

VIROTECH Enterovirus IgG ELISA
(Enterovirus IgG ELISA)

objednací číslo :EC116G00

VIROTECH Enterovirus IgM ELISA
(Enterovirus IgM ELISA)

objednací číslo :EC116M00

VIROTECH Enterovirus IgA ELISA
(Enterovirus IgA ELISA)

objednací číslo :EC116A00

barevné kódování : IgG: hnědá / tmavý hnědý
IgM: testovací pruh hnědý
IgM: referenční pruh hnědý / transparentní
IgA: bezbarvá

POUZE PRO IN VITRO DIAGNOSTICKÉ POUŽITÍ

VIROTECH Diagnostics GmbH
Löwenplatz 5
D- 65428 Rüsselsheim

tel.: +49-6142-6909-0
fax: +49-6142-966613
<http://www.virotechdiagnostics.com>



Freigabedatum: 31.1.2019

REV 15 / VIROTECH Enterovirus IgG & IgM & IgA ELISA CZ

Obsah

1. Účel použití.....	3
2. Princip testu	3
3. Obsah soupravy	3
3.1 Testovací kit IgG	3
3.2 Testovací kit IgA	3
3.3 Testovací kit IgM	3
4. Skladování a stabilita testovacího kitu a reagensů připravených k použití.....	4
5. Bezpečnostní opatření a varovná upozornění	4
6. Další potřebný materiál (není součástí dodávky).....	5
7. Testování	5
7.1 Testovaný materiál	5
7.2 Příprava reagensů	5
7.3 Provedení testu ELISA VIROTECH	5
7.4 Použití analyzátorů ELISA	6
8. Vyhodnocení testů	6
8.1 Kontrola funkčnosti testu (IgG a IgA)	6
8.2 Kontrola funkčnosti testu (IgM)	6
8.3 Výpočet jednotek VIROTECH (VE)	7
8.4 Výpočet jednotek VIROTECH (VE) (IgM)	7
8.5 Schéma vyhodnocení IgG, IgM a IgA	7
8.6 Meze testu	8
9. Literatura	8
10. Schéma provedení testu	9

1. Účel použití

Tento přípravek ELISA slouží k prokazování skupinově specifických protilátek IgG, IgA a IgM proti enterovirům v lidském séru.

2. Princip testu

Protilátka (IgG, IgA) hledaná v lidském séru tvoší s antigenem fixovaným na mikrotitrovací destičce imunokomplex. Nenavázané imunoglobuliny se vymyjí. Na tento komplex se naváže enzymový konjugát. Nenavázané imunoglobuliny se opět vymyjí.

Po přidání substrátového roztoku (TMB) vznikne enzymovou aktivitou (peroxidáza) modré barvivo, jež se po přidání zastavovacího roztoku změní na žluté.

Protilátka (IgM) hledaná v lidském séru reaguje tak jak je popsáno pro IgA a IgG. Spolu s antigenem povrstvenou mikrotitrovací destičkou (testovací proužky) je dodána také druhá mikrotitrovací destička (referenční proužky). Rozdíl v barevné intenzitě mezi testovacími a referenčními proužky je měřítkem množství vázaných protilátek.

3. Obsah soupravy

3.1 Testovací kit IgG

1. **1 mikrotitrovací destička**, sestávající z 96 odlomitelných jednotlivých dutinek (kavit), povrstvených antigenem, lyofilizovaná,
2. **zšňovací pufr PBS (modrý, v použití schopném stavu), 2 x 50 ml**, pH 7,2, s konzervační látkou a tween 20
3. **promývací roztok PBS (20x koncentrovaný) 50 ml**, pH 7,2, s konzervační látkou a tween 20
4. **negativní kontrola IgG, 2000 µl** lidského séra se stabilizátory proteinů a konzervačním prostředkem, v použití schopném stavu,
5. **hraniční kontrola IgG cut-off, 2000 µl**, lidské sérum se stabilizátory proteinů a konzervačním prostředkem, v použití schopném stavu,
6. **pozitivní kontrola IgG, 2000 µl**, lidské sérum se stabilizátory proteinů a konzervačním prostředkem, v použití schopném stavu,
7. **konjugát IgG (antihumánní), 11 ml**, (ovíjí nebo ostrucha kšvol'ará)-kšen-peroxidáza-konjugát s proteinovými stabilizátory a konzervačním prostředkem v THAM, připravený k použití
8. **roztok substrátu v tetrametylbenzidinu (3,3',5,5'-tetrametylbenzidin), 11 ml**, v použití schopném stavu,
9. **citronanový zastavovací roztok, 6 ml**, obsahující směs kyselin.

