

# **Chikungunya Virus**

## **IgG capture ELISA**

CE

---

Katalogové číslo: CHIG0590 (96 stanovení)

---

## **OBSAH**

<b>1. ÚVOD</b>	<b>3</b>
<b>2. POUŽITÍ</b>	<b>3</b>
<b>3. PRINCIP TESTU</b>	<b>3</b>
<b>4. MATERIÁLY</b>	<b>3</b>
4.1 REAGENTY DODÁVANÉ V SOUPRAVĚ	3
4.2 DALŠÍ MATERIÁL DODÁVANÝ V SOUPRAVĚ	4
4.3 DALŠÍ POTŘEBNÉ MATERIÁLY A ZAŘÍZENÍ	4
<b>5. STABILITA A SKLADOVÁNÍ</b>	<b>4</b>
<b>6. PŘÍPRAVA REAGENTŮ</b>	<b>4</b>
6.1 STRIPY MIKROTIČKAČNÍ DESTIČKY	4
6.2 CHIKUNGUNYA ROZTOK 1	4
6.3 CHIKUNGUNYA ROZTOK 2	4
6.5 PROMÝVACÍ ROZTOK (20X KONCENTR.)	4
6.6 ŘEDÍCÍ ROZTOK VZORKŮ	4
6.9 STOP ROZTOK	4
<b>7. ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ</b>	<b>4</b>
7.1 ŘEDĚNÍ VZORKŮ	4
<b>8. POSTUP PROVEDENÍ TESTU</b>	<b>5</b>
8.1 PŘÍPRAVA TESTU	5
8.2 MĚŘENÍ	5
<b>9. VÝSLEDKY</b>	<b>5</b>
9.1 KRITÉRIA PLATNOSTI TESTU	5
9.2 VÝPOČET VÝSLEDKŮ	6
9.3 INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	6
9.3.1 VÝSLEDKY V JEDNOTKÁCH FIRMY NOVATEC (NTU)	6
<b>10. SPECIFICKÉ CHARAKTERISTIKY TESTU</b>	<b>6</b>
10.1 PŘESNOST	6
10.2 DIAGNOSTICKÁ PŘESNOST	6
10.3 DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST	6
<b>11. LIMITY TESTU</b>	<b>6</b>
<b>12. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A UPOZORNĚNÍ</b>	<b>6</b>
12.1. LIKVIDACE ODPADU	7
<b>13. DŮLEŽITÉ INFORMACE</b>	<b>7</b>
<b>14. SCHÉMA TESTU</b>	<b>8</b>
<b>15. KONTAKTY</b>	<b>8</b>

## 1. ÚVOD

Chikungunya virus je virus pocházející od členovců rodu Alphavirus (třída Togaviridae). Rod Alphavirus obsahuje nejméně 24 odlišných druhů. Jedná se viriony s lipidovým obalem o průměru 50 - 60 nm. Alphavirové infekce jsou iniciovány kousnutím infikovaným komárem, což vede k množení viru v podkožní a kožní tkáni. Po uplynutí 1 až 12 denní inkubační doby se projeví horečka Chikungunya.

