

Zkrácený návod k použití souprav HISTOSPOT ABs Screen / ID

1. V softwaru HISTO MATCH

- a. Připravte Pracovní list (pozitivní a negativní kontrolu zadejte jako vzorek, např. c1+ a c1-, c2+ a c2-).
- b. Přeneste ho do stroje MR. SPOT (síťovým připojením nebo pomocí USB paměti).
- c. Vytiskněte Report se schématem pipetování.

2. Příprava vzorků séra

- a. Centrifugujte sérum **1-5 min** při **2 500 – 10 000 g**.
- b. Odstraňte mastnou vrstvu nebo odeberte čistou část séra.
- c. Vortexujte čistou část séra.

3. Příprava reagensí

- a. Inkubujte promývací pufr (Wash Buffer) přibližně 15 min při 30°C tak, aby se rozpustily všechny krystaly.

4. Příprava pozitivní kontroly

- a. Naředte **1 µl** pozitivní kontroly v **50 µl** v pufru pro ředění vzorků (Sample buffer) (*vortexujte a stočte lahvičku s koncentrovanou kontrolou*).

5. Příprava stroje na test

- a. Připravte stroj podle pokynů na dotykové obrazovce.
- b. Při přípravě konjugátu konjugát vortexujte a stočte několik vteřin.
- c. Pokračujte s přípravou přístroje až do kroku, ve kterém se přidává PCR deska se séry pacienta a **teprve potom si séra pacientů naředte a připravte PCR desku.**

6. Naředění vzorků séra, kontrol a přenesení na PCR desku

- a. Pro ředění sér a přenesení do stroje používáme standardní PCR destičku (lze lámat).
- b. Pro každou třídu je nutno použít pozitivní kontrolu (již naředěnou) a negativní kontrolu (připravena k použití). S kontrolami pracujeme jako se vzorky.
- c. Ředění pro třídu I: **95 µl** pufru pro ředění vzorků (Sample buffer) + **5 µl** séra (kontrol).
- d. Ředění pro třídu II: **98 µl** pufru pro ředění vzorků (Sample buffer) + **2 µl** séra (kontrol).

7. Interpretace

- a. Po ukončení běhu testu přeneste data zpět do softwaru HISTO MATCH pomocí sítě nebo USB paměti.
- b. Po proběhnutí automatické interpretace všechny vzorky zkontrolujte a upravte podle pokynů v návodu k použití pro software HISTO MATCH.
- c. Stripy nevyhazujte pro případ potřeby opakovaného focení.

Příklad napipetování sér do PCR desky pro 6 vzorků a stanovení protilátek třídy I. a II.

	Strip 1 - TŘÍDA I.	Strip 2 - TŘÍDA II.	Strip 3 ...
A	5 µl séra + 95 µl Sample buffer	2 µl séra + 98 µl Sample buffer	
B	5 µl séra + 95 µl Sample buffer	2 µl séra + 98 µl Sample buffer	
C	5 µl séra + 95 µl Sample buffer	2 µl séra + 98 µl Sample buffer	
D	5 µl séra + 95 µl Sample buffer	2 µl séra + 98 µl Sample buffer	
E	5 µl séra + 95 µl Sample buffer	2 µl séra + 98 µl Sample buffer	
F	5 µl séra + 95 µl Sample buffer	2 µl séra + 98 µl Sample buffer	
G	5 µl negativní kontrola 95 µl Sample buffer	2 µl negativní kontrola 98 µl Sample buffer	
H	5 µl pozitivní kontrola (předředěná) 95 µl Sample buffer	2 µl pozitivní kontrola (předředěná) 98 µl Sample buffer	

↑

↑

<u>Příprava pozitivní kontroly</u> 1 µl pozitivní kontroly třídy I. 50 µl pufru pro ředění vzorků (Sample buffer)	v	<u>Příprava pozitivní kontroly</u> 1 µl pozitivní kontroly třídy II. 50 µl pufru pro ředění vzorků (Sample buffer)
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

- do všech pozic pro testování třídy I. nanese 95 µl Sample buffer (pufr pro ředění vzorků)
- do všech pozic pro testování třídy II. nanese 98 µl Sample buffer (pufr pro ředění vzorků)
- do pozic pro třídu I. přidáme 5 µl (promícháme špičkou) vzorku séra nebo kontrol
- do pozic pro třídu II. přidáme 2 µl (promícháme špičkou) vzorku séra nebo kontrol