3.2 Testovací kit IgA

1. **1 mikrotitrovací destička**, sestávající z 96 odlomitelných jednotlivých dutinek (kavit), povrstvených antigenem, lyofilizovaná,
2. **zšňovací pufr PBS (modrý, v použití schopném stavu), 2 x 50 ml**, pH 7,2, s konzervační látkou a tween 20
3. **promývací roztok PBS (20x koncentrovaný) 50 ml**, pH 7,2, s konzervační látkou a tween 20
4. **negativní kontrola IgA, 2000 µl** lidského séra se stabilizátory proteinů a konzervačním prostředkem, v použití schopném stavu,
5. **hraniční kontrola IgA cut-off, 2000 µl**, lidské sérum se stabilizátory proteinů a konzervačním prostředkem, v použití schopném stavu,
6. **pozitivní kontrola IgA, 2000 µl**, lidské sérum se stabilizátory proteinů a konzervačním prostředkem, v použití schopném stavu,
7. **konjugát IgA (antihumánní), 11 ml**, konjugát (ovíjí nebo ostrucha kšvol'ará) kšen - peroxidáza s FCS a konzervačním prostředkem v tris- pufru, v použití schopném stavu,
8. **roztok substrátu v tetrametylbenzidinu (3,3',5,5'-tetrametylbenzidin), 11 ml**, v použití schopném stavu,
9. **citronanový zastavovací roztok, 6 ml**, obsahující směs kyselin.

3.3 Testovací kit IgM

Box 1

1. **1 mikrotitrovací destilka (testovací prouhky)**, sestávající z 96 odlomitelných jednotlivých dutinek (kavit), povrstvených antigenem, lyofilizovaná,
2. **zšedňovací pufr PBS (modrý, v pouhiti schopném stavu), 3 x 50 ml**, pH 7,2, s konzervační látkou a tween 20
3. **roztok substrátu v tetrametylbenzidinu (3,3',5,5'-tetrametylbenzidin), 2 x 11 ml**, v pouhiti schopném stavu,

Box 2

1. **1 mikrotitrovací destilka (referenční prouhky)**, sestávající z 96 jednotlivých povrstvených odlomitelných dutinek (kavit), lyofilizovaná,
2. **promývací roztok PBS (20x koncentrovaný) 2 x 50 ml**, pH 7,2, s konzervační látkou a tween 20
3. **negativní kontrola IgM, 4000 µl** lidského séra se stabilizátory proteinů a konzervačním prostředkem, v pouhiti schopném stavu,
4. **hraniční kontrola IgM cut-off, 4000 µl**, lidské sérum se stabilizátory proteinů a konzervačním prostředkem, v pouhiti schopném stavu,
5. **pozitivní kontrola IgM, 4000 µl**, lidské sérum se stabilizátory proteinů a konzervačním prostředkem, v pouhiti schopném stavu,
6. **konjugát IgM (antihumánní), 2 x 11 ml**, konjugát (ovčích nebo ostružinových kšvolů) kšvol - peroxidáza s FCS a konzervačním prostředkem v tris- pufru, v pouhiti schopném stavu,
7. **citronanový zastavovací roztok, 2 x 6 ml**, obsahující směs kyselin.

4. Skladování a stabilita testovacího kitu a reagentů pšpravených k pouhiti

Soupravu skladujte pš teplotě 2 - 8°C. Doba expirace jednotlivých reagentů je vyznačena na pšslužném štítku; doba expirace soupravy je uvedena v Certifikátu kontroly kvality.

1. Po odebrání potřebných jednotlivých jamek uskladněte zbývající část jednotlivých jamek/stripů v uzavřeném sáčku se sušidlem pš teplotě 2 - 8°C. L'idla ihned po pouhiti uskladněte opě pš teplotě 2 - 8°C.
2. Konjugát a substrátový roztok TMB jsou citlivé na světlo a musí být skladovány ve tmě. Pokud by se substrátový roztok zabarvil, musí být zlikvidován.
3. Odebírejte pouze takové množství konjugátu, resp. TMB, jež je potřeba pro dané testování. V pšpadě že jste odebrali pšliší velké množství konjugátu, resp. TMB, nesmí se vrátit zpě a musí být zlikvidován.

