

Общая информация

Тест-система предназначена для выявления антител к белку VP7 вируса Блутанга в сыворотке или плазме крови КРС, коз, овец и оленей.

Описание и принцип действия

Лунки микропланшета сенсibilизированы очищенным антигеном VP7.

При внесении в лунки микропланшета исследуемых образцов антитела, специфические к вирусу Блутанга, связываются на твердой фазе, образуя комплексы антиген-антитело. Образованные комплексы выявляют с помощью специфического иммуноферментного конъюгата, меченного пероксидазой, который связывается со свободными эпитопами антигена VP7. После отмывания несвязанных компонентов в лунки добавляют субстратный раствор – хромоген (ТМВ). Пероксидазную реакцию останавливают, добавляя стоп-реагент.

Окрашивание раствора в лунках свидетельствует об отсутствии или наличии в исследуемых образцах антител против вируса Блутанга:

- При отсутствии антител раствор имеет синий цвет, который становится желтым после добавления стоп-реагента;
- При наличии антител раствор не окрашивается.

Оптическую плотность раствора измеряют при длине волны 450 нм.

Перечень компонентов

Реагенты*
Микропланшет с адсорбированным в лунках антигеном VP7
Концентрат конъюгата Анти-vp7-HRP меченный пероксидазой (10 x)
Положительный контроль
Отрицательный контроль
Буферный раствор 2 для разведения
Концентрат промывочного раствора (20 x)
Субстратный раствор
Стоп реагент (0,5 М)

* Поставляемые количества компонентов обозначены на этикетке комплекта.

1. Конъюгат, контрольные сыворотки и субстратный раствор хранят при температуре +5°C (± 3°C).
2. Другие реактивы хранят в диапазоне температуре от +2°C до +26°C.
3. Промывочный, субстратный растворы и стоп-реагент могут быть использованы для всего диапазона продукции IDvet. Буферные растворы с совпадающими номерами серий также являются взаимозаменяемыми.

Дополнительные материалы и оборудование

1. Пипетки одноканальные и 8-канальные, откалиброванные к объемам 10 µl, 100 µl и 200 µl.
2. Одноразовые наконечники к пипеткам.
3. Фотометр для 96-луночного микропланшета.
4. Дистиллированная и деионизированная вода.
5. Ручная или автоматическая промывочная установка.

Меры предосторожности

1. Не пипетировать растворы ртом.
2. Субстратный раствор может вызвать раздражение кожи в случае контакта.
3. Стоп-реагент (0,5 М) может быть опасным при глотании. Избегать контакта с кожей (**S24-37**). При контакте с кожей возможна чувствительность (**R22-43**).
4. Не оставлять растворы и реагенты под действием прямого солнечного света и не допускать их окисления.
5. По окончании анализа необходимо выполнить нейтрализацию всех отходов реагентов.

Подготовка образцов

Во избежание разницы во времени инкубации образцов, рекомендуется предварительно внести все образцы и контроли в отдельный 96-луночный микропланшет, затем внести многоканальным дозатором в рабочий микропланшет.

Подготовка промывочного раствора

Концентрат промывочного раствора (20X) должен иметь комнатную температуру (в диапазоне 21°C ± 5°C) перед его разведением. При наличии кристаллов необходимо тщательно перемешать.

Для приготовления промывочного раствора (1X) необходимо развести концентрат промывочного раствора (20X) в соотношении 1:20 в дистиллированной/деионизированной воде.

Качество промывки может существенно влиять на результаты анализа. Убедитесь, что в лунках не остается капель раствора между промывками. При использовании автоматической промывочной установки, крайне важно правильно выбрать параметры: режим, тип аспирации, высота аспирации. Для получения дополнительной информации, пожалуйста, обратитесь к документу "IDvet Washing Guide", доступный по запросу по электронному адресу info@id-vet.com

Процедура анализа

Все реагенты набора перед использованием должны иметь комнатную температуру (21°C ± 5°C) и однородность (встряхнуть флакон перед применением).

1. Внести:
 - 50 мкл **Буферного раствора 2** в каждую лунку.
 - 50 мкл **Положительного контроля** в лунки A1 и B1.
 - 50 мкл **Отрицательного контроля** в лунки C1 и D1.
 - 50 мкл каждой исследуемой пробы в ставшиеся лунки.
2. Закрыть микропланшет и инкубировать 45 минут ± 4 минуты при температуре 21°C (± 5°C).
3. Приготовить **Конъюгат анти-VP7 1X** разведением конъюгата Anti-VP7-HRP Conjugate 10X в соотношении 1:10 в **Буферном растворе 2**.

ИЗ ЛУНОК МИКРОПЛАНШЕТА НЕ АСПИРИРОВАТЬ РАСТВОР И НЕ ПРОМЫВАТЬ

4. Внести по 100 мкл **Конъюгата анти-VP7 1X** в каждую лунку.
5. Закрыть микропланшет и инкубировать 30 минут ± 3 минуты при температуре 21°C (± 5°C).
6. Промыть микропланшет 3 раза **Промывочным раствором**, внося 300 мкл в каждую лунку. Избегать высыхания лунок между этапами промывки.
7. Внести по 100 мкл **Субстратного раствора** в каждую лунку.
8. Инкубировать **15 минут ± 2 минуты** при температуре 21°C (± 5°C) в темном месте.
9. Внести по 100 мкл **Стоп-реагента** в каждую лунку для остановки реакции.
10. Измерить оптическую плотность (ОП) при 450 нм.

Валидация

Результаты теста считаются достоверными, если:

- ✓ среднее значение оптической плотности Отрицательного контроля (ОПк-) больше **0,70**

$$ОП_{к-} > 0,70$$

- ✓ отношение средних значений оптической плотности Положительного контроля (ОПк+) и Отрицательного контроля (ОПк-) меньше 0,3.

$$ОП_{к+} / ОП_{к-} < 0,3$$

Интерпретация результатов

Для каждого образца рассчитывается значение **S/N** (S/N%):

$$S/N \% = (ОП_{образца} / ОП_{к-}) \times 100\%$$

Значение S/N	Интерпретация
S/N % < 40%	положительный
S/N % ≥ 40%	отрицательный

ПРИМЕЧАНИЕ: Программное обеспечение для обработки данных ID Soft™ доступно для свободного скачивания на нашем веб-сайте :

<http://www.id-vet.com/support/software/>

Это программное обеспечение позволяет рассчитать различные параметры анализа (критерии валидации, значения S / P, титры, возраст вакцинации, группы) и позволяет получить графическое представление серологических профилей испытуемых животных.

ID Screen® Bluetongue Competition



Тест-система для выявления антител к белку VP7 вируса блютанга у КРС и МРС конкурентным иммуноферментным методом

Для применения *in vitro*

BTC версия 0414 RU

006722