

Candida albicans

IgA – ELISA

ELISA test pro kvalitativní stanovení obsahu IgA protilátek
proti Candida albicans v lidském krevním séru nebo plasmě

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.



Katalogové číslo výrobku: CANA0060 (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-IGA CANDIDA ALBICANS	4
6.3. KONTROLNÍ VZORKY	4
6.4. ŘEDÍCÍ ROZTOK VZORKŮ	4
6.5. PROMÝVACÍ ROZTOK	CHYBA! ZÁLOŽKA NENÍ DEFINOVÁNA.
6.6. TMB SUBSTRÁT	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. MĚŘENÍ	5
9. VÝSLEDKY	6
9.1. KRITÉRIA PLATNOSTI TESTU	6
9.2. VÝPOČET VÝSLEDKŮ	CHYBA! ZÁLOŽKA NENÍ DEFINOVÁNA.
9.3. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	CHYBA! ZÁLOŽKA NENÍ DEFINOVÁNA.
9.3.1. VÝSLEDKY V JEDNOTKÁCH FIRMY NOVAtec (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	7
16. SCHÉMA TESTU	8

1. ÚVOD

Druhy Candida jsou kvasinky, které nevytvářející podhoubí ani askopory a které vypadají jako malé (4 – 6 µm), oválné, tenkostěnné grampozitivní pučící buňky. Nejdůležitější reprezentant rodu Candida albicans je fakultativní patogen člověka. Candida albicans je všudypřítomný organismus, který se často nalézá jako přechodná flora na normálních sliznicích. Přestože pro zdravé jedince není patogenní, může představovat nebezpečí pro pacienty trpící řadou různých onemocnění, a také pro pacienty, kteří byli intenzivně léčeni širokospektrálními antibiotiky, nebo kterým byly podávány preparáty na potlačení imunity. Kandidóza je v 90 % případů způsobena Candidou albicans. Kandidóza je akutní nebo subakutní infekce, při níž se vytváří léze v ústech (orální kandidóza), ve vagíně (vulvo-vaginální kandidóza), na pokožce a nehtech, v průduškách nebo v plicích (broncho-pulmonální kandidóza). Příležitostně může způsobovat otravu krve, zánět endokardu nebo zánět mozkových blan. U pacientů s oslabeným imunitním systémem s celulární imunodeficiencí (např. AIDS), může Candida albicans způsobovat vážné nekrozy infikovaných tkání. Rychlá metoda identifikace tohoto organismu je důležitá hlavně z důvodu jeho patogenity

Druh	Onemocnění	Symptomy	Mechanismus infekce
Candida albicans	Kandidóza	Léze se liší v závislosti na infikovaném místě. Například orální infekce vykazují typické krémově bílé skvrny, zatímco u bronchiální kandidózy je nejtypičtější příznakem kašel.	Endogenní: Obvykle je kandidóza způsobena zvýšenou citlivostí na některý prvek normální lidské flory. Exogenní: Přenos mezi jedinci: Infekce novorozenců Candidou albicans cestou plodu při porodu. Přenos nesterilními nemocničními nástroji.

Přítomnost tohoto patogenu resp. infekci lze zjistit následujícími metodami:

- Mikroskopicky: barvení Gramovou metodou, izolace organismu v kulturách
- Sérologicky: detekcí tvorby protilátek metodou ELISA

2. POUŽITÍ

Souprava firmy NovaTec Imundiagnostica Candida albicans IgA-ELISA je určena pro kvalitativní stanovení IgA protilátek proti bakterii Candida albicans v lidském krevním séru nebo plasmě (citrát).

3. PRINCIP TESTU

Stanovení IgA protilátek proti Candida albicans je založeno na principu ELISA. Stěny jamek stripů mikrotitrační destičky jsou potaženy antigeny Candida albicans, které na sebe navazují odpovídající protilátky ze vzorku pacienta. Po promytí jamek, kterým se odstraní nenavázaný materiál vzorků, se do jamek přidá konjugát anti-lidského IgA značený křenovou peroxidázou (HRP). Tento konjugát se váže na zachycené specifické protilátky proti Candida albicans. Takto vytvořený imunokomplex je zviditelněn přidáním substrátu tetrametylbenzidinu (TMB) za vzniku modrého zbarvení. Intenzita zbarvení je přímo úměrná množství IgA protilátek proti Candida albicans přítomných ve vzorku pacientova séra. Reakce se zastaví změnou pH, přidáním kyseliny sírové. Tím se dojde ke konečnému žlutému zbarvení. Intenzita zbarvení se měří pomocí ELISA readeru při vlnové délce 450 nm.

