

INSTRUCTIUNE UTILIZARE

INGEZIM BLV CONFIRMATION

I. Fundamentul tehnic

Acest kit se bazează pe un test imunoenzimatic indirect (ELISA indirect). Tehnica este descrisă pe scurt mai jos:

Fixăm antigeni pozitivi și negativi pe diferite plăci. Când o probă de ser conține anticorpi specifici împotriva virusului, aceștia se vor lega de antigenul viral adsorbit pe placă. După o etapă de spălare pentru a elimina tot materialul nefixat din proba de ser, prezența imunoglobulinelor bovine poate fi detectată folosind o peroxidază conjugată specifică. După adăugarea substratului va apărea o reacție colorimetrică care poate fi măsurată de un cititor ELISA. Astfel, diferența dintre DO obținută cu antigenul pozitiv și negativ va determina prezența sau absența anticorpilor specifici împotriva virusului în serul bovin. Scopul acestui kit este de a oferi utilizatorilor o tehnică de diagnostic rapidă și de încredere pentru această boală.

II. PRECAUȚII ȘI AVERTISMENTE PENTRU UTILIZATORI:

1. Citiți cu atenție instrucțiunile de utilizare.
2. Aduceți toți reactivii la temperatura camerei (20 ° -25 ° C) înainte de utilizare.
3. Nu amestecați reactivi și nu folosiți instrucțiuni din diferite truse.
4. Evitați orice contaminare a reactivilor kitului.
5. Nu utilizați componente după date de expirare și nu amestecați componente din loturi diferite.
6. Nu trebuie să mâncați, să beți sau să fumați în timpul manipulării reactivilor sau probelor.
7. Nu pipetați cu gura.
8. Folosiți un varf nou pentru fiecare probă de ser.
9. Includeți în mod sistematic un ser pozitiv și un ser negativ de fiecare dată când se efectuează testul.
10. Substratul trebuie manipulat cu grijă, deoarece este foarte sensibil la lumină și contaminare.
11. Soluția stop este o soluție acidă puternică și, prin urmare trebuie manipulat cu grijă. În caz de accident în contact cu pielea, se spală ușor cu apă.

III. CONDITII DE DEPOZITARE

Toți reactivii și plăcile trebuie păstrate între + 2 ° C și + 8 ° C

IV. INFORMAȚII PRIVIND PROCEDURA DE SPĂLARE

Etaple de spălare se pot face folosind o mașină de spălat automată sau un dispozitiv de pipetare multicanal adecvat pentru distribuirea a 300 μl pe fiecare godeu. După perioada de incubare, etapele de spălare trebuie făcute urmând instrucțiunile următoare:

- Aruncați conținutul plăcii printr-o răsucire bruscă a plăcii pentru a evita amestecul posibil al conținutului dintr-un godeu în altul.
- Distribuți un volum de 300 μl de soluție de spălare pe fiecare godeu.

- Agitați delicat placa, evitând contaminarea dintre godeuri.
- Întoarceți placa brusc pentru a goli godeurile.
- Repetați procesul de câte ori este indicat în instrucțiunile kitului.
- Înainte de a goli conținutul ultimei etape de spălare, verificați dacă următorul reactiv care trebuie adăugat pe placă este gata de utilizare. Nu mențineți placa uscată mai mult timp decât este strict necesar.
- După ultima etapă de spălare agitați placa răsucită peste o hârtie de filtru absorbantă.

V. PREGĂTIREA PROBELOR:

Serul poate fi testat individual sau în pool-uri de până la 10 seruri. Diluați probele la 1/50 într-o placă fictivă (adică 5 µl de ser în 245 µl de diluant DE14-01 este suficient pentru a rula o probă într-un godeu cu antigen viral și într-un alt godeu cu antigen de control). Kitul a fost proiectat pentru 460 de probe odată ce au fost utilizate 4 godeuri pentru controale.

VI. PREGĂTIREA REACTIVILOR

- Soluția de spălare

Diluați o parte din soluția de spălare concentrată furnizată în kit cu 24 părți de apă distilată sau deionizată (40 ml soluție concentrată și 960 ml apă). Odată ce această soluție este gata, rămâne stabil între + 2 ° C și + 8 ° C timp de maxim 3 luni, atâta timp cât vor fi menținute condiții adecvate.

- Serul control (+) și (-)

Serurile sunt gata de utilizare. Nu diluați.

- Conjugatul:

Se diluează 1/100 în diluantul conjugat prevăzut în (110 µl de conjugat concentrat în 11 ml de diluant este suficient pentru unul).

VII. PROCEDURA DE TESTARE

1. Înainte de începerea testului, aduceți toți reactivii la temperatura camerei (22-25 ° C).
2. Adăugați 100 µl din probele de ser diluate așa cum s-a descris anterior pe antigenele pozitive și negative. **Sigilați bine placa și incubați timp de 30 de minute la 37 ° C.** Vă recomandăm să rulați serurile de control în dublu exemplar, folosind 2 godeuri pentru fiecare. Pentru a evita efectul de barieră detectat atunci când se utilizează un fel de incubatoare, este recomandabil să nu folosiți fișierele externe pentru a adăuga serurile).
3. Se spală de 3 ori urmând procedura descrisă anterior.
4. Adăugați 100 µl de conjugat la diluarea indicată, la fiecare godeu. Sigilați placa și incubați timp de 30 de minute la 37 ° C.
5. Se spală de 6 ori urmând procedura descrisă.

6. Adăugați 100 μ l din soluția de substrat. **Păstrați placa timp de 10 minute la temperatura camerei.** Începeți sincronizarea timpului după ce ați adăugat-o în primul godeu.
7. Adăugați 100 μ l din soluția de oprire, la fiecare godeu în aceeași ordine în care s-a adăugat substratul.
8. Citiți absorbția fiecărui godeu cu un spectrofotometru la 450 nm în următoarele 5 minute după adăugarea soluției stop.

VIII. CITIREA ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

Citirea trebuie făcută cu un spectrofotometru la 450 nm.

DO obținut cu antigenul negativ trebuie scăzut din DO obținut cu antigenul pozitiv (eșantion și martori).

A. Criterii de validare

Testul poate fi considerat valid atunci când:

Control pozitiv: $DO_{POS\ Ag} - DO_{NEG\ Ag} > 0,3$

Control negativ: $DO_{POS\ Ag} - DO_{NEG\ Ag} < 0,2$

B. Interpretarea rezultatelor

Eșantioane pozitive și negative

Probele trebuie considerate pozitive pentru anticorpi împotriva LEB atunci când:

$DO_{POS\ Ag} - DO_{NEG\ Ag} > 0,3$

Probele trebuie considerate negative pentru anticorpii împotriva LEB atunci când:

$DO_{POS\ Ag} - DO_{NEG\ Ag} < 0,25$

Mostre îndoielnice

Eșantioanele care prezintă valori cuprinse între 0,30 și 0,25 („Zona gri”) ar trebui considerate îndoielnice și reevaluate. Dacă rezultatul rămâne același, vă recomandăm să testați o nouă extracție obținută la 15 zile după prima. Pentru interpretarea rezultatelor, un fișier Microsoft Excel este disponibil pe web.