Horečka Chikungunya (Chikungunya znamená "ten, který ohýbá nahoru", v souvislosti s ochromujícími projevy onemocnění) je akutní virová infekce charakteristická rychlým nástupem nemoci, která zahrnuje velké bolesti kloubů a horečku. Teplota prudce stoupá k 40 ° C a je často doprovázena třesavkou. Po několika dnech může horečka klesnout a opět propuknout, což vede k "sedlovému" tvaru křivky horečky. Artralgie je polyartikulární, postihuje hlavně malé klouby a místa postižená dřívějším zraněním. Pacienti jsou často omezeni v pohybu. Klouby se mohou zvětšit bez výrazného hromadění tekutin. Tyto příznaky mohou trvat od 1 týdne do několika měsíců a jsou doprovázeny svalovými bolestmi. Charakteristická vyrážka se objevuje první dny onemocnění, ale její nástup může být i opožděn. Obvykle se projevuje zčervenání obličeje a krku, které se rozvine v makulopapulární nebo makulární formu, které může být svědivá. Dále se léze objevují na trupu, končetinách, obličeji, a dlaních a chodidlech. Dále byly zaznamenány petechiální kožní léze, bolest hlavy, světlolachost, retro-orbitální bolest, bolest v krku, se stejnými příznaky jako zánět hltanu, nevolnost a zvracení. Při přetrvávající bolesti kloubů a polyartritidě (trvající měsíce či dokonce roky) může dojít k destrukci kloubů. Mezi vzácnější projevy patří encefalitida a klíšťové meningoencefalitidy s vysokým procentem úmrtnosti. Virus je častý v Africe a Asii. Více než 90% populace tropických a subtropických oblastí vykazuje sérologické známky infekce. Aedes komáři jsou stále více rozšířeni v severní Africe a Jižní Americe, kde je populace náchylná k infekci, možnost epidemie je evidentní. Virové infekce Chikungunya jsou dováženy do střední Evropy hlavně cestovateli z tropických a subtropických zemí.

Druh	Onemocnění	Symptomy	Mechanismus infekce
Chikungunya virus (Alphavirus)	Horečka Chikungunya	Horečka Vyrážka Bolesti kloubů Perzistentní artralgie a polyartritida, někdy vyúsťující v destrukci kloubů Vzácněji encefalitida nebo meningoencefalitida	Přenos krev sající komáři Aedes albopictus (Afrika) Aedes aegypti (Afrika, Asie)

Přítomnost viru resp infekce lze zjistit následujícími metodami:

- Sérologicky: Detekcí tvorby protilátek metodou IF, ELISA

## 2. POUŽITÍ

Souprava Chikungunya IgG ELISA je navržena pro kvalitativní stanovení IgG protilátek proti Chikungunya přítomnému v lidském krevním séru nebo plasmě (citrát).

## 3. PRINCIP TESTU

Kvalitativní imunoenzymatické stanovení protilátek třídy IgG Chikungunya je možné technikou ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay). Mikrotitrační destičky jsou potaženy proti lidskému IgG pro navázání odpovídající protilátky ze vzorku pacienta. Po promytí jamek dojde k odstranění všech nenavázaných vzorků a je přidán kontrolní roztok Chikungunya antigen. Po dalším promytí je přidána směs biotinylovaných Chikungunya protilátek a konjugátu Streptavidin. Po promytí je zachycený chikungunya-specifický imunokomplexu zviditelněn přidáním Tetramethylbenzidin (TMB) za vzniku modrého zabarvení. Intenzita je přímo úměrná počtu chikungunya-specifických IgG protilátek ve vzorku pacienta. Pro zastavení reakce se přidává kyselina sírová. Což způsobí žluté zabarvení. ELISA reader měří při absorbance 450 nm.

## 4. MATERIÁLY

### 4.1 Reagenty dodávané v soupravě

- **Chikungunya mikrotitrační destička IgG:** 12 lomitelných stripů po 8 jamkách, potažených antigeny IgG ; vakuově zabaleno v uzavírací aluminiové fólii.
- **Ředící roztok \*\*\*:** 1 lahvička obsahuje 100 ml pufru připraveného k okamžitému použití, pH 7,2 ± 0,2, barva **žlutá**, bílý uzávěr.
- **Stop roztok:** 1 lahvička obsahuje 15 ml kyseliny sírové, připraveno k okamžitému použití, 0,2 mol/l, červený uzávěr.
- **Promývací roztok (20x konc.)\*:** 1 lahvička obsahující 50 ml 20x koncentrovaného pufru (pH 7,2 ± 0,2) určeného k promývání jamek mikrotitrační destičky, bílý uzávěr.
- **Roztok Chikungunya 1, lyofilizovaný\*\*\*\*:** 6 lahví obsahuje roztok lyofilizovaných Chikungunya antigenů; červený uzávěr.
- **Roztok Chikungunya 2 \*\*\*\*\*:** 1 lahvička obsahuje 6 ml biotinylovaných protilátek Chikungunya, připraveno k okamžitému použití; modré barvy; bílý uzávěr
- **Streptavidin konjugát \*\*:** 1 lahvička obsahuje 6 ml Streptavidin konjugátu s peroxidázou, připraveno k okamžitému použití, červené barvy, černý uzávěr.
- **Roztok TMB:** 1 lahvička, 15 ml 3,3',5,5'-tetra-methyl-benzidinu (TMB), připraveno k okamžitému použití, žlutý uzávěr.
- **Chikungunya IgG pozitivní kontrola \*\*\*:** 1 lahvička o objemu 1,5 ml, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, **červený uzávěr**.
- **Chikungunya IgG cut-off kontrola\*\*\*:** 1 lahvička o objemu 2 ml, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, **zelený uzávěr**.
- **Chikungunya IgG negativní kontrola \*\*\*:** 1 lahvička o objemu 1,5 ml, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, **modrý uzávěr**.

