**Obecné informace**

Tato diagnostická souprava je určena k detekci specifických protilátek proti viru afrického moru prasat (ASFV) pomocí kompetitivních metody ELISA. Tato metoda je vhodná pro vzorky séra nebo plazmy prasat, divokých prasat a všech vnímavých druhů.

**Popis a princip**

Mikrodestičky jsou potaženy přečištěným rekombinantním proteinem p32 viru ASFV. Testované vzorky a kontroly se přidají do jamek mikrotitrační destičky typu ELISA. Pokud jsou ve vzorku přítomny protilátky proti viru ASFV, vytvoří komplex protilátka-antigen.

V dalším kroku se do jamek mikrodestičky ELISA přidává konjugát označený křenovou peroxidázou (HRP), který se váže na komplex protilátka-antigen za vzniku konjugovaného komplexu protilátka-antigen-konjugát-HRP.

Po odstranění přebytečného konjugátu promytím se přidá roztok substrátu (TMB).

Po vymytí přebytečného konjugátu se přidá roztok substrátu (TMB). Výsledné zbarvení jamek je přímo úměrné množství specifických protilátek přítomných ve vzorku:

* V přítomnosti protilátek se objeví modré zbarvení, které se po přidání stop roztoku změní na žluté.
* V nepřítomnosti protilátek se neobjeví žádné zbarvení.

Mikrotitrační destička se odečítá při vlnové délce 450 nm.

**Poznámka**: Tato souprava neobsahuje infekční materiál.**Součásti soupravy**

|  |
| --- |
| **Reagencie**\* |
| Mikrodestičky potažené přečištěným rekombinantním proteinem p32 viru ASFV |
| Koncentrovaný konjugát (10x) |
| Pozitivní kontrola |
| Negativní kontrola |
| Ředící pufr 19 |
| Ředící pufr 12 |
| Promývací koncentrát (20x) |
| Roztok substrátu |
| Stop roztok (0,5 M) |

\* *Dodávané množství je uvedeno na štítku soupravy.*

1. Roztok konjugátu, kontroly a roztok substrátu musí být skladovány při teplotě 5 °C (± 3 °C).

2. Ostatní činidla lze skladovat při teplotě +2 °C

 až +26 °C.

3. Podrobné informace o podmínkách skladování otevřených a/nebo neotevřených součástí soupravy naleznete na:

 https://www.id- vet.com/fr/support/faq.

4. Promývací a stop roztoky lze použít pro celou řadu výrobků ID.Vet. Roztoky substrátu a ředící pufry se stejnými čísly šarží jsou zaměnitelné.

**Požadované materiály, které nejsou součástí balení**

1. Jedno nebo vícekanálové pipety

pro dávkování 10 μl, 50 μl, 100 μl a 500 μl.

1. Jednorázové špičky.
2. 96 jamková mikrotitrační destička s předem naředěnými jamkami.
3. Destilovaná nebo deionizovaná voda.
4. Manuální nebo automatický promývací systém.
5. Čtečka 96 jamkových mikrodestiček.

**Bezpečnostní opatření**

1. Nepipetujte ústy.

2. Roztoky obsahují složky, které mohou být škodlivé pro pokožku i oči a při kontaktu mohou způsobit podráždění. Pracujte tak, aby nedocházelo ke kontaktu s pokožkou a očima. Používejte ochranný laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Stop roztok (0,5 M) může být při požití škodlivý.

3. Nevystavujte roztok substrátu přímému světlu ani oxidačním činidlům.

4. Veškerý odpad by měl být před likvidací řádně dekontaminován. Odpad likvidujte podle místních právních předpisů. Podrobnější informace naleznete v bezpečnostním listu, který je k dispozici na vyžádání nebo na adrese: info@innovativediagnostics.com.

5. Uchovávejte mimo dohled a dosah dětí.

**Příprava vzorku**

Abyste předešli rozdílným inkubačním dobám u jednotlivých vzorků, připravte si 96 jamkovou destičku s testovanými a kontrolními vzorky. Poté přeneste testované vzorky a kontrolní roztoky do mikrotitrační destičky ELISA s využitím vícekanálové pipety.

**Příprava promývacího roztoku**

Pokud je to nutné, nechejte promývací koncentrovaný roztok (20x) po vyjmutí z chladničky pozvolna ohřát na pokojovou teplotu a důkladně promíchejte, aby se zajistilo, že promývací koncentrát je zcela homogenní. Připravte si pracovní promývací roztok (1x) zředěním koncentrovaného promývacího roztoku (20x) v destilované nebo deionizované vodě v poměru 1:20.

