

Parvovirus B19

IgM – ELISA (rekombinantní)

ELISA test pro kvalitativní průkaz IgM – třídy protilátek proti Parvoviru B19 v lidském séru nebo plazmě

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*



Katalogové číslo výrobku: PARM0370 (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	3
4.3. DALŠÍ POTŘEBNÉ MATERIÁLY A ZAŘÍZENÍ	4
5. STABILITA A SKLADOVÁNÍ	4
6. PŘÍPRAVA REAGENTŮ	4
6.1. STRIPY MIKROTIČNÍ DESTIČKY	4
6.2. KONJUGÁT ANTI-IGM	4
6.3. KONTROLNÍ VZORKY	4
6.4. IGM ŘEDÍCÍ ROZTOK VZORKŮ	4
6.5. PROMÝVACÍ ROZTOK (20X KONCENTR.)	4
6.6. ROZTOK TMB SUBSTRÁTU	4
6.7. STOP ROZTOK	4
7. ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ	4
7.1. ŘEDĚNÍ VZORKŮ	4
8. POSTUP PROVEDENÍ TESTU	4
8.1. PŘÍPRAVA TESTU	4
8.2. MĚŘENÍ	5
9. VÝSLEDKY	5
9.1. VALIDITA TESTU	5
9.2. VÝPOČET VÝSLEDKŮ	5
9.3. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	5
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	6
12. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A UPOZORNĚNÍ	6
12.1. LIKVIDACE ODPADU	6
13. LITERATURA	7
14. INFORMACE PRO OBJEDNÁVKU	7
15. KONTAKTY	7
16. SCHÉMA TESTU	8

1. ÚVOD

Parvoviry jsou neobalené DNA viry s kapsidou kubické symetrie o velikosti 18 – 32 nm. Parvovirus B19 je pouze lidským patogenem, a protože mezi B19 a zvířecími parvoviry neexistuje zkřížená reaktivita, přenos mezi člověkem a zvířaty není možný. Parvovirus B19 je původcem erythema infectiosum, tzv. „páté nemoci“, mírného onemocnění charakterizovaného především kožní vyrážkou, které se nejčastěji vyskytuje u dětí. Nakažení pacienti přenášejí infekci během časné fáze nemoci, než se objeví vyrážka, takže v době epidemii je zasaženo až 60 % dospělé populace. U zhruba 20 % infikovaných dětí i dospělých se neprojeví vůbec žádné symptomy choroby. U všech nakažených se však vyvíjí dlouhodobá imunita, která je v budoucnu chrání proti další infekci.

Parvovirus může ale také způsobovat závažné stavy, a to u osob se srpkovitou anémií a jinými podobnými typy chronické anemie a stejně tak u pacientů s problematickou imunitou (lidé s leukémií nebo rakovinou, vrozenou imunodeficiencí, pacienti po orgánové transplantaci nebo HIV-pozitivní). Někdy (u méně než 5 % infikovaných těhotných žen) se mohou objevit vážné komplikace během těhotenství (hrozí morbus haemolyticus fetalis, hydrups plodu).

Druh	Onemocnění	Symptomy	Způsob přenosu
Parvovirus B19	Erythema infectiosum acutum („pátá nemoc“) Komplikace: aplastická krize, m. haemolyticus fetalis	Tzv. „zpolíčkováná tvář“ – vyrážka na obličeji, dále na trupu a končetinách u dětí, u dospělých se může objevit bodavá bolest nebo otoky (ruce, zápěstí, kolena)	Virus se šíří přímým kontaktem s respiračními sekrety infikovaných osob (prostř. slin, sputa, nosního sekretu)

Přítomnost viru resp. infekce lze identifikovat pomocí metod:

- Serologicky: Detekce protilátek pomocí ELISA

2. POUŽITÍ

Souprava firmy NovaTec Parvovirus B19 IgM ELISA je určena ke kvalitativnímu průkazu IgM třídy protilátek proti parvovirus B19 v humánním séru nebo plazmě (citrát). Vysoká diagnostická přesnost a citlivost jsou zajištěny použitím vysoce purifikovaných rekombinantních antigenů.