\* obsahuje 0,01 % Bronidox L – po zředění

\*\* obsahuje 0,2 % Bronidoxu L

\*\*\* obsahuje 0,1 % Kathonu

\*\*\*\* obsahuje 0,02% Kathonu a 0,02% Bronidox L – po zředění

## 4.2 Další materiál dodávaný v soupravě

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

## 4.3 Další potřebné materiály a zařízení

- ELISA reader mikrodestiček, příslušenství pro měření absorbance 450/620 nm
- Inkubátor pro 37° C
- Ruční nebo automatická promývačka mikrotitračních destiček
- Pipety pro dávkování objemů od 10 do 1000  $\mu$ l
- Vortex
- Deionizovaná voda nebo (čerstvě) destilovaná voda
- Jednorázové zkumavky
- Stopky

## 5. STABILITA A SKLADOVÁNÍ

---

Reagenty 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 reagentie, vzorky a kontrolní vzorky dosáhnout pokojové teploty (20-25 °C)!*

### 6.1 Stripy mikrotitrační destičky

Stěny jamek stripů jsou potaženy proti lidským IgG. Skladujte při teplotě 2 – 8 °C. *Immediately 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 Chikungunya roztok 1

Lahvička obsahuje lyofilizovaný roztok Chikungunya protilátek. Obsah vialek musí být rozpuštěn v 1 ml rozpouštěcího roztoku pomalým promícháním (neřepat) a 15 min inkubací při pokojové teplotě. Rozpuštěný roztok je stabilní po dobu 1 týdne při teplotě 2 – 8 °C.

### 6.3 Chikungunya roztok 2

Lahvičky obsahují 6 ml biotinylovaných Chikungunya protilátek, stabilizátory, konzervanty a interní ho modrého barviva. Tento roztok připravený k okamžitému použití musí být skladován při teplotě 2 - 8 °C. *Po prvním otevření je obsah stabilní do expirace, pokud je uložen při teplotě 2 – 8 °C.*

### 6.4 Kontroly

Lahvičky označené jako Pozitivní, Cut-off a Negativní kontrola obsahují kontrolní roztoky připravené k okamžitému použití. Roztoky musí být skladovány 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 konc.)

Lahvička obsahuje 50 ml koncentrovaného pufru, stabilizátorů, konzervantů. Rozpuštěný promývací roztok 1+19; např: 10 ml promývacího pufru + 190 ml čerstvé a neionizované vody. Naředěný pufr je stabilní po dobu 5 dní při pokojové teplotě. *Po prvním otevření je obsah stabilní do expirace, pokud je uložen při teplotě 2 – 8 °C.*

### 6.6 Ředící roztok vzorků

Lahvička obsahuje 100 ml ředícího roztoku, stabilizátorů a konzervantů. Je připraven pro ředění vzorků pacientů. *Po prvním otevření je obsah stabilní do expirace, pokud je uložen při teplotě 2 – 8 °C.*