Materiál	Stav	Skladování	Stabilita
zkušební vzorky	zšedňový	+2 až +8°C	max. 6h
	nezšedňový	+2 až +8°C	1 týden
kontroly	po otevření	+2 až +8°C	3 měsíce
mikrotitrační destilka	po otevření	+2 až +8° (skladování v souřasň dodaném sáčku s vysoušecím sáčkem)	3 měsíce
revmatoidní faktor - absorbent	nezšedňový, po otevření	+2 až +8°C	3 měsíce
	zšedňový	+2 až +8°C	1 týden
konjugát	po otevření	+2 až +8°C (chráte pš světlem)	3 měsíce
tetrametylbenzidin (TMB)	po otevření	+2 až +8°C (chráte pš světlem)	3 měsíce
zastavovací roztok	po otevření	+2 až +8°C	3 měsíce
	po otevření	+2 až +8°C	3 měsíce
prací roztok	po zšedňování (pšpravený k pouhiti)	+2 až +25°C	4 týdny

5. Bezpečnostní opatření a varovná upozornění

1. Jako kontrolní séra se pouhívají pouze taková séra, která byla testována a sledována negativními na protilátky proti HIV1, HIV2, HCV a antigen HBsAg. Pšsto by měly být všechny vzorky, zšedňové vzorky, kontroly, konjugáty a mikrotitrační stripy považovány jako potenciálně infekční materiál a podle toho by s nimi mělo být opatrně zacházeno. Pro práci v laboratoři platí pšslužné směrnice..
2. Součástí obsahující konzervační látky, citrátový zastavovací roztok a TMB pšsobil dráždivě na kůži, oči a sliznice. Pš kontaktu postižená místa ihned omyjte pod tekoucí vodou a pšpadně vyhledejte lékaře.
3. Likvidace pouhitych materiálů probíhá podle pšslužných směrnic platných v dané zemi.

6. Další potřebný materiál (není součástí dodávky)

1. Destilovaná/demineralizovaná voda
2. Vícekanálová mikropipeta 50µl, 100µl
3. Mikropipety: 10µl, 100µl, 1000µl
4. Zkumavky
5. Utěrky z buniťiny
6. Vířka na destilky ELISA
7. Odpadkové koše na infekční materiál
8. Ruční nebo automatická promývačka ELISA mikrotitrálních destílek
9. Mikrofotometr na mikrotitrálních destílkách s filtrem 450/620nm (Délka referenční vlny 620-690nm)
10. Inkubátor

7. Testování

Předpokladem pro získání správných výsledků je přesné dodržování pracovního postupu firmy VIROTECH Diagnostics.

7.1 Testovaný materiál

Jako zkoumaný materiál lze použít sérum a plazmu (přitom není důležitý druh antikoagulantů), i když v tomto případě je zmíněno pouze sérum.

Zdržení pacientů používejte vždy první.

Pro případ delšího skladování je třeba tato séra zmrazit. Zamezte opakovanému zamražení-rozmražení.

1. Používejte pouze první, nikoli inaktivovaná séra.
2. Nepoužívejte hyperlipidemické, hemolytické, mikrobiálně kontaminované vzorky a zkalená séra (falesně pozitivní/negativní výsledky).

7.2 Příprava reagensů

Diagnostika VIROTECH Diagnostics System nabízí vysoký stupeň flexibility tím, že umožňuje nasazení pufru k zdržení a promývání, TMB, citrátového roztoku k ukončení reakce, jakož i konjugátu pro všechny barvy a parametry. Kontroly k okamžitému použití (pozitivní kontroly, cut-off kontroly, negativní kontroly) jsou specifické pro charakteristické hodnoty a používají se výhradně s barvami destílek uvedenou v certifikátu kontroly kvality.

1. Inkubátor nastavte na teplotu 37°C a před započetím inkubace zkontrolujte, zda bylo této teploty dosaženo.
2. Balení s testovacími stripy můžete otevřít až v době, kdy jsou již všechny inidla temperována na pokojovou teplotu.
3. Všechny tekuté reagensie před upotřebením dobře protřepte.
4. Koncentrát pracovní roztoku doplňte na 1 litr Aqua dest./demin. (připadné tvorbě krystalů koncentrátu tento koncentrát před zdržením nastavte na pokojovou teplotu a před použitím zatřepjte).
5. Vysoký titer IgG nebo reumatoidní faktor mohou narušit specifický průkaz IgM protilátek a mohou vést k falesně pozitivním, resp. falesně negativním výsledkům. **Séra je třeba připravit pomocí RF-SorboTech** (adsorpci prostředkem VIROTECH). Při kontrolách IgM odpadá předběžná adsorpce.

