cattletype BHV1 gB Ab

Příručka

K detekci protilátek proti glykoproteinu B bovinního Herpesviru 1

 5 destiček (kat. č. CT270043)  20 destiček (kat. č. CT270045)

INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Deutscher Platz 5b, 04103 Leipzig, Germany



Obsah

[Obsah soupravy 3](#_Toc87353117)

[Účel použití 3](#_Toc87353118)

[Symboly 4](#_Toc87353119)

[Kontrola kvality 4](#_Toc87353120)

[Skladování 4](#_Toc87353121)

[Bezpečnostní informace 5](#_Toc87353122)

[Úvod 6](#_Toc87353123)

[Princip 6](#_Toc87353124)

[Vybavení a reagencie zajištěné uživatelem 7](#_Toc87353125)

[Důležitá upozornění 8](#_Toc87353126)

[Všeobecná opatření 8](#_Toc87353127)

[Protokol: ELISA testovací procedura 9](#_Toc87353128)

[Důležité body před spuštěním 9](#_Toc87353129)

[Co je třeba udělat před zahájením testu 9](#_Toc87353130)

[Příprava vzorků mléka 9](#_Toc87353131)

[Testování v případě séra a vzorků plazmy 10](#_Toc87353132)

[Testování v případě vzorků mléka 11](#_Toc87353133)

[Interpretace dat 12](#_Toc87353134)

[Validační kritéria 12](#_Toc87353135)

[Výpočet 12](#_Toc87353136)

[Interpretace výsledků 12](#_Toc87353137)

[Index změn 13](#_Toc87353138)

[Rychlý průvodce pro cattletype BHV1 gB Ab 14](#_Toc87353139)

# Obsah soupravy

cattletype BHV1 gB Ab Kat. č.

Počet destiček

Test. destička: mikrotitrační s 96 jamkami, potažená inaktivovaným BHV1 antigenem

5

20

(5) CT270043 5

(20) CT270045 20

Ředící roztok vzorku, připraveno k použití 1 x 30 ml 1 x 125 ml

Negativní kontrola, připraveno k použití 1 x 3.5 ml 2 x 3.5 ml

Pozitivní kontrola, připraveno k použití 1 x 3.5 ml 2 x 3.5 ml

Promývací pufr, 10x koncentrovaný 3 x 125 ml 2 x 500 ml

Konjugát, připraveno k použití 1 x 60 ml 1 x 240 ml

TMB Substrát, připraveno k použití 1 x 60 ml 1 x 240 ml

Zastavovací roztok, připraveno k použití 1 x 60 ml 1 x 240 ml

Příručka 1 1

# Účel použití

Souprava *cattletype* BHV1 gB Ab je enzymová imunozkouška (ELISA). Slouží k detekci protilátek proti glykoproteinu E bovinního herpesviru 1 (BHV1) v séru, plazmě a vzorcích mléka od skotu. Souprava je schválena institutem Friedrich-Loeffler-Institut a registrována v souladu s § 11 (2) německého Zákona o zvířecích nemocech (FLI-B 491) k použití pro veterinární diagnostické procedury v Německu.

Určeno pouze k veterinárním účelům.

# Symboly

Zákonný výrobce

 Číslo šarže

  Datum spotřeby

 Teplotní omezení při skladování

 Příručka

 Katalogové číslo

Číslo materiálu

Pro vzorky skotu

# Kontrola kvality

V souladu se systémem řízení jakosti ISO certifikovaným společností ISO je každá dávka bovinního typu BHV1 gB Ab testována na základě předem stanovených specifikací, aby byla zajištěna konzistentní kvalita produktu.

# Skladování

Komponenty soupravy *cattletype* BHV1 gB Ab ELISA je třeba skladovat při teplotě 2–8 °C a zůstávají stabilní do data spotřeby uvedeného na štítku.

Promývací pufr (10x) a zastavovací roztok lze skladovat při pokojové teplotě (18–25 °C), aby nedocházelo ke krystalizaci soli. Pokud jsou součástí soupravy testovací stripy, zbylé testovací stripy skladujte do dalšího použití v těsně uzavřeném fóliovém váčku se sikativem při teplotě 2–8 °C. Testovací stripy lze skladovat po dobu nejméně 6 týdnů po otevření sáčku s destičkou.