### 6.7 Streptavidin konjugát

Lahvička obsahuje 6 ml Streptavidin konjugátu s peroxidázou, stabilizátory a konzervanty, červené barvy. Připraveno k okamžitému použití. Skladujte při teplotě 2–8°C. Chraňte před světlem. *Po prvním otevření je obsah stabilní do expirace, pokud je uložen při teplotě 2– 8 °C.*

### 6.8 TMB substrátový roztok

Lahvička obsahuje 15 ml tetramethylbenzidine/hydrogen peroxide systém. Připraveno k okamžitému použití. Skladujte při teplotě 2–8°C, ve tmě. *Roztok by měl být bezbarvý nebo by mohl mít lehce namodralou barvu. Pokud tento substrát zmodrá, mohlo dojít ke kontaminaci a měl by být zlikvidována. Po prvním otevření je obsah stabilní do expirace, pokud je uložen při teplotě 2– 8 °C.*

### 6.9 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. Tepelně inaktivovat vzorky doporučováno není.*

### 7.1 Ředění vzorků

Pro použití v testu se musí všechny vzorky předem naředit v poměru 1+100 ředícím roztokem. Pro dosažení ředění 1+100 dávkuje 10 $\mu$ l vzorku a 1 ml ředícího roztoku do zkumavek a obsah pečlivě promíchejte na Vortexu.

## 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 pracovního postupu. V případě, že budete test připravovat pro automatický systém ELISA, doporučujeme zvýšit počet promývacích kroků ze tří na pět a objem promývacího roztoku ze 300 µl na 350 µl. Než začnete s prací, stanovte si plán rozložení a identifikace vzorků včetně kontrolních vzorků na mikrotitrační destičce, můžete využít formulář dodávaný v soupravě. Vyberte požadovaný počet stripů nebo jamek a vložte je do rámečku.

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 a
1 jamka (např. E1)	pro pozitivní kontrolu.

*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 a kontrol je nutno používat čisté jednorázové špičky.

Nastavte inkubátor na 37 °C.

1. Do jamek pipetujeme po 50µl z kontrol a naředěných vzorků. Jamku A1 ponechejte pro *BLANK*.
2. Jamky přikryjte krycí 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 50 µl Chikungunya roztoku 1 do všech jamek s výjimkou jamky A1 určené pro *BLANK*. Přikryjte krycí fólií.
6. **Inkubujte 30 minut při pokojové teplotě.**
7. Opakujte krok 4.
8. Pipetujte 50 µl Chikungunya roztoku 2 do všech jamek s výjimkou jamky A1 určené pro *BLANK*. Přikryjte krycí fólií.
9. **Inkubujte 30 minut při pokojové teplotě.**
10. Opakujte krok 4.
11. Pipetujte 50 µl konjugátu Streptavidin peroxidasy do všech jamek s výjimkou A1 určené pro *BLANK*. Přikryjte krycí fólií.
12. **Inkubujte 30 minut při pokojové teplotě. Chraňte před přímým slunečním světlem.**
13. Opakujte krok 4.
14. Pipetujte 100 µl TMB roztoku do všech jamek.
15. **Inkubujte přesně 15 minut ve tmě.**
16. Pipetujte 100 µl Stop roztoku do všech jamek ve stejném pořadí a stejnou rychlostí, jakou jste aplikovali TMB 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 prvotní ředění negativní matrix, např. 1+1. Dále předem ředte vzorky ředícím puřrem v poměru 1 + 100 ředícím roztokem vzorků ze soupravy. Dosažené hodnoty vyjádřené v jednotkách NTU a vynásobte výsledek v NTU 2x.*
17. Změřte absorbanci vzorků při 450/620 nm do 30 minut po přidání Stop činidla.

### 8.2 Měření

Vynulujte ELISA reader pomocí *BLANKu* (jamka A1).

*Pokud – z technických důvodů – ELISA reader nelze vynulovat, pro získání přesných hodnot, odečtěte hodnotu BLANKu od všech hodnot naměřených na ostatních jamkách.*

**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.*

Pokud je to nutné, vypočítejte **průměrné hodnoty absorbance** všech duplikátů.

