

**ID screen®** **Bluetongue Competition**

**Souprava pro detekci protilátek BTV VP7 proteinu u vzorků sera a plasmy ovcí, koz, dobytka, buvolů nebo jelenů**

*Použití in vitro*

**Návod k použití**

**BTC ver 1217 EN**

 **Výrobce Výhradní zástupce v ČR a SR**

**O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.**

**O.K. SERVIS BioPro SK, s.r.o.**

Bořetická 2668/1,

Bulharská 70,

193 00 Praha 9 – Horní Počernice

821 04 Bratislava

Česká republika

info@oks.cz

Slovenská republika

bratislava@oks.cz

www.biopro.cz

www.biopro.cz

**Obsah**

Obsah

[1. Úvod 3](#_Toc76563333)

[2. Popis a princip testu 3](#_Toc76563334)

[3. Obsah soupravy 4](#_Toc76563335)

[4. Materiál potřebný k provedení testu (není součástí této soupravy) 4](#_Toc76563336)

[5. Bezpečnostní opatření 4](#_Toc76563337)

[6. Příprava vzorku 5](#_Toc76563338)

[7. Příprava promývacího roztoku 5](#_Toc76563339)

[8. Pracovní postup 5](#_Toc76563340)

[9. Validace - kontrola 7](#_Toc76563341)

[10. Interpretace 7](#_Toc76563342)

[Dodatek – Kontakty 8](#_Toc76563343)

#

# 1. Úvod

Tato diagnostická souprava je určena k detekci protilátek k proteinu Bluetongue viru VP7.

Souprava může být použita se sérem nebo plasmou ovcí, koz, dobytka, buvolů, nebo jelenů.

# 2. Popis a princip testu

Jamky jsou pokryté rekombinantním proteinem VP7.

Vzorky, které jsou testovány, a kontroly jsou přidávány do mikrotitrační destičky. Protilátka anti-VP7, pokud je přítomna, tvoří komplex protilátka-antigen, který maskuje epitop VP7.

Konjugát anti-VP7-peroxidasa (HRP) je přidáván do mikrotitračn destičky. Zde fixuje zbývající volný VP7 epitop za tvorby komplexu antigen-konjugát-HRP.

Po promytí a odstranění nadbytečného konjugátu je přidán roztok substrátu (TMB). Výsledné zabarvení závisí množství specifických protilátek. Původně modrý roztok se barví do žluta, pokud nejsou přítomny protilátky. V přítomnosti protilátek nedochází k barevné změně.

Destička je čtena při 450 nm.

# 3. Obsah soupravy

|  |
| --- |
| REAGENCIE |
| Mikrodestičky potažené rekombinantním proteinem VP7  |
|  |
| Koncentrovaný konjugát 10x |
| Pozitivní kontrola |
| Negativní kontrola |
| Ředící pufr **2** |
| Koncentrovaný vymývací roztok (20x) |
| Roztok substrátu |
| Stop roztok (0.5 M) |

* 1. Konjugát, kontroly a roztok substrátu musí být skladovány při teplotě + 5°C ( ± 3°C).
	2. Ostatní reagencie mohou být skladovány mezi +2°C až +26°C.
	3. Komponenty, které mají shodný název (koncentrovaný vymývací roztok, ředící pufr 2, stop roztok) mohou být používány pro celou řadu diagnostik ID VET.

# Materiál potřebný k provedení testu (není součástí této soupravy)

* 1. Jedno nebo vícekanálové mikropipety pro přenášení 10 µl, 100 µl a 500 µl
	2. Špičky pro mikropipety na jednorázové použití.
	3. Odečítačka 96-ti jamkových mikrodestiček.
	4. Destilovaná nebo deionizovanou voda.
	5. Manuální nebo automatický promývací systém.

# Bezpečnostní opatření

1. Nepipetujte ústy.
2. Roztok substrátu může po zasažení podráždit kůži
3. Stop roztok (0.5 M) je zdraví škodlivý při požití (H302). V případě zasažení kůže nebo očí, okamžitě důkladně vypláchněte proudem čisté vody a vyhledejte lékaře. Může vyvolat alergickou kožní reakci (H317).
4. Roztok substrátu nevystavujte přímému světlu ani oxidačním činidlům
5. Všechen použitý jednorázový materiál pro testování dekontaminujte dle platných nařízení.