# Bezpečnostní informace

Při práci s chemikáliemi vždy noste vhodný laboratorní oděv, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Další informace naleznete v příslušných bezpečnostních listech (SDS). Tyto informace získáte od místního obchodního zástupce nebo e-mailem na adrese compliance@indical.com.

UPOZORNĚNÍ: Zastavovací roztok obsahuje 0,5M kyselinu sírovou.

Všechny zbytky vzorků a předměty, které se dostaly do kontaktu se vzorky, je nutné dekontaminovat nebo zlikvidovat jako potenciálně infekční materiál.

# Úvod

*cattletype* BHV1 gB Ab je citlivým testem pro detekci protilátek proti glykoproteinu B (gB) hovězího herpesviru 1 (BHV1) v séru, plazmě a mléčných vzorcích. BHV1 je příčinou infekční bovinní rinotracheitidy (IBR) - respiračního onemocnění, které způsobuje tracheitidu, rinitidu a horečku. Kromě toho infekce BHV1 může způsobit infekční pustulární vulvovaginitidu (IPV), balanoposthitidu a potraty.

Klinické onemocnění je často následováno latentní infekcí BHV1. Reaktivace viru může být příčinou šíření infekce ve stádu. *cattletype* BHV1 gB Ab umožňuje detekci protilátek proti BHV1 v séru, plazmě a mléčných vzorcích skotu infikovaného BHV1 nebo vakcinovaných vakcínou obsahující glykoprotein B.

# Princip

*cattletype* BHV1 gB Ab je blokovací ELISA. Testovací destička je potažena inaktivovaným antigenem BHV1. Během inkubace vzorku se BHV1-specifické protilátky vážou na imobilizovaný antigen. Nevázaný materiál se odstraňuje promýváním.

Poté je přidána HRP-značená gB-specifická monoklonální protilátka, která se nemůže vázat na antigen BHV1, zatímco jeho antigenní determinant byl dříve obsazen protilátkami v testovaném vzorku. Nenavázaný konjugát anti-gB-HRP se odstraní promytím. Barevná reakce se zahájí přidáním roztoku substrátu a zastaví se po 10 minutách. Optická hustota (OD) se měří spektrofotometrem. Blokovací hodnota (procento inhibice) se vypočítá z hodnot OD získaných ze zkušebního vzorku a negativní kontroly, která neobsahuje žádné protilátky specifické pro BHV1.

# Vybavení a reagencie zajištěné uživatelem

Při práci s chemikáliemi mějte vždy oblečený vhodný laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Více informací se dočtete v příslušných BL, které jsou k dispozici u dodavatele produktu.

* Kádinky
* Odměrné válce
* Pipety (nastavitelné)
* Multikanálové pipety (nastavitelné)
* Hliníková nebo lepicí fólie k přikrytí testovací destičky
* Volitelné: Zařízení pro aplikaci a nasátí promývacího pufru
* Čtečka absorbance mikrotitrační destičky
* Zkumavky nebo destičky pro ředění vzorků
* Destilovaná voda

# Důležitá upozornění

## Všeobecná opatření

Uživatel by měl vždy dbát následujících pokynů:

* Při provádění testu nevystavujte TMB substrátový roztok intenzivnímu světlu ani slunečnímu světlu.
* Nesmí dojít ke kontaminaci komponentů testovací soupravy ani k jejich smíchání s komponenty z jiných šarží.
* Komponenty testovací soupravy nepoužívejte, pokud již uplynulo datum spotřeby.
* Nedostatečně čistá voda ze systémů s iontovou výměnou použitá k ředění promývacího pufru (10x) může test narušit. Použijte dvojitě destilovanou vodu nebo vysoce purifikovanou vodu (např. Milli- Q).
* Aby byly výsledky testu přesné, je nezbytné při provádění testu použít čisté nádobí a při pipetování a výplachu postupovat opatrně a striktně dodržovat inkubační doby.