## 9. VÝSLEDKY

### 9.1 Kritéria platnosti testu

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

- |                                     |          |   |
|-------------------------------------|----------|---|
| ▪ <b>Slepý test substrátu</b>       | A1:      | Hodnota absorbance < <b>0,100</b> .       |
| ▪ <b>Negativní kontrolní vzorek</b> | B1:      | Hodnota absorbance < <b>cut-off</b> .     |
| ▪ <b>Cut-off kontrola</b>           | C1 a D1: | Hodnota absorbance <b>0,150 – 1,300</b> . |
| ▪ <b>Pozitivní kontrolní vzorek</b> | E1:      | Hodnota absorbance > cut-off              |

Pokud nejsou stanovaná kritéria splněna, test není validní a je třeba jej zopakovat.

## 9.2 Výpočet výsledků

Cut-off koeficient je průměr hodnot absorbancí Cut-off kontroly.

Př. Absorpční hodnota cut-off kontroly 0,39 + absorpční hodnota 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)

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

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

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

## 10. SPECIFICKÉ CHARAKTERISTIKY TESTU

### 10.1 Přesnost

<u>Intraassay</u>	<u>počet</u>	<u>Střední hodnota (OD)</u>	<u>CV (%)</u>
Slabě pozitivní sérum	23	0,39	9,4
Silně pozitivní sérum	24	1,44	2,7

<u>Interassay</u>	<u>počet</u>	<u>Střední hodnota (OD)</u>	<u>CV (%)</u>
Slabě pozitivní sérum	3(69)	0,39	10,9
Silně pozitivní sérum	3 (72)	1,41	3,7

### 10.2 Diagnostická přesnost

Diagnostická přesnost je definována jako pravděpodobnost, že test vykáže negativní výsledky při absenci specifického analytu. Negativní vzorky musí být testovány. Diagnostická přesnost je > 90 %.

### 10.3 Diagnostická citlivost

Diagnostická citlivost je definována jako pravděpodobnost, že test vykáže pozitivní výsledky za přítomnosti specifického analytu. Musí být testován pozitivní vzorek. Citlivost tohoto testu je > 90 %.

### 10.4 Interference

Interference byly pozorovány po přidání triglyceridů, bilirubinu a hemoglobinu v nadbytku ke vzorku.

### 10.5 Zkřížené reakce

Žádné zkřížené reakce nebyly prokázány u vzorků s IgG protilátkami proti viru Dengue, klíšťové encefalitidy, CMV, EBV a Helicobacter pylori. Zkřížená reaktivita proti jiným alfa-virům vyloučená není.

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

## 11. LIMITY TESTU

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 musí být s produkty pro *in vitro* diagnostiku zacházeno podle doporučení výrobce, aby byla zajištěna vhodnost, funkční charakteristika a bezpečnost produktu. Proto musí být přesně dodržován pracovní postup, informace, upozornění a varování v instrukcích pro použití. Použití souprav v analyzátorech a podobných zařízeních musí být validováno. Jakékoliv změny ve vzhledu, složení a pracovním postupu, stejně jako použití v kombinaci s jinými produkty neschválené výrobcem, nejsou oprávněné; uživatel je sám zodpovědný za takovéto změny. Výrobce není zodpovědný za nesprávné výsledky a incidenty z těchto důvodů. Výrobce není zodpovědný za žádné výsledky vizuální analýzy pro diagnostiku 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. Používejte ochranné rukavice.

- **Chikungunya antigeny (Roztok 1) jsou inaktivovány. Veškerý materiál přesto uchovávejte a zacházejte s ním jako s potenciálně infekčním. Při přípravě testu noste rukavice. Doporučujeme přípravu roztoku 1 v prostoru BSL2 (čistý prostor).**
- 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 kvalitní 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, pipetujte vzorky a reagentie vždy na dno jamek bez pokapání okolí.
- NovaLisa® ELISA je navržen pro kvalifikovaný personál dodržující pravidla správné laboratorní praxe.

**POZOR** Bronidox L v použité koncentraci nepředstavuje při kontaktu s pokožkou a sliznicí téměř žádné toxikologické riziko!