4. MATERIÁLY

4.1. Reagenty dodávané v soupravě

- **Mikrotitrační destička**, 12 lomivých stripů po 8 jamkách potažených antigeny Candida albicans; vakuově zabaleno v uzavírací aluminiové fólii.
- **IgA ředící roztok vzorků *****: 1 ampule, 100 ml pufru na ředění vzorků, připraveno k okamžitému použití, pH 7,2 ± 0,2, barva žlutá, bílé krycí víčko.
- **Stop roztok**: 1 ampule, 15 ml kyseliny sírové, připraveno k okamžitému použití, 0,2 mol/l, červené krycí víčko.
- **Promývací roztok (20x konc.)***: 1 ampule, 50 ml 20x koncentrovaného pufru (pH 7,2 ± 0,2) určeného k promývání jamek mikrotitrační destičky, bílé krycí víčko.
- **Konjugát Anti-IgA****: 1 ampule, 20 ml, králičí anti-lidské IgA značené HRP, barva červená, připraveno k okamžitému použití, černé krycí víčko.
- **Substrát TMB**: 1 ampule, 15 ml 3,3',5,5'-tetra-methyl-benzidinu (TMB), připraveno k okamžitému použití, žluté krycí víčko.
- **Pozitivní kontrola Candida albicans IgA*****: 1 ampule, 2 ml pozitivního kontrolního séra, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, červené krycí víčko.
- **Cut-off kontrola *****: 1 lahvička o objemu 3 ml, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, zelený uzávěr

- **Negativní kontrola Candida albicans IgA***:** 1 ampule, 2 ml negativního kontrolního séra, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, **modré** krycí víčko.

* obsahuje 0,01 % Thimerosalu – 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, vybavený pro měření absorbance při 450 nm nebo 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 a špičky
- Stopky

5. STABILITA A SKLADOVÁNÍ

Reagenty 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 Candida albicans. Jsou připraveny k okamžitému použití. Skladujte při teplotě 2 °C – 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-IgA Candida albicans

Ampule obsahuje 20 ml králičí protilátky proti lidskému IgA 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

Ampule označené jako Pozitivní kontrola, Cut-off kontrola a Negativní kontrola obsahují kontrolní séra 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. Ředící roztok vzorků

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

6.5. Promývací roztok (20x koncentrací)

Lahvička obsahuje 50 ml koncentrovaného roztoku pufru, detergentů a konzervantů. Rozřeďte v poměru 1:20; např. 10 ml promývacího roztoku + 190 ml deionizované vody. Naředěný roztok je stabilní minimálně 4 týdny při teplotě 2 – 8 °C a maximálně 5 dní při laboratorní teplotě. *Krystaly v roztoku zmizí po zahřátí na teplotu 37°C ve vodní lázni.*

6.6. TMB Substrát

Ampule 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 je modrý, došlo k jeho kontaminaci a měl by být zlikvidován. Po prvním otevření je obsah stabilní až do expirace pokud je uložen při teplotě 2 – 8 °C.*

6.7. Stop roztok

Ampule 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 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

Pro provedení testu musí být všechny vzorky předředěny v poměru 1:101 ředícím roztokem vzorků. Pipetujte 10 µl vzorku a 1 ml ředícího roztoku a zkumavky pečlivě protřepejte na Vortexu. *Pozitivní a negativní kontrolní vzorky dodávané v soupravě jsou připraveny k okamžitému použití a nesmí se dále ředit.*

8. POSTUP PROVEDENÍ TESTU

8.1. Příprava testu

Dříve než začnete rozbor provádět, přečtěte si pečlivě pracovní protokol. Spolehlivost výsledků závisí na přesném dodržení popsaného postupu testu. 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. Stanovte si plán rozložení a identifikace všech vzorků a kontrol na mikrotitrační destičce na příslušném formuláři dodávaném v soupravě. Vyberte požadovaný počet jamek a vložte je do rámečku.

Je velmi důležité, aby před začátkem testu byly všechny reagenty i vzorky vytemperovány na pokojovou teplotou!

Dodržte následující minimální počet jamek:

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

Doporučujeme v případě potřeby 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.

- Pipetujte 100 µl negativního kontrolního vzorku, pozitivního kontrolního vzorku a předředěných vzorků do jamek, které jste vybrali. Jamku A1 ponechtejte pro *BLANK*.
- Jamky přikryjte fólií dodávanou jako součást soupravy
- Inkubujte 1 hodinu ± 5 minut při teplotě 37 ± 1°C.**
- Po skončení inkubace odstraňte krycí fólii, odsajte obsah jamek a promyjte je 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 opět odstraňte zbývající kapalinu v jamkách oklepnutím mikrotitrační destičky na savý papír!
Poznámka: Promývání je velmi důležité! Nedostatečné promytí může vést k nepřesnostem testu nebo k falešným hodnotám.
- Pipetujte 100 µl konjugátu *Candida albicans anti-IgA* do všech jamek s výjimkou A1 určené pro *BLANK*. Přikryjte krycí fólií.
- Inkubujte 30 minut při pokojové teplotě. Chraňte před přímým slunečním světlem.**
- Opakujte krok 4.
- Pipetujte 100 µl substrátu TMB do všech jamek.
- Inkubujte 15 minut přesně při pokojové teplotě, v temnu.**
- Pipetujte 100 µl Stop roztoku do všech jamek ve stejném pořadí a stejnou rychlostí, jakou jste aplikovali substrát. Modré zbarvení, které se objevilo během inkubace, se změní na žluté. Barva je stabilní po 30 minut
Poznámka: Vzorky od velmi pozitivních pacientů mohou vytvořit tmavé sraženiny chromogenu! Tyto sraženiny mají vliv na snížení optické hustoty. U těchto vzorků doporučujeme provést prvotní ředění fyziologickým roztokem chloridu sodného, např. 1:1. Dále postupujte stejně jako u ostatních vzorků předředěním 1: 101 ředícím roztokem vzorků ze soupravy. Dosažené hodnoty vyjádřené v jednotkách NTU v tomto případě musíte násobit 2x.
- Změřte absorbanzi vzorků při 450/620 nm.