# Protokol: ELISA testovací procedura

## Důležité body před spuštěním

Prosím přečtěte si „Důležité poznámky“ na straně 8 před spuštěním.

## Co je třeba udělat před zahájením testu

* Bezprostředně před použitím vytemperujte reagencie na pokojovou teplotu (18–25 °C). V případě, že se v promývacím pufru (10x) vyskytnou precipitované krystaly soli, rozpusťte je jemným vířením a zahříváním.
* Nařeďte promývací pufr (10x) 1:10 v destilované vodě. Například pro jednu testovací destičku nařeďte 50 ml promývacího pufru (10x) ve 450 ml destilované vody a promíchejte.
* Lze použít čerstvé, chlazené nebo předtím zmrazené sérum nebo vzorky plazmy.

## Příprava vzorků mléka

Před analýzou vzorků je nutné vzorky mléka zbavit tuku. Vzorky plnotučného mléka odstřeďujte 10 minut při 3000 x g a 10 °C nebo vzorky uchovejte přes noc v chladnu při teplotě 2-8 °C. Poté odstraňte tuk.

Poznámka: Po přípravě vzorků s použitím vhodného protokolu se mohou testovat vzorky mléka pomocí soupravy cattletype BHV1 gB Ab. Test je validován pro testování skupin až do 50 vzorků mléka po přípravě vzorku mléka pomocí soupravy cattletype Milk Prep Kit.

## Testování v případě séra a vzorků plazmy

Přečtěte si „Co je třeba udělat před zahájením testu“, strana 9.

Postup

1. Napipetujte 50 μl připraveného ředícího roztoku vzorku do jamek testovací destičky.
2. Napipetujte 50 μl negativní kontroly (duplikátně) a pozitivní kontroly (duplikátně) do příslušných jamek a zamíchejte.
3. Napipetujte 50 μl vzorků do zbývajících jamek a zamíchejte.

Upozornění: Zaznamenejte pozice kontrol a vzorků do testového protokolu. Zamíchejte buďto na destičkové třepačce nebo opakovaným nasátím a vypuštěním tekutiny. Testovací destičku přikryjte.

1. Inkubujte 2 hodiny při 37 °C nebo přes noc (12-18 h) při pokojové teplotě (18-25 °C).
2. Odstraňte roztok z jamek odsátím a vyklepáním.
3. Každou jamku promyjte 5x 300 μl připraveného promývacího pufru. Po každém promytí odstraňte pufr odsátím a vyklepáním.
4. Do každé jamky napipetujte 100 μl připraveného konjugátu a inkubujte 30 minut při pokojové teplotě (18–25 °C).
5. Odstraňte roztok z jamek nasátím a vyklepáním.
6. Každou jamku promyjte 5x 300 μl připraveného promývacího pufru. Po každém promytí odstraňte pufr odsátím a vyklepáním.
7. Do každé jamky napipetujte 100 μl TMB substrátového roztoku.
8. Inkubujte v temnu 10 min při pokojové teplotě. Po naplnění první jamky spusťte časování.
9. Zastavte reakci přidáním 100 μl zastavovacího roztoku na každou jamku. Přidejte zastavovací roztok ve stejném pořadí, jako jste přidávali substrátový roztok.
10. Změřte OD ve čtečce destiček při 450 nm do 20 min po zastavení reakce.

Měření při referenční vlnové délce (620–650 nm) je volitelné.

## Testování v případě vzorků mléka

Přečtěte si „Co je třeba udělat před zahájením testu“, strana 9.

Postup

1. Napipetujte 100 μl negativní kontroly (duplikátně) a pozitivní kontroly (duplikátně) do příslušných jamek.
2. Napipetujte 100 μl odtučněného mléka do zbývajících jamek.

Upozornění: Zaznamenejte pozice kontrol a vzorků do testového protokolu. Testovací destičku přikryjte.