7.3 Provedení testu ELISA VIROTECH

Všechny vzorky, které mají být testovány, je třeba v testu **IgM** otestovat jak na **testovacích proučcích** (proučcích s antigeny enterovirů), tak i na **referenčních proučcích** (proučky s kontrolním antigenem). Před provedením testu je proto třeba umístit vedle sebe do drháků potřebný počet testovacích proučků a referenčních proučků podle počtu vzorků. **Přitom smí být spolu kombinovány pouze testovací proučky a referenční proučky s řadami uvedenými v certifikátu o kontrole kvality.**

Testy na IgA nebo IgG jsou prováděny pouze s jednou mikrotitrací destílkou.

1. Do označených jamek napipetujte 100µl zkušovací pufru na vzorek (blank, slepá hodnota), negativní kontroly, hraní kontroly a pozitivní kontroly IgG, IgM a IgA, a na zdržených séra pacienta. Doporučíme použít vždy dvě jamky (slepá hodnota, kontroly a séra pacientů; hraní kontroly je vždy ve dvou jamkách.. Pracovní zdržení séra pacienta : 1+100; např. 10µl sérum + 1ml zkušovací pufru.
2. Po pipetování následuje inkubace po dobu 30 minut při teplotě 37 °C (destilka se zakryje víčkem).
3. Po ukončení inkubace se jamky promyjí třikrát promývacím roztokem 350 - 400µl na každou jamku. Promývací roztok nenechte stát v jamkách a poslední zbytky kapaliny odstraňte vyklepáním na absorbuji podložku.

4. Napipetujte 100µl konjugátu do všech jamek.
5. Inkubace konjugátu: po dobu 30 minut při teplotě 37 °C (přikryto).
6. Po inkubaci konjugátu následuje řetězové promytí (viz bod 3).
7. Napipetujte 100µl substrátového roztoku TMB do každé jamky.
8. Inkubace roztoku substrátu: 30 min. při teplotě 37°C (se zakrytím, uložení v temnu).
9. Reakce substrátu se zastaví citrátovým stop roztokem: napipetuje se do všech jamek po 50µl. Destilátku opatrně a pečlivě protřepte poklepáním se strany tak, aby se kapaliny zcela promíchaly a obsah jamek je rovnoměrně fialově zabarven.
10. Změřte absorbance při 450/620nm (Délka referenční vlny 620-690nm). Fotometr nastavte tak, aby OD slepé hodnoty byl o desetkrát nižší než absorpce kontrol a vzorků. Fotometrické měření by mělo být prováděno do doby jedné hodiny po přidání zastavovacího roztoku.

Schéma provedení testu viz poslední stranu

7.4 Použití analyzátorů ELISA

Všechny testy ELISA VIROTECH Diagnostics mohou být zpracovávány pomocí procesorů ELISA. Uživatel je povinen provést pravidelnou validaci přístrojů.

VIROTECH Diagnostics doporučuje následující postup:

1. Při poskytnutí přístrojů, resp. větších opravách Vašeho procesoru ELISA doporučuje VIROTECH Diagnostics validaci přístroje podle parametrů stanovených výrobcem přístroje.
2. V souvislosti s tím je doporučováno analyzátoru ELISA přezkontrolovat a přezkoušet pomocí validační sady (EC250.00). Přezkontrolování pomocí validační sady by mělo být prováděno minimálně jednou za tři roky.
3. Při každém testovacím běhu musejí být splněna kritéria propuštění do oběhu v souvislosti s Certifikátem o kontrole kvality k příslušnému výrobku.

Tento postup zaručí bezvadnou funkci vašeho procesoru ELISA a navíc slouží k zajištění kvality laboratoře.

8. Vyhodnocení testů

Okamžitelné kontroly slouží pro semikvantitativní stanovení specifických IgG, IgA a IgM protilátek, jejichž koncentrace je uváděna v jednotkách VIROTECH (=VE). Výsledky podmíněné testováním jsou vyrovnávány výpočtovou metodou, čímž je dosažena vysoká reprodukovatelnost. Pro výpočet VE použijte střední hodnoty nebo OD-hodnoty.

8.1 Kontrola funkčnosti testu (IgG a IgA)

a) Hodnoty optické hustoty

OD-hodnota slepého vzorku musí být <0,15.