3. PRINCIP TESTU

Důkaz IgM protilátek proti parvovirus B19 je založen na principu ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay). Stěny jamek stripů mikrotitrační destičky jsou potaženy antigeny parvovirus B19, 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 IgM s křenuvou peroxidázou (HRP), který se váže na zachycené specifické protilátky proti parvovirus B19. Takto vytvořený imunokomplex je zviditelněn přidáním substrátu tetramethylbenzidinu (TMB) za vzniku modrého zbarvení. Intenzita zbarvení je přímo úměrná množství IgM protilátek proti parvovirus B19 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 parvovirus B19; vakuově zabaleno v uzavírací aluminiové fólii.
- **IgM 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-IgM****: 1 lahvička, 20 ml králičí protilátky proti lidskému IgG značené křenuvou peroxidázou, barva červená, připraveno k okamžitému použití, černý uzávěr.
- **Substrát TMB**: 1 lahvička, 15 ml 3,3',5,5'-tetramethylbenzidinu (TMB), připraveno k okamžitému použití, žlutý uzávěr.
- **Pozitivní kontrola Parvovirus B19 IgM *****: 1 lahvička, 2 ml pozitivního séra, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, červený uzávěr.
- **Cut-off kontrola Parvovirus B19 IgM *****: 1 lahvička o objemu 3 ml, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, zelený uzávěr
- **Negativní kontrola Parvovirus B19 IgM *****: 1 lahvička, 2 ml negativního 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 pro měření absorbance při 450 nm s referenčním filtrem na 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 parvoviru B19. Připraveny k okamžitému použití. Skladujte při teplotě 2-8°C. Stripy jsou vakuově zabaleny. *Okamžitě 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

Lahvička obsahuje 20 ml protilátky proti lidskému IgM značené křenuvou 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. IgM 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 koncent.)

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'-tetramethylbenzidinu (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). Připraveno k okamžitému použití. Skladujte při teplotě 2-8°C. *Po prvním otevření je obsah stabilní do expirace.*

7. ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Souprava je určena pro vyšetření lidského krevního séra nebo plazmy (citrátované). Pokud test provedete do 5 dnů po odběru vzorků, mohou být vzorky skladovány při teplotě 2-8°C, jinak musejí být zamrazeny na -20 až -70°C. Pokud jsou vzorky skladovány v hluboce zamraženém 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. Napipetujte 10 µl vzorku a 1 ml IgM ředícího roztoku vzorků do zkumavek a obsah pečlivě promíchejte na vortexu. *Pozitivní 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. Nižší 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!

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

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 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

1. Napipetujte 100 μl negativní kontroly, pozitivní kontroly a předředených vzorků do jamek, které jste vybrali. Jamku A1 ponechejte pro *BLANK*.
2. Jamky přikryjte fólií dodávanou jako součást soupravy
3. **Inkubujte 1 hodinu \pm 5 minut při teplotě $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.**
4. 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.
5. Pipetujte 100 μl konjugátu anti-IgM do každé jamky s výjimkou jamky 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 roztoku substrátu TMB do všech jamek.
9. **Inkubujte 15 minut 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 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 IgM ředícím roztokem vzorků ze soupravy. V tomto případě musíte výsledky vyjádřené v jednotkách NTU násobit 2x.
11. Změřte absorbanci vzorků při 450 nm. Referenční vlnová délka je 620 nm do třiceti 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 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.

Tam, kde je to nutné, vypočítejte **průměrné hodnoty absorbance** u všech duplikátů.

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 **v rozmezí 0.250 – 0.900**
- **Pozitivní kontrola** E1: Hodnota absorbance rovna nebo vyšší než *Cut-off* koeficient.

9.2. Výpočet výsledků

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

Příklad: Naměřená hodnota absorbance 1. cut-off kontroly 0.39 + naměřená hodnota absorbance 2. cut-off kontroly 0.37 = 0.76/2 = 0.38 = Cut-off koeficient

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)

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

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

Interassay	počet	průměr	CV (%)
Poz. sérum	20	28.7	6.4

Intraassay	počet	průměr	CV (%)
Poz. sérum	8	1.70	6.9

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

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

13. LITERATURA

Andreas von Poblitzki, Anderas Gigler, Bernhard Lang, Hans Wolf and Susanne Modrow: Antibodies to Parvovirus B 19 NS-1 protein in infected individuals. *J. Gen. Virology* 1995, 76, 519-527
Maria Söderlund, Caroline S. Brown, Willy J. M. Spaan, Lea Hedman and Klaus Hedman, Epitope type-specific IgG response to capsid proteins VP1 and VP2 of human Parvovirus B19. *The Journal of infectious Diseases* 1995, 72, 1431-1436
Tino F. Schwarz and Gundula Jäger: A recombinant immunoblot and Elisa for detection of acute Parvovirus B 19 infection *Zbl. Bakt.* 1994, 280, 526-533
P. Cassinotti, Human Parvovirus B19 infections and their diagnosis *Alpe Adria Microbiology Journal* 1995, 4, 235-246
M. Schleuning, Parvovirus B19 Infektionen *Deutsches Ärzteblatt* 93, Heft 43, (Oktober 1996), B2182-B2185

14. INFORMACE PRO OBJEDNÁVKU

Katalogové číslo výrobku: PARM0370 Parvovirus B19 IgM-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**

Parvovirus B19 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

	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)					

PARG0370CZ082006-DH