1. Inkubujte přes noc (12 –18 h) při pokojové teplotě (18– 25 °C).
2. Odstraňte roztok z jamek odsátím a vyklepáním.
3. Každou jamku promyjte 5x 300 μl připraveného promývacího pufru. Po každém promytí odstraňte pufr vysátím a vyklepáním.
4. Do každé jamky napipetujte 100 μl připraveného konjugátu a inkubujte 60 minut při pokojové teplotě (18–25 °C).
5. Odstraňte roztok z jamek odsátím a vyklepáním.
6. Každou jamku promyjte 5x 300 μl připraveného promývacího pufru. Po každém promytí odstraňte pufr odsátím a vyklepáním.
7. Do každé jamky napipetujte 100 μl TMB substrátového roztoku.
8. Inkubujte v temnu 10 min při pokojové teplotě. Po naplnění první jamky spusťte časování.
9. Zastavte reakci přidáním 100 μl zastavovacího roztoku na každou jamku. Přidejte zastavovací roztok ve stejném pořadí, jako jste přidávali substrátový roztok.
10. Změřte OD ve čtečce destiček při 450 nm do 20 min po zastavení reakce. Měření při referenční vlnové délce (620–650 nm) je volitelné.

# Interpretace dat

## Validační kritéria

Výsledky jsou platné, pokud jsou splněna následující kritéria:

* Střední hodnota (MV) naměřených hodnot OD pro negativní kontrolní sérum musí být ≥ 0,60.
* Blokovací hodnota vypočítaná ze střední hodnoty MV naměřené hodnoty OD pro pozitivní kontrolu (PC) musí být ≥ 75 %.

Jsou-li validační kritéria neplatná, je nutné test po důkladném přečtení návodu na použití zopakovat.

## Výpočet

Vypočítejte střední hodnoty (MV) naměřené OD pro negativní kontrolní sérum (NC) a pozitivní kontrolní sérum (PC).

Blokovací hodnota se vypočítá podle následující rovnice:

% blocking =

MV ODNC – ODsample

x 100

MV ODNC

# Interpretace výsledků

* Vzorky s blokovacími hodnotami <45 % jsou negativní.

Specifické protilátky proti BHV1 nebyly detekovány.

* Vzorky s blokovacími hodnotami ≥45 % a <55 % jsou hraniční. Doporučujeme zvířata s hraničními výsledky otestovat znova.
* Vzorky s blokovacími hodnotami ≥55 % jsou pozitivní.

Specifické protilátky proti BHV1 byly detekovány

INDICAL nabízí řadu souprav ELISA a real-time PCR a real-time RT-PCR souprav pro detekci živočišných patogenů. Navštivte www.indical.com, kde naleznete další informace o produktech baktotyp, cador, cattletype, flocktype, pigtype a virotype.

Aktualizované informace o licencích a odmítnutí odpovědnosti za konkrétní produkt naleznete v příslušné příručce k soupravě INDICAL nebo uživatelské příručce

#  Index změn

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Příručka | Verze | Změna |
| HB-1588-006 | Září 2020 | INDICAL design |

# Rychlý průvodce pro cattletype BHV1 gB Ab

Ředění vzorku:

Sérum, plazma 1:2, dobře promíchejte Neředěné mléko

Krok Krátký postup Postup při inkubaci přes noc\*

1. Vzorek

100 µl/ jamka

2. Inkubace Sérum: 2 h 37°C Přes noc (12-18h) při pok. teplotě

3. Promytí

5 x 300 µl

4. Konjugát 100 µl/ jamka

5. Inkubace

 60 min při pok. teplotě

6. Promytí 5 x 300 µl

7. TMB

 100 µl/ jamka

8. Inkubace 10 min při pok. teplotě

9. Stop

 100 µl/ jamka

10. Čtení 450 nm

 \* Při použití **vzorků mléka musí** být inkubace prováděna přes noc.

|  |  |
| --- | --- |
| Interpretace dat |  |
| Negativní | Hraniční | Pozitivní |
| < 45% | ≥ 45% a < 55% | ≥ 55% |

Objednávky: [www.indical.com/contact](http://www.indical.com/contact) Technická podpora: support@indical.com

Web: [www.indical.com](http://www.indical.com/)