**POZOR:** Kyselina sírová dráždí oči a pokožku. Přechnovávají z dosahu dětí. Při vniknutí do očí, důkladně promyjte vodou a vyhledejte lékaře.

### 12.1. Likvidace odpadu

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













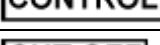




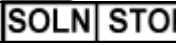


## 13. DŮLEŽITÉ INFORMACE

Výrobní číslo: CHIG0590

Chikungunya Virus IgG capture ELISA (96 testů)

### LITERATURA

Gerald L. Mandell, John E. Bennett, Raphael Dolin, Principles and practice of Infectious diseases, 2005, Chapter 147, 1913–1919  
 Patrick Hochedez, Staphane Jaureguiberry, Monique Debruyne, Philippe Bossi, Pierre Hausfater, Gilles Brucker, Francois Bricaire, Eric Caumes, Chikungunya infection in travellers, Emerging Infectious Diseases Vol. 12, No. 10, October 2006, 1565-1566  
 F.H. Kayser, K.A. Bienz, J. Eckert, R.M. Zinkernagel, Medical Microbiology, Stuttgart 2005, 440-441

Legenda	
	Vyrobené
	In vitro diagnostický medicínský materiál
	Číslo šarže
	Datum expirace
	Teplota pro uchovávání
	CE značka
	Katalogové číslo
	Návod k použití
	Mikrodestička
	Konjugát
	Kontrolní sérum, negativní
	Kontrolní sérum, pozitivní
	Cut-off kontrolní sérum
	Lyofilizovaný roztok 1
	Roztok 2
	Rozpouštěcí pufr vzorku
	Stop pufr
	TMB substrátový roztok
	Promývací roztok 10x koncentrovaný
	Dostatečný obsah pro „n“ testů

**14. SCHÉMA TESTU****SCHÉMA TESTU**

Chikungunya Virus IgG capture -ELISA

**Příprava testu**

Připravte reagenty a vzorky tak, jak je popsáno.  
Stanovte plán rozdělení a identifikace všech vzorků a kontrol dle formuláře dodávaného v soupravě.  
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	-	50 µl	-	-	-
Pozitivní kontrolní vzorek	-	-	50 µl	-	-
Cut-off kontrola	-	-	-	50 µl	-
Vzorek (ředěný 1+100)	-	-	-	-	50 µl
Přikrytí krycí folií dodávanou v soupravě <b>Inkubace 1 hodinu při teplotě 37°C</b> Promytí každé jamky 3 x 300 µl promývacího roztoku					
Roztok 1	-	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Přikrytí krycí folií dodávanou v soupravě <b>Inkubace 30 min při pokojové teplotě</b> Promytí každé jamky 3 x 300 µl promývacího roztoku					
Roztok 2	-	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Přikrytí krycí folií dodávanou v soupravě <b>Inkubace 30 min při pokojové teplotě</b> Promytí každé jamky 3 x 300 µl promývacího roztoku					
Konjugát streptavidinu	-	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Přikrytí krycí folií dodávanou v soupravě <b>Inkubace 30 min při pokojové teplotě</b> Promytí každé jamky 3 x 300 µl promývacího roztoku					
TMB	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Přikrytí krycí folií dodávanou v soupravě <b>Inkubace přesně 15 min při pokojové teplotě ve tmě</b>					
Stop roztok	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Fotometrické měření při 450 nm (referenční vlnová délka: 620 nm)					

**15. KONTAKTY**

**Výrobce:** NovaTec Immundiagnostica GmbH  
 Technologie & Waldpark  
 Waldstr. 23 A6  
 D-63128 Dietzenbach, Germany  
 Tel: +49 6074-48760, Fax: +49 6074-487629  
 E: info@NovaTec-ID.com  
 http: www.NovaTec-ID.com

**Distributor:** LABOSERV s.r.o.  
 Hudcova 532/78b  
 612 00 Brno, Česká republika  
 T: 541 243 113, F: 541 243 114, E: laboserv@laboserv.cz, http://www.laboserv.cz