplotě. Chraňte před přímým slunečním světlem.**
- Opakujte krok 4.
- Pipetujte 100 µl roztoku substrátu TMB do všech jamek.
- Inkubujte 15 minut při pokojové teplotě, v temnu.**
- Pipetujte 100 µl Stop roztoku do všech jamek ve stejném pořadí, a stejnou rychlostí jakou jste aplikovali substrát. Modré zabarvení jamek se mění na žluté, barva je stabilní 30 minut.
Poznámka: Vzorky od velmi pozitivních pacientů mohou vytvořit tmavé sraženiny chromogenu! Tyto sraženiny mají vliv na snímání optické hustoty. U těchto vzorků doporučujeme provést prvotní ředění vzorku fyziologickým roztokem chloridu sodného, např. 1:1. Pak vzorky neředte standardním postupem 1:101 IgG ředícím roztokem vzorků ze soupravy. V tomto případě musíte výsledky vyjádřené v jednotkách NTU násobit 2x.
- Změřte absorbanci vzorků při 450 nm. Referenční vlnová délka je 620 nm.do třiceti minut po přidání stop činidla.

8.3. Měření

Vynulujte ELISA reader pomocí *BLANKu* (jamka A1). Pokud reader nelze z technických důvodů vynulovat odečtete hodnotu *BLANKu* od všech naměřených hodnot v ostatních jamkách. Obdržíte přesné hodnoty!

Změřte absorbanci všech jamek při **450 nm** a zaznamenejte naměřené hodnoty absorbance vzorků do identifikačního plánu rozložení jamek. Tam, kde je to nutné, vypočítejte **průměrné hodnoty absorbance**.

Doporučujeme provést měření i při duální hustotě 620 nm.

9. VÝSLEDKY

9.1. Validita testu

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

- **BLANK** A1: Hodnota absorbance **nižší než 0,100.**
- **Negativní kontrola** B1: Hodnota absorbance **nižší než 0,200.**
- **Cut-off kontrola** C1+D1: Hodnota absorbance **mezi 0,250 a 0,900.**
- **Pozitivní kontrola** E1: Hodnota absorbance rovna nebo vyšší než *Cut-off* koeficient.

9.2. Výpočet výsledků

Cut-off koeficient je průměr hodnot absorbancí *Cut-off* kontrol.

Příklad: Naměřená hodnota absorbance cut-off kontroly 0,39 + naměřená hodnota absorbance cut-off kontroly 0,37 = 0,76/2=0,38
Cut-off = 0,38

9.3. Interpretace výsledků

Vzorky lze považovat za **POZITIVNÍ** pokud je hodnota jejich absorbance o 10% vyšší než hodnota *Cut-off*.

Vzorky jejichž hodnota absorbance je v pásmu 10 % nad nebo pod hodnotou *Cut-off* nelze považovat za jednoznačně pozitivní nebo negativní -> **šedá zóna**. U těchto vzorků doporučujeme opakovat test za 2 až 4 týdny s čerstvě odebranými vzorky. Pokud i výsledky druhého testu budou opět v šedé zóně, je tyto vzorky možno považovat za **NEGATIVNÍ**.

Vzorky lze považovat za **NEGATIVNÍ** pokud je hodnota jejich absorbance o 10% nižší než hodnota *Cut-off*.

9.3.1. Výsledky v jednotkách firmy NovaTec (NTU)

$\frac{\text{hodnota (průměrná) absorbance vzorku pacienta} \times 10}{\text{Cut-off koeficient}} = [\text{NovaTec-Units} = \text{NTU}]$

Příklad: $\frac{1,216 \times 10}{0,38} = 32 \text{ NTU (NovaTec Units)}$

| | | |
|-----------------|------|-----|
| <i>Cut-off:</i> | 10 | NTU |
| Šedá zóna: | 9-11 | NTU |
| Negativní: | <9 | NTU |
| Pozitivní: | >11 | NTU |

10. SPECIFICKÉ CHARAKTERISTIKY TESTU

10.1. Přesnost

| <u>Interassay</u> | <u>počet</u> | <u>průměr</u> | <u>CV (%)</u> |
|-------------------|--------------|---------------|---------------|
| Poz. sérum | 12 | 15 | 4,9 |
| | 12 | 35 | 6,1 |

| <u>Intraassay</u> | <u>počet</u> | <u>průměr</u> | <u>CV (%)</u> |
|-------------------|--------------|---------------|---------------|
| Poz. sérum | 20 | 0,55 | 3,9 |
| | 24 | 1,48 | 5,2 |

10.2. Diagnostická přesnost

Pravděpodobnost, že test vykáže negativní výsledky při absenci specifického analytu. Přesnost tohoto testu je 72,7 %.