8.2. Měření

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

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

Doporučujeme provést duální měření při hustotě 620 nm.

Tam, kde je to nutné, vypočítejte **průměrné hodnoty absorpance**.

9. VÝSLEDKY

9.1. Kritéria platnosti testu

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

- **Slepý test substrátu BLANK** A1: Hodnota absorpance **nižší než 0,100.**
- **Negativní kontrola** B1: Hodnota absorpance **nižší než 0,300.**
- **Cut-off kontrola** C1+D1: Hodnota absorpance **v rozmezí 0,200 - 0,900**
- **Pozitivní kontrola** E1: Hodnota absorpance rovna nebo vyšší než *Cut-off* koeficient.

9.2. Výpočet výsledků

Cut-off koeficient se vypočítá jako průměr hodnot absorpance naměřených u obou *cut-off* kontrol.

Příklad: Naměřená hodnota absorpance 1. cut-off kontroly 0,44 + naměřená hodnota absorpance 2. cut-off kontroly 0,42 = 0,86/2 = 0,43 = Cut-off koeficient

9.3. Interpretace výsledků

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

Vzorky jejichž hodnota absorpance 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 absorpance o 10% nižší než hodnota *cut-off*.

9.3.1. Výsledky v jednotkách firmy NovaTec (NTU)

hodnota (průměrné) absorpance vzorku pacienta x 10 = [NovaTec-Units = NTU]
Cut-off koeficient

Příklad: $\frac{1,786 \times 10}{0,43} = 41$ 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	33	17,8	9,0

<u>Intraassay</u>	<u>počet</u>	<u>průměr</u>	<u>CV (%)</u>
Poz. sérum	10	1,00	6,6

10.2. Diagnostická přesnost

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

10.3. Diagnostická citlivost

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

10.4. Interference

Nebyly pozorovány žádné interference hemolytickým, lipemickým nebo ikterickým sérem až do následujících koncentrací: hemoglobin 10 mg/ml, triglyceridy 5 mg/ml a bilirubin 0,2 mg/ml.

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

- 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 expirace uvedené na štítku.
- Používejte pouze čisté špičky, vícekanálové pipety a laboratorní zařízení.
- Nezaměňujte šroubovací víčka z lahviček mezi sebou, zabráníte tím křížové kontaminaci.
- Ampule 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 ampule s kontrolními vzorky, zda u nich nedošlo k mikrobiální kontaminaci.
- Abyste zabránili křížové kontaminaci a falešně zvýšeným hodnotám výsledků, pipetujte reagentie 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 firmami zabývajícími se likvidací nebezpečného a toxického odpadu, které vám poradí jak máte s tímto nebezpečným odpadem naložit.

13. LITERATURA

- Clyde WA Jr: Clinical overview of typical M. pneumoniae infections. Clin.Infect.Dis 1993 Aug;17 Suppl 1:S32-6 Medline
- E.Jacobs.1993.Serologicals Diagnosis of M. pneumoniae Infections: Current Procedures. Clinical Infectious Diseases. 17(supply 1) 79-82
- Foy,H.M.1993. Infections caused by M. pneumoniae and possible populations of patients. Clinical Infectious Diseases. 17 (suppl 1) 37-46
- Handley J.G.,andL.D.Gray.1997. The incidence of M. pneumoniae Board Family Practice 11(6):425-429
- Vikerfors,T.,Brodin,G.,Grandien,M.,Hirshberg,L.,Krook,A.,andC.A.Petterssonspecific IgM antibodies for the diagnosis of M. pneumoniae infections Scand.J.Infect.Dis.20(6):601-610

14. INFORMACE PRO OBJEDNÁVKU

Katalogové číslo výrobku: CANA0060 Candida albicans IgA-ELISA (96 testů)

Objednací adresa:

LABOSERV, s.r.o., Hudcova 78b, 612 00 Brno
telefon: 541 243 113, fax: 541 243 114, email: laboserv@laboserv.cz
<http://www.laboserv.cz>

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

Candida albicans IgA-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

	Blank 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)					