

INTRUCTIUNI UTILIZARE

ID Screen® BLV Competition

Informatii generale

Acest kit de diagnostic este conceput pentru a detecta anticorpi anti-gP51 în seruri de bovine sau de bivoli (individuale și pool-uri de 10 probe)

Descriere și principiu

Godeurile sunt captusite cu antigen gP51. Eșantioanele care urmează să fie testate și serurile de control sunt adăugate în godeuri. Anticorpii anti-gP51, dacă sunt prezenți, formează un complex anticorp-antigen care maschează epitopii gP51. Conjugatul anti-gP51-Peroxidază (HRP) este adăugat la microunde. Se fixează la epitopii liberi rămași gP51, formând un complex antigen-conjugat-HRP. După spălare pentru a elimina excesul de conjugat, se adaugă soluția de substrat (TMB). Culoarea rezultată depinde de cantitatea de anticorpi specifici prezenți în proba testată:

- în absența anticorpilor, apare o soluție albastră care devine galbenă după adăugarea soluției stop.
- în prezența anticorpilor, nu apare nicio colorare. Microplaca este citită la 450nm.

Componenta kitului

Reactivi *

Microplăci acoperite cu LEB

Coniugat concentrat (10x)

Control pozitiv

Control negativ

Tampon de diluare 2

Concentrat de spălare (20X)

Soluție substrat

Soluție stop (0,5 M)

1. Coniugat, serurile de control și soluția de substrat trebuie depozitate la 5 ° C ($\pm$ 3 ° C).
2. Ceilalți reactivi pot fi depozitați între + 2 ° C și + 26 ° C.
3. Componentele cu același nume (soluție de spălare, tampon de diluare) pot fi utilizate pentru întreaga gamă de produse IDvet.

Precautii

1. Nu pipetați cu gura.
2. Soluția de substrat poate fi iritantă pentru piele.

3. Soluția stop (0,5 M) poate fi dăunătoare dacă este înghițită. Poate provoca sensibilizare prin contactul cu pielea (R22-43). Evitați contactul cu pielea (S24-37).
4. Nu expuneți soluția de substrat la lumină puternică și nici la agenți de oxidare.
5. Decontaminați toți reactivii înainte de eliminare.

Pregătirea probelor

Pentru a evita diferențele de timp de incubare între probe, este posibilă pregătirea unei plăci cu 96 de godeuri care conține probe de testare și seruri control, înainte de a le transfera într-o microplacă ELISA folosind o pipetă multicanal.

Pregătirea soluției de spălare

Dacă este necesar, aduceți concentratul de spălare (20X) la temperatura camerei ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) și amestecați bine pentru a vă asigura că concentratul de spălare este complet solubilizat. Pregătiți soluția de spălare (1X) prin diluarea concentratului de spălare (20X) în apă distilată / deionizată.

Procedura de testare

Lăsați toți reactivii să ajungă la temperatura camerei ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) înainte de utilizare. Omogenizați toți reactivii prin inversare sau Vortex.

INCUBATIE SCURTA (seruri individuale si grupate)

1. Adăugați:
 - 80 µl tampon de diluare 2 la fiecare godeu.
 - 20 µl de control pozitiv la godeurile A1 și B1.
 - 20 µl de control negativ la godeurile C1 și D1.
 - 20 µl din fiecare probă care urmează să fie testată la godeuri rămase.

2. Incubați $45 \text{ min} \pm 4 \text{ min}$ la $21^{\circ}\text{C} (\pm 5^{\circ}\text{C})$

INCUBATIE NOAPTE (seruri individuale si grupate)

1. Adăugați:
 - 190 µl tampon de diluare 2 la fiecare godeu.
 - 10 µl de control pozitiv la godeurile A1 și B1.
 - 10 µl de control negativ la godeurile C1 și D1.
 - 10 µl din fiecare probă care urmează să fie testată în godeurile rămase.
2. Se incubează timp de 16 până la 20 de ore la $4^{\circ}\text{C} (\pm 2^{\circ}\text{C})$.

Următorii pași sunt aceiași pentru incubare scurta și incubare peste noapte
--

3. Pregătiți **conjugatul 1X** diluând **conjugatul concentrat (10X)** la 1/10 în tamponul de diluare 2.
4. Se spală fiecare godeu de **3 ori** cu aproximativ 300 µl din **soluția de spălare**. Evitați uscarea godeurilor între spălări.
5. Adăugați 100µl de **conjugat 1X** în fiecare godeu.
6. Incubați timp de 30 min ± 3 min la 21 ° C (± 5 ° C)
7. Se spală fiecare godeu de **3 * ori** cu aproximativ 300 µl de soluție de spălare. Evitați uscarea godeurilor între spălări.
8. Adăugați 100 µl din soluția de substrat la fiecare godeu.
9. Incubați 15 min ± 2 min la 21 ° C (± 5 ° C) în întuneric.
10. Adăugați 100 µl de soluție Stop la fiecare godeu din pentru a opri reacția.
11. Citiți și înregistrați DO la 450 nm.

* Rezultatele pot fi influențate de calitatea spălării. Pentru a îmbunătăți rezultatele, recomandăm 5 spălări în loc de 3 după incubarea conjugată.

Validarea

Testul este validat dacă:

- valoarea medie a controlului negativ DO (DOnc) este mai mare de 0,7.

DOnc > 0.7

- valoarea medie a controlului pozitiv (DOpc) este mai mică de 30% din DOnc.

DOpc/DOnc < 3

Interpretare

Pentru fiecare eșantion, calculați procentajul de competiție (S / N%).

$$SN \% = \frac{\text{Proba DO}}{\text{DOnc}} \times 100$$

Probele care prezintă un S / N% (incubație scurtă și peste noapte, seruri individuale și pool-uri):

Rezultat	Statut
S/N % ≤ 50%	POZITIV
50 < S/N % < 60%	ÎNDOIELNIC
S/N % ≥ 60%	NEGATIV