10.3. Diagnostická citlivost

Pravděpodobnost, že test vykáže pozitivní výsledky za přítomnosti specifického analytu. Citlivost tohoto testu je 98,8 %.

10.4. Interference

Interference s hemolytickými, lipemickými nebo icterickými séry nebyla sledována po koncentraci: 10 mg/ml hemoglobin, 5 mg/ml triglyceridy, 0,2 mg/ml bilirubin.

Poznámka: Tyto výsledky se vztahují ke konkrétním testovaným vzorkům. Stejně 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 měla brát 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.
- Pouze pro diagnostické použití in-vitro.
- Všechny komponenty lidského původu použité pro výrobu reagentů tohoto testu byly testovány na přítomnosti 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 expirace uvedené na štítku.
- Používejte pouze čisté jednorázové špičky, vícekanálové pipety a laboratorní zařízení.
- Nezaměňujte šroubovací víčka z lahvíček 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, zda u nich nedošlo k mikrobiální kontaminaci.
- Abyste zabránili křížové kontaminaci a falešně zvýšeným hodnotám výsledků, dávku pipetou reagencie vždy na dno jamek bez pokapání okolí.

| | |
|--------|--|
| 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 specializovanými firmami zabývajícími se likvidací nebezpečného a toxického odpadu, které vám poradí, jak máte tímto s nebezpečným odpadem naložit.

13. LITERATURA

Wong,K.H.,and S.K.Skelton.1989.Preparation of filamentous hemagglutinin from Bordetella pertussis and assay for serum antibodies to filamentous hemagglutinin and pertussis toxin for clinical and public health lab.J.Clin.Microbiol.27:2805-2810

Zackrisson,G.,I.,Krantz,T.Legergard,P.Larsson,R.Sekura,N.Sigurs,J.Taranger,and B.Trollfors.1988.Humoral antibody response to pertussis toxin in patients with clinical pertussis

Zachrisson,G.,I.Krantz,T.Lagergard,P.Larsson,R.Sekura,NSigurs,S.Taranger,and B.Trollfors.1988.Humoral antibody response to pertussis toxin in patient with clinical pertussis measured by an enzyme-linked immunosorbent assay.Eur.J.Clin.Microbiol.7:149-154

Granstrom,M.,G.Granstrom,A.Lindtors 1982. Serologic diagnosis of whooping cough by an enzyme-linked immunobent assay using fimbrial hemagglutinin as antigen.J.Infect.Dis.146:741-745

14. INFORMACE PRO OBJEDNÁVKU

Katalogové číslo výrobku: BOPG0030 Bordetella pertussis 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**

Bordetella pertussis IgG-ELISA

Příprava testu

Připravte reagenty a vzorky tak, jak je popsáno.
 Stanovte plán rozdělení a identifikace všech vzorků a kontrol.
 Umístěte potřebný počet jamek do rámečku mikrotitrační destičky.

Postup testu

| | Slepý test Substrátu (např. A1) | Negativní kontrola | Pozitivní kontrola | Cut-off kontrola | Vzorek (ředěný 1+100) |
|--|---------------------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|--------------------------|
| Negativní kontrolní vzorek | - | 100 µl | - | - | - |
| Pozitivní kontrolní vzorek | - | - | 100 µl | - | - |
| Cut-off kontrola | - | - | - | 100 µl | - |
| Vzorek (ředěný 1+100) | - | - | - | - | 100 µl |
| Přikrytí krycí folií dodávanou v soupravě Inkubace 1 hodinu při teplotě 37°C Promytí 3 x 300 µl promývacího roztoku | | | | | |
| Konjugát | - | 100 µl | 100 µl | 100 µl | 100 µl |
| Přikrytí krycí folií dodávanou v soupravě Inkubace 30 min při pokojové teplotě Promytí 3 x 300 µl promývacího roztoku | | | | | |
| Substrát TMB | 100 µl | 100 µl | 100 µl | 100 µl | 100 µl |
| Inkubace 15 min při pokojové teplotě v temnu | | | | | |
| Stop roztok | 100 µl | 100 µl | 100 µl | 100 µl | 100 µl |

Měření při 450 nm (referenční vlnová délka: 620 nm)