Hodnoty optické hustoty negativních kontrol by měly být nižší než hodnoty optické hustoty uváděné v certifikátu o kontrole kvality, hodnoty optické hustoty pozitivních kontrol i hraníčních kontrol cut-off by se měly nacházet nad hodnotami optické hustoty uváděnými v Certifikátu o kontrole kvality.

b) Jednotky VIROTECH (VE)

Jednotky VIROTECH (VE) hraníčních kontrol cut-off jsou definovány 10 VE. Výpočetné VE pozitivních kontrol by se měly pohybovat uvnitř rozmezí uváděných v certifikátu o kontrole kvality.

Pokud nejsou požadavky (hodnoty optické hustoty, VE) splněny, musí být test opakován.

8.2 Kontrola funkčnosti testu (IgM)

1. Od všech hodnot extinkce pozitivních, hraníčních cut-off a negativních kontrol, jakož i hodnot séra pacientů na testovacích proučcích se odečtou prázdňové hodnoty ("testovací hodnoty").
2. Od všech hodnot extinkce pozitivních, hraníčních cut-off a negativních kontrol, jakož i hodnot séra pacientů na referenčních proučcích se odečtou prázdňové hodnoty ("referenční hodnoty").
3. Pro všechny pozitivní, hraníčních cut-off a negativní kontroly, jakož i séra pacientů se výpočtově "rozdíl testovacích hodnot minus referenčních hodnot", a to tak, že od příslušných testovacích hodnot budou odečteny odpovídající referenční hodnoty.

a) hodnoty OD

Rozdíly mezi testovací hodnotou a referenční hodnotou negativních kontrol by měly být pod hodnotami OD uvedenými v certifikátu o kontrole kvality, rozdíl mezi testovací hodnotou a referenční hodnotou pozitivních kontrol jakož i hraniční kontrol cut-off by měly být nad hodnotami OD uvedenými v certifikátu o kontrole kvality.

b) jednotky VIROTECH (VE)

Jednotky VIROTECH (VE) hraničních kontrol cut-off jsou definovány s 10 VE. Výpočet VE pozitivních kontrol by měl ležet uvnitř oblastí uvedených v certifikátu o kontrole kvality.

Nejsou-li tyto požadavky (hodnoty OD, VE) splněny, je třeba test opakovat.

8.3 Výpočet jednotek VIROTECH (VE)

Absorbance slepé (450/620nm) musí být od všech absorbancí odečtena.

$$\text{VE pozitivní kontrola} = \frac{\text{OD pozitivní kontrola}}{\text{hraniční}} \times 10$$

$$\text{VE vzorek} = \frac{\text{OD vzorek}}{\text{hraniční}} \times 10$$

8.4 Výpočet jednotek VIROTECH (VE) (IgM)

Extinkce prázdné hodnoty (450 / 620 nm) musí být odečtena od všech extinkcí.

$$\text{VE (pozitivní kontrola)} = \frac{\text{rozdíl (test.hodnota - referenční hodnota pozitivní kontroly)}}{\text{rozdíl (test.hodnota - referenční hodnota hraniční kontroly cut - off)}} \times 10$$

$$\text{VE (sérum pacienta)} = \frac{\text{rozdíl (test.hodnota - referenční hodnota séra pacienta)}}{\text{rozdíl (test.hodnota - referenční hodnota hraniční kontroly cut - off)}} \times 10$$

Příklad :

- OD na testovacím proužku pozitivní kontroly : 0,853
- OD na referenčním proužku pozitivní kontroly : 0,107
- rozdíl testovací hodn. - referenční hodnota pozitivní kontroly : 0,746
- OD na testovacím proužku hraniční kontroly cut-off : 0,341
- OD na referenčním proužku hraniční kontroly cut-off : 0,073
- rozdíl testovací hodn.- referenční hodnoty hr. kontroly cut-off : 0,268

$$\text{VE (pozitivní kontroly)} = \frac{0,746}{0,268} \times 10 = 27,8$$

8.5 Schéma vyhodnocení IgG, IgM a IgA

Výsledek (VE)	Posouzení
< 9,0	negativní
9,0 - 11,0	hraniční hodnoty
> 11,0	pozitivní

1. Pokud se naměřené VE vzorku nacházejí nad hraničními hodnotami uváděného rozmezí, považují se na tyto vzorky za pozitivní.

