ID Screen IBR Indirect



**Nepřímá ELISA pro detekci protilátek proti viru BHV-1 v séru nebo plazmě**

**Protokol s krátkou inkubací**

**nebo protokol s inkubací přes noc**

Pouze pro použití *in vitro*

Pouze pro veterinární použití

**192 testů, 480 testů, 960 testů**

**Veterinární přípravek. Pouze pro zvířata.**

Obecné informace

Tato diagnostická souprava je určena k detekci specifických protilátek proti viru BHV-1.

Lze ji použít se vzorky séra nebo plazmy skotu nebo buvolů.

Popis a princip

Mikrodestičky jsou potaženy přečištěným antigenem viru BHV-1.

Do jamek se přidají testované vzorky a kontroly. Pokud jsou ve vzorku přítomny protilátky anti-BHV-1, vytvoří komplex antigen-protilátka.

Po promytí se do jamek přidá konjugát označený křenovou peroxidázou (HRP). Ten se naváže na komplex antigen-protilátka a vytvoří konjugovaný komplex antigen-protilátka-HRP.

Po vymytí přebytečného konjugátu se přidá roztok substrátu (TMB).

Výsledné zbarvení jamek závisí na množství specifických protilátek přítomných v testovaném 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.

Součásti soupravy

|  |
| --- |
| **Reagencie\*** |
| Mikrodestičky potažené přečištěným antigenem viru BHV-1 |
| Konjugát připravený k použití |
| Pozitivní kontrola |
| Negativní kontrola |
| Ředící pufr 2 |
| Promývací koncentrát (20x) |
| Roztok substrátu (TMB) |
| Stop roztok (0,5 M) |

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

1. Konjugát, 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, 100 μl a 500 μl.
2. Jednorázové špičky.
3. 96 jamková mikrotitrační destička s předem naředěnými jamkami.
4. Destilovaná nebo deionizovaná voda.
5. Manuální nebo automatický promývací systém.
6. Čtečka 96 jamkových mikrodestiček.

Bezpečnostní opatření

1. Nepipetujte ústy.

2. Obsahuje 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 promíchejte pomalým převrácením nebo kroužením.

**Protokol s krátkou inkubací (vzorky ředěné 1:10)**

1. Do mikrodestičky ELISA přidejte:

- 90 µl ředícího pufru 2 do každé jamky.

- 10 µl negativní kontroly do jamek A1 a B1.

- 10 µl pozitivní kontroly do jamek C1 a D1.

- 10 µl testovaného vzorku do zbývajících jamek.

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

**Protokol s inkubací přes noc (vzorky zředěné v poměru 1:20)**

1. Do mikrodestičky ELISA přidejte:

- 190 µl ředícího pufru 2 do každé jamky.

- 10 µl negativní kontroly do jamek A1 a B1.

- 10 µl pozitivní kontroly do jamek C1 a D1.

- 10 µl testovaného vzorku do zbývajících jamek.

1. Pečlivě utěsněte destičku a inkubujte 16-20 hodin

(přes noc) při teplotě 5 °C (± 3 °C).

**Pokračující pracovní protokol**

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

4. Do každé jamky přidejte 100 µl konjugátu připraveného k použití.

5. Pečlivě utěsněte destičku a inkubujte 30 minut ± 3 minuty při 37 °C (± 3 °C) (při *použití protokolu krátké inkubace)* nebo při 21 °C (± 5 °C) (při *použití protokolu inkubace přes noc).*

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

 7. Do každé jamky přidejte 100 µl roztoku substrátu.

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

9. Do každé jamky přidejte 100 µl stop roztoku ve stejném pořadí jako v kroku č. 7, abyste zastavili reakci.

10. Odečtěte a zaznamenejte hodnotu OD při 450 nm.

Kontrola:

Test je platný, pokud:

✓ střední hodnota pozitivní kontroly OD (ODPC) je vyšší než 0,350.



✓ poměr středních hodnot OD pozitivní a negativní kontroly (ODPC a ODNC) je větší než 3.



Vyhodnocení:

Pro každý vzorek vypočítejte hodnotu S/P podle následujícího vzorce:



Hodnocení výsledků se provádí podle níže uvedené tabulky:

|  |  |
| --- | --- |
| Výsledek | Stav |
| S/P ≤ 50 % | NEGATIVNÍ |
| 50% < S/P < 60% | HRANIČNÍ |
| S/P ≥ 60 % | POZITIVNÍ |

*Poznámka: Program pro analýzu dat IDSoft je k dispozici zdarma. Pro více informací se prosím obraťte na support.software@innovative-diagnostics.com.*

Tento softwarový program vypočítává širokou škálu parametrů (kritéria platnosti testu, hodnoty S/P nebo S/N, titry protilátek) a nabízí grafické znázornění sérologických profilů testovaných zvířat.

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