Kvalita promývacího roztoku může ovlivnit výsledky. Dbejte na to, aby byly jamky mezi promývacími kroky zcela prázdné. Pokud používáte automatickou promývací stanici, zkontrolujte si správné nastavení funkčních parametrů promývací stanice (režim, typ aspirace, výška aspirace). Další informace naleznete v příručce "IDvet Washing Guide", která je k dispozici na vyžádání.

**Postup testování**

Pokud je to nutné, nechejte všechna činidla po vyjmutí z chladničky ohřát na pokojovou teplotu (21 °C ± 5 °C). Všechna činidla důkladně promíchejte pomalým převracením nebo kroužením.

1. Do mikrodestičky ELISA přidejte:

- 50 μl ředícího pufru 19 do každé jamky.

- 50 μl pozitivní kontroly do jamek A1 a B1.

- 50 μl negativní kontroly do jamek C1 a D1.

- 50 μl testovaného vzorku do zbývajících jamek.

2. Pečlivě utěsněte destičku a inkubujte 45 minut ± 4 minuty při teplotě 37 °C (± 3 °C).

3. Vyprázdněte jamky. Každou jamku třikrát promyjte nejméně 300 μl promývacího roztoku. Dbejte na to, aby se jamky mezi promývacími kroky nevysušily.

4. Připravte si pracovní roztok konjugátu (1x) naředěním koncentrovaného roztoku konjugátu (10x) v poměru 1:10 v ředícím pufru 12.

5. Do každé jamky přidejte 100 μl naředěného roztoku konjugátu (1x).

6. Pečlivě utěsněte destičku a inkubujte 30 minut ± 3 minuty při teplotě 37 °C. (± 3 °C).

7. Vyprázdněte jamky. Každou jamku třikrát promyjte nejméně 300 μl promývacího roztoku. Dbejte na to, aby se jamky mezi promývacími kroky nevysušily.

8. Do každé jamky přidejte 100 μl roztoku substrátu.

9. Pečlivě utěsněte destičku a inkubujte 15 minut ± 2 minuty při 21 teplotě °C (± 5 °C) v temnu.

10. Do každé jamky přidejte 100 μl stop roztoku ve stejném pořadí jako v kroku č. 8, aby se zastavila reakce.

11. Odečtěte a zaznamenejte hodnotu OD při 450 nm.

**Kontrola:**

Test je platný, pokud:



Střední hodnota OD negativní kontroly (ODNC) je vyšší než 0,7.

Poměr středních hodnot OD pozitivní kontroly (ODPC) a negativní kontroly (ODNC) je nižší než 0,3.



**Vyhodnocení:**

Innovative Diagnostics, 310, rue Louis Pasteur – Grabels – FRANCIE

www.innovative-diagnostics.com

E-mail: info@innovative-diagnostics.com

Tel:+ 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: + 33 (0)4 67 45 36 95

Pro každý vzorek vypočítejte hodnotu S/N (S/N%) podle následujícího vzorce:

Vzorky vykazující S/N%:

- nižší nebo rovné 40 % se považují za **pozitivní**.

- mezi 40 % a 50 % jsou považovány za **sporné**.

- vyšší nebo rovné 50 % se považují za **negativní**.

|  |  |
| --- | --- |
| **Výsledek** | **Hodnocení** |
| **S/P ≤ 40 %** | **POZITIVNÍ** |
| **40% < S/P < 50 %** | **HRANIČNÍ** |
| **S/P ≥ 50 %** | **NEGATIVNÍ** |

**Poznámka**:

K dispozici je program pro analýzu dat IDSoftzdarma. Pro více informací se obraťte na email oddělení technické podpory: support.software@innovative-diagnostics.com

Tento program vypočítává mnoho parametrů (kritéria platnosti, hodnoty S/P, titry nebo věk), dále nabízí grafické znázornění a sérologické profily testovaných zvířat.



**ID Screen**

**Detekce afrického moru prasat**



**Kompetitivní ELISA pro detekci protilátek proti viru**

**Afrického moru prasat (ASFV) ve vzorcích séra**

**nebo plazmy u prasat, divokých prasat**

**a ostatních vnímavých druhů zvířat.**

Pouze pro použití *in vitro*

Veterinární přípravek. Pouze pro zvířata.

**192 testů, 480 testů**