

Varizella-Zoster Virus

IgG – ELISA

ELISA test pro kvalitativní stanovení obsahu IgG protilátek
proti viru Varizella-Zoster v lidském krevním séru nebo plasmě
Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.

CE

Katalogové číslo: VZVG0490 (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	3
5. STABILITA A SKLADOVÁNÍ	4
6. PŘÍPRAVA REAGENTŮ	4
6.1. MIKROTITRAČNÍ DESTIČKA	4
6.2. KONJUGÁT ANTI-IGG	4
6.3. KONTROLNÍ VZORKY	4
6.4. 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. KRITÉRIA PLATNOSTI TESTU	5
9.2. VÝPOČET VÝSLEDKŮ	5
9.3. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	5
9.3.1. VÝSLEDKY V JEDNOTKÁCH FIRMY NOVATEC (NTU)	5
10. SPECIFICKÉ CHARAKTERISTIKY TESTU	5
10.1. PŘESNOST	5
10.2. DIAGNOSTICKÁ PŘESNOST	6
10.3. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST	6
11. LIMITY TESTU	6
12. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A UPOZORNĚNÍ	6
12.1. LIKVIDACE ODPADU	6
13. LITERATURA	6
14. INFORMACE PRO OBJEDNÁVKU	6
15. KONTAKTY	6
16. SCHÉMA TESTU	8

1. ÚVOD

Varizella-Zoster Virus (HHV-3) patří do podčeledi Herpesviridae a měří v průměru asi 145 nm. Skládá se z dvouvláknové DNA, a je obklopen dvacetistěnnou proteinovou vnější skořápkou a obalem, který obsahuje jak hostitelské buňky, tak komponenty viru. Tento virus se obvykle přenáší respiračními sekrety. Způsobuje celosvětově rozšířená onemocnění známá jako plané neštovice a pásový opar. Plané neštovice jsou především dětské akutní onemocnění, které se objevuje po prvním kontaktu s tímto virem, zatímco pásový opar je odpovědí částečně imunního hostitele na reaktivaci viru varizella, přítomného v těle v latentní formě. Plané neštovice jsou endemické, většinou zasahují děti ve věku mezi 2 a 6 lety. Průběh nemoci je obvykle mírný a komplikace se vyskytují pouze u dětí s oslabenou imunitou. Vzácné smrtelné případy vykazují nekrotické léze na mozku, plicích (Varizella pneumonia), ledvinách (nefritida), slezině, kostní dřeni a příležitostně v trávicím traktu. Úmrtnost na plané neštovice je nižší než 0,1 %. Při vzácných případech infekce dospělých je průběh nemoci vážnější a lze očekávat komplikace asi v 5 % všech případů. Pásový opar se vykytuje zřídka, se zvyšujícím se věkem se objevuje častěji a průběh choroby je vážnější. Proces obvykle zůstává omezený na jedno místo, k většímu rozšíření dochází pouze při oslabené imunitě. Smrtelné případy jsou velmi vzácné a téměř vždy způsobené nějakou další doprovodnou chorobou.

Druh	Onemocnění	Symptomy	Mechanismus infekce
Varizella-Zoster Virus	Plané neštovice Pásový opar	Puchýřková vyrážka na kůži a sliznicích, spalničková vyrážka. Pásový opar se obecně projevuje většími záněty a destruktivními změnami. (tj. nekrózy, krvácení)	Přenos kapénkovou infekcí. Viry se nejprve množí na sliznici horních cest dýchacích a pak se šíří hematogenní cestou. Inkubační doba: Plané neštovice 14 - 17 dní, pásový opar asi 7 – 18 dní

Přítomnost VZV lze zjistit následujícími metodami:

- Mikroskopicky: barvení Giemsa, elektronovým mikroskopem, IF
- Sérologicky: Detekcí tvorby protilátek metodou ELISA

2. POUŽITÍ

Souprava firmy NovaTec Imunodiagnostica Varizella-Zoster IgG-ELISA je navržena pro kvalitativní stanovení IgG protilátek proti viru Varizella-Zoster (VZV) přítomných v lidském krevním séru nebo plasmě (citrát).

3. PRINCIP TESTU

Stanovení IgG protilátek proti VZV je založen na principu ELISA. Stěny jamek stripů mikrotitrační destičky jsou potaženy antigeny viru VZV, 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 IgG značený křenuvou peroxidázou (HRP). Tento konjugát se váže na zachycené specifické protilátky proti VZV. Taktó vytvořený imunokomplex je zviditelněn přidáním substrátu tetrametylbendzinu (TMB) za vzniku modrého zabarvení. Intenzita zabarvení je přímo úměrná množství IgG protilátek proti VZV přítomných ve vzorku pacientova séra. Reakce se zastaví změnou pH, přidáním kyseliny sírové. Tím se dojde ke konečnému žlutému zabarvení. Intenzita zabarvení 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 Varizella-Zoster (VZV) ; vakuově zabaleno v uzavírací aluminiové fólii.
- **IgG ředící roztok vzorků** ***: 1 lahvička, 100 ml, slouží pro ředění vzorků, připraveno k okamžitému použití, pH 7,2 ± 0,2, barva **žlutá**, 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 obsahující 50 ml 20x koncentrovaného pufru (pH 7,2 ± 0,2) určeného k promývání jamek mikrotitrační destičky, bílý uzávěr.
- **Konjugát anti-IgG VZV** **: 1 lahvička, 20 ml králičí anti-lidské IgG značené HRP, barva červená, připraveno k okamžitému použití, černý uzávěr.
- **Roztok TMB**: 1 lahvička, 15 ml 3,3',5,5'-tetra-methyl-benzidinu (TMB), připraveno k okamžitému použití, žlutý uzávěr.
- **Pozitivní kontrola Varizella-Zoster (VZV) IgG** ***: 1 lahvička o objemu 2 ml, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, **červený uzávěr**.
- **Cut-off kontrola Varizella-Zoster (VZV) IgG** ***: 1 lahvička o objemu 3 ml, barva žlutá, připraveno k okamžitému použití, **zelený uzávěr**.
- **Negativní kontrola Varizella-Zoster (VZV) IgG** ***: 1 lahvička o objemu 2 ml, 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. Další 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 s filtry 450 nm a 620 nm
- Inkubátor pro 37° C
- Ruční nebo automatická promývačka mikrotitračních destiček
- Pipety pro dávkování objemů od 10 do 1000 µl
- Vortex
- Deionizovaná 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 reagenty, vzorky a kontrolní vzorky dosáhnout pokojové teploty (20-25 °C)!