# 6. Příprava vzorku

Aby se zabránilo rozdílné délce inkubace jednotlivých vzorků je možné připravit předem na 96-jamkovou destičku testovací a kontrolní vzorky a až poté je ve stejný čas přenést do ELISA mikrodestiček za použití vícekanálových pipet.

# 7. Příprava promývacího roztoku

Pokud je to nezbytné, přeneste Promývací roztok (20x) do pokojové teploty a řádně jej promíchejte. Připravte Promývací roztok (1x) zředěním Promývacího roztoku (20x) destilovanou vodou.

Promývací krok velmi ovlivňuje konečný výsledek reakce. Ujistěte se, že jamky jsou před promyvem zcela prázdné. Pokud používáte automatickou pipetu, je velmi důležité správné nastavení jejích parametrů.

# 8. Pracovní postup

Před provedením testu přeneste všechny reagencie do pokojové teploty a nechejte vytemperovat na teplotu 21°C ± 5°C.

Všechny reagencie pak homogenizujte převrácením nebo na vortexu.

1. Přidejte:
* 50 ul Ředícího roztoku 2 do každé jamky
* 50 ul Pozitivní kontroly do jamky A1 a B1.
* 50 ul Negativní kontroly do jamky C1 a D1.
* 50 ul vzorku do každé zbývající jamky.
1. Přikryjte destičku a inkubujte 45 min ± 4 min při teplotě 21°C (±5°C).
2. Připravte Konjugát 1x zředěním Koncentrovaného konjugátu 10x v poměru 1/10 Ředícím pufrem 2.

Destičku neproplachujte, ani nevylévejte.

1. Přidejte 100 ul Konjugátu 1x do každé jamky.
2. Přikryjte destičku a inkubujte 30 min ±3 min při teplotě 21°C (±5°C).
3. Každou jamku promyjte 3x 300 ul Promývacího roztoku. Vyvarujte se vyschnutí jamek.
4. Přidejte 100 ul Roztoku substrátu do každé jamky.
5. Přikryjte destičku a inkubujte 15±2 min při teplotě 21°C (±5°C) ve tmě.
6. Přidejte 100 ul Zastavovacího roztoku do každé jamky jako v bodě 7 pro zastavení reakce.
7. Odečtěte zabarvení roztoků v destičce spektrofotometricky při vlnové délce 450 nm.

# 9. Validace - kontrola

Test je validní jestliže:

* průměr hodnoty **negativních kontrol** O.D. NC je vyšší než 0,700

**OD NC > 0.700**

* poměr mezi průměrem O.D. hodnoty **pozitivních a negativních kontrol** O.D. PC a O.D. NC je nižší než 0,3.

OD pozitivní kontroly

--------------------------------- ˂0,3

OD negativní kontroly

# 10. Interpretace

**Pro každý vzorek vypočítáváme S/N procento ( S/P) :**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| S/N%= | OD sample  |  |
| ----------------------------- x 100  |  |
|  | OD NC |  |

**Vzorky s poměrem S/N %:**

* Více nebo rovno 40% jsou považovány za negativní
* Méně než 40% jsou považovány za pozitivní.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Výsledek** |  | **Stav** |
| S/N % ˂ 40% |  | Pozitivní |
| S/N % ≥ 40 % |  | Negativní |

# Dodatek – Kontakty

**Výrobce**



**Výhradní zástupce v ČR a SR**



**O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.**

**Kanceláře**: Bořetická 2668/1, 193 00 Praha 9 - Horní Počernice,Česká republika

tel.: +420 281 091 460, fax: +420 281 866 264, info@oks.cz

**Servis**: Bořetická 2668/1, 193 00 Praha 9 - Horní Počernice, Česká republika

tel.: +420 281 091 460, fax: +420 281 866 264, servis@oks.cz

**Infolinka**: +420 841 111 114

www.biopro.cz

**O.K. SERVIS BioPro SK, s.r.o.**

***Kancelář:*** Bulharská 70, 821 04 Bratislava, Slovenská republika tel.: +421 243 634 967, fax: +421 233 331 785 bratislava@oks.cz

***Servis:*** tel.: +421 220 512 703