2. Pokud se naměřené VE vzorku nacházejí v rozmezí hraničních hodnot (šedá zóna), vzorky se berou jako hraniční. Doporučuje se tyto vzorky opakovaně testovat z nového odběru. Pro bezpečné prokázání infekce je zapotřebí určit obsah protilátek ve dvou vzorcích séra. Jeden vzorek séra by měl být podroben testu bezprostředně po zátce infekce, druhý o 5 až 10 dní později (tzv. rekonvalescentní sérum). Koncentrace protilátek obou vzorků musí být zjišťovány paralelně tj. v jedné testovací válce. Korektní diagnóza na základě vyhodnocení výsledku testu jediného vzorku není možná.
3. Pokud jsou naměřené hodnoty menší než hraničního rozmezí, nejsou ve vyšetřovaném vzorku přítomné žádné antigenspecifické protilátky. Vzorky se považují za negativní.

8.6 Meze testu

Imunologická odpověď může být homotyp nebo heterotyp. Homeotypické protilátky se zaměřují na epitopy specifické pro sérotyp, zatímco heterotypické protilátky rozpoznávají epitopy, které jsou pro sérotypy identické nebo podobné.

Test VIROTECH-ELISA dokazuje křížově reagující heterotypické protilátky proti enterovirům. pomocí horkem denaturovaných antigenových preparátů. Při stanovení diagnózy ohledně existence enterovirové infekce je třeba zohlednit následující skutečnosti :

1. Výraznost reakce křížově reagujících epitopů na horkem deaktivované enteroviry může vykazovat kvantitativní a kvalitativní rozdíly, podle toho, jaké typy sér a které izoláty byly použity pro preparaci antigenů. Tomu odpovídající může také variovat také spektrum heterotypických protilátek, které je rozeznáváno různými testovacími systémy.
2. Množství poměr homotypických k heterotypickým protilátkám v séru pacientů může být rozdílný. Zkoumání Kinga et al. (6) naznačují, že v průběhu první enterovirové infekce v dětském věku se tvoší především homotypické protilátky, a teprve ve vyšším věku a po vyšším počtu prodáváných enterovirových infekcí přibývá podíl heterotypických protilátek. Při aplikaci testu VIROTECH-Enterovirus-ELISA proto mohou nastat negativní výsledky v těchto případech, ve kterých je heterotypická imunitní odpověď oproti homotypické imunitní odpovědi jen slabě výrazná.
3. Protože test ELISA prokazuje i Polio-pozitivní séra, nelze vyloučit, že k pozitivnímu výsledku může vést i případně obsažený titr vyvolaný očkovaním.
4. Mezi enteroviry a hepatitidou A, Epstein-Barrovým virem (EBV), cytomegalickým virem (CMV) a rinoviry byly popsány křížové reakce (7).
5. K interpretaci sérologických výsledků by měl být vždy přibrán klinický obraz, epidemiologické údaje a eventuálně další laboratorní nálezy, které jsou k dispozici.

9. Literatura

1. Diagnostische Bibliothek: Coxsackie- und Echoviren; In vitro Diagnostica Nachrichten; 24 (1994) 1-8.
2. MIQ 13; Infektionen des Mundes und der oberen Atemwege; 35-37 (2000).
3. RKI, Übersicht zu Erkrankungen durch Enteroviren, Stand: Mai 2002.
4. Bomann J et al., Serum IgA, IgG und IgM Responses to different Enteroviruses as measured by a Coxsackie B5-based indirect ELISA; J. Med.Virol.; 38:32-35 (1992).
5. Swanink CMA et al., Coxsackie B1-Based Antibody-Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Immunoglobulin G (IgG), IgM, and IgA with Broad Specificity for Enteroviruses, J. Clin. Microbiol. 31:3240-3246 (1993)
6. King M.J., Bidvell D., Shaikh A., Voller A., Banatvala J.E. Coxsackie-B-virus-specific IgM responses in children with insulin-dependent (juvenile-onset; type 1) diabetes mellitus, Lancet i: 1397-9 (1983)
7. Samuelson, A. et al., Aspects on the serodiagnosis of enterovirus infections by ELISA, Serodiagn. Immunother. Infect. Dis.; 4:395-406 (1990).

Připrava vzorků a promývacího roztoku

É **Promývací roztok** : koncentrát doplnit dest./demin. vodou na 1 l

É **zředění vzorky IgG/IgA**
1:101

např.:

10 µl séra/plazmy + 1000 µl ředícího roztoku na vzorek
(ředící roztok na vzorek se používá přímo)

É **zředění vzorky IgM**
1:101

**adsorpce revmatoidního faktoru pomocí
RF-SorboTech**

např.:

5 µl séra/plazmy + 450 µl ředícího roztoku na vzorek +
1 kapka RF- SorboTech, inkubace při pokojové teplotě
po dobu 15 minut

Schéma průběhu testu