6.1. Stripy mikrotitrační destičky

Stěny jamek stripů jsou potaženy antigeny VZV. 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 konjugátu anti-lidského IgG s 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, Cut-off 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 do expirace pokud je uložen při teplotě 2 – 8 °C.*

6.4. Ředící roztok vzorků

Lahvička 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 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+19; př. 10 ml promývacího roztoku + 190 ml čerstvé předestilované vody bez mikrobů. 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, je možné, že 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 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 použití v testu se musí všechny vzorky předředit v poměru 1+100 ředícím roztokem vzorků. Dávkuje 10µl vzorku a 1 ml ředícího roztoku do zkumavek, aby jste získali 1+100 ředění a obsah pečlivě promíchejte na Vortexu. *Pozitivní a negativní kontrolní vzorky dodávané v soupravě jsou připraveny k okamžitému použití a nesmí se ředit.*

8. POSTUP PROVEDENÍ TESTU

8.1. Příprava testu

Dříve než začnete provádět rozbor, přečtete si pečlivě protokol testu. Spolehlivost výsledků závisí na přesném dodržení popsaného pracovního 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 vzorků včetně kontrolních vzorků na mikrotitrační destičce, můžete využít formulář dodávaný v soupravě. Vyberte požadovaný počet stripů nebo jamek a vložte je do rámečku.

Dodržte 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 je nutno používat čisté jednorázové špičky.

1. Dle předem připraveného plánu rozložení pipetujte 100 µl negativní kontroly, pozitivní kontroly a předředěných vzorků do jamek destičky. 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 100 µl konjugátu Varizella-Zoster (VZV) anti-IgG do všech jamek s výjimkou jamky A1 určené pro BLANK. Prikryjte krycí fólií.
6. **Inkubujte 30 minut při pokojové teplotě. Chraňte před přímým slunečním světlem.**
7. Opakujte krok 4.
8. Pipetujte 100 µl roztoku TMB substrátu do všech jamek včetně A1.
9. **Inkubujte přesně 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 zbarvení, 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 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 absorbanzi vzorků při 450/620 nm do 30 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 absorbanzi všech jamek při **450 nm** a zaznamenejte naměřené hodnoty absorbanze vzorků do identifikačního plánu rozložení jamek.

Doporučujeme provést duální měření při hustotě 620 nm.

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

9. VÝSLEDKY

9.1. Kritéria platnosti testu

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

- **Slepý test substrátu** A1: Hodnota absorbanze **nižší než 0,100.**
- **Negativní kontrolní vzorek** B1: Hodnota absorbanze **nižší než 0,200.**
- **Cut-off konrola** C1 a D1: Hodnota absorbanze **mezi 0,250 a 0,900.**
- **Pozitivní kontrolní vzorek** E1: Hodnota absorbanze rovna nebo vyšší než hodnota Cut-off kontroly.

9.2. Výpočet výsledků

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

Příklad: Hodnota absorbanze Cut-off kontroly 0,39+ hodnota absorbanze 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 absorbanze o 10% vyšší než hodnota Cut-off.

Vzorky jejichž hodnota absorbanze 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 absorbanze o 10% nižší než hodnota Cut-off.

9.3.1. Výsledky v jednotkách firmy NovaTec (NTU)

hodnota (průměrná) absorbanze vzorku pacienta x 10 = [NovaTec-Units = NTU]
Cut-off

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

Koeficient:	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	24	1,296	4,9
Intraassay	počet	Průměr	Cv (%)
Poz. sérum	21	1,350	2,4

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 >92,9 %.

10.4. Interference

Interference s hemolytickými, lipemickými nebo ikterickými séry nejsou sledovány do koncentrace 10 mg/ml hemoglobinu, 5 mg/ml triglyceridů a 0,2 mg/ml bilirubinu.

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. Nelze vyloučit křížovou reakci s HSV (Herpes simplex virus). Infekce HSV může způsobit značně vysokou hladinu protilátek proti VZV v titru a naopak. 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 analyzátoch 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 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, 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.

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

13. LITERATURA

Croen, K.D., S.E. Straus: VZV latency. Annu. Rev. Microbiol. 45 (1991) 265-285

Dlugosch, D., A.M. Eis-Hübinger, J-P. Klein et al.: Diagnosis of acute and latent VZV infections using polymerase chain reaction. J. Med. Virol. 35 (1991) 136-141

Enders, G., VZV infections in pregnancy. Prog. med. Virol. 25 (1984) 166-196

Harper, D.R., H.O. Kangro, R.B. Health: Serological responses in varicella and zoster assayed by immunoblotting. J. Med. Virol. 25 (1988) 387-398

14. INFORMACE PRO OBJEDNÁVKU

kat. č.: VZVG0490 Varicella-Zoster Virus (VZV) 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

Varizella-Zoster Virus (VZV) 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)					