

Candida albicans

IgM – ELISA

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

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.



Katalogové číslo výrobku: CANM0060 (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-IGM CANDIDA ALBICANS	4
6.3. KONTROLNÍ VZORKY.....	4
6.4. ŘEDÍCÍ ROZTOK VZORKŮ	4
6.5. PROMÝVACÍ ROZTOK.....	4
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.....	6
9.3. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	6
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
10.4. INTERFERENCE.....	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 endokardia nebo zánět mozkových blan. U pacientů s oslabeným imunitním systémem s celulární imunodeficiencí (např. AIDS), může *Candida albicans* způsobovat vážné nekrózy infikovaných tkání. Rychlá metoda identifikace tohoto organismu je důležitá hlavně z důvodu jeho patogenity

Druh	Onemocnění	Symptomy	Mechanismus infekce
<i>Candida albicans</i>	Kandidóza	Léze se liší v závislosti na infikovaném místě. Například orální infekce vykazuje 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 <i>Candidou albicans</i> 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* IgM-ELISA je určena pro kvalitativní stanovení IgM protilátek proti bakterii *Candida albicans* v lidském krevním séru nebo plasmě (citrát).

3. PRINCIP TESTU

Stanovení IgM 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 IgM značený křenuovou 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 IgM 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.
- **IgM ředící roztok vzorků** ***: 1 lahvička, 100 ml pufru na ředění vzorků, připraveno k okamžitému použití, pH 7,2 ± 0,2, barva zelená, bílý uzávěr.
- **Stop roztok**: 1 lahvička, 15 ml kyseliny sírové, připraveno k okamžitému použití, 0,2 mol/l, 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-IgM** **: 1 lahvička, 20 ml, králíčí anti-lidské IgM značené HRP, 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 *Candida albicans* IgM** ***: 1 lahvička, 2 ml pozitivního kontrolního séra, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, červený uzávěr.
- **Cut-off kontrola *Candida albicans* IgM** ***: 1 lahvička, 3 ml cut-off, barva žlutá, připraveno k přímému použití; zelený uzávěr.

- **Negativní kontrola Candida albicans IgM***:** 1 lahvička, 2 ml negativního kontrolního séra, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, **modrý** uzávěr.

* obsahuje 0,01 % Kathonu – 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 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 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-IgM Candida albicans

Lahvička obsahuje 20 ml králičí protilátky proti lidskému IgM 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 kontrolní vzorek a Negativní kontrolní vzorek 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

Lahvička obsahuje 100 ml roztoku fosfátového pufru, stabilizátorů, konzervantů, inertního zeleného barviva a protilátky proti lidskému IgG pro vyloučení inhibice způsobené specifickými protilátkami IgG a odstranění interferencí RF. 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

Lahvička obsahuje 50 ml 20x koncentrovaného roztoku pufru, detergentů a konzervantů. Rozřed'te v poměru 1:20; např. 10 ml koncentrátu 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. 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 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

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 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 BLANK
1 jamka (např. B1)	pro negativní kontrolní vzorek
2 jamky (např. C1+D1)	pro cut-off kontrolu
1 jamka (např. E1)	pro pozitivní kontrolní vzorek

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.

1. Pipetujte 100 µl negativního kontrolního vzorku, pozitivního kontrolního vzorku a předředěných vzorků do jamek, které jste vybrali. Jamku A1 ponechejte pro BLANK.
2. Jamky přikryjte fólií dodávanou jako součást soupravy
3. **Inkubujte 1 hodinu ± 5 minut při teplotě 37 ± 1°C.**
4. 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 opatrně 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.
5. Pipetujte 100 µl konjugátu Candida albicans anti-IgM do všech jamek s výjimkou A1 určené pro BLANK. Přikryjte krycí fólií.
6. **Inkubujte 30 minut při pokojové teplotě. Chraňte před přímým slunečním světlem.**
7. Opakujte krok 4.
8. Pipetujte 100 µl substrátu TMB do všech jamek.
9. **Inkubujte 15 minut přesně při pokojové teplotě, v temnu.**
10. 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 snímání 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.
11. Změřte absorbanci vzorků při 450/620 nm do 30ti minut po přidání stop činidla.

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 absorbanci 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 kontrolní vzorek** B1: Hodnota absorpance **nižší než 0,200.**
- **Cut-off kontrola** C1+D1: Hodnota absorpance **mezi 0,250 a 0,900.**
- **Pozitivní kontrolní vzorek** E1: Hodnota absorpance rovna nebo vyšší než koeficient.

9.2. Výpočet výsledků

Cut-off je průměrem naměřených hodnot absorpací Cut-off kontrol.

Příklad: Hodnota absorpance Cut-off kontroly 0,49 + hodnota absorpance Cut-off kontroly 0,47 = 0,96/2 = 0,48
Cut-off = 0,48

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 tzv. **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)

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

Příklad: $\frac{1,786 \times 10}{0,38} = 47 \text{ NTU (NovaTec Units)}$

Cut-off:	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	38	20,8	5,1

<u>Intraassay</u>	<u>počet</u>	<u>průměr</u>	<u>CV (%)</u>
Poz. sérum	6	1,2	4,5

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

- 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 takovou změnu. 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 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, vícekanalové pipety a laboratorní zařízení.
- Nezaměňujte sroubovací 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, pipetujte reagenty 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. Přechnovávejte 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.Peterssonspecific IgM antibodies for the diagnosis of M. pneumoniae infections Scand.J.Infect.Dis.20(6):601-610

14. INFORMACE PRO OBJEDNÁVKU

Katalogové číslo výrobku: CANM0060 Candida albicans IgM-ELISA (96 testů)

15. KONTAKTY

Výrobce: NovaTec Immundiagnostica GmbH
Technologie & Waldpark
Waldstr. 23 A6D-63128 Dietzenbach, Germany

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 IgM-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)					