

BLUETONGUE VIRUS ANTIBODY TEST KIT, cELISA v2

Instrucțiuni de utilizare pentru numărul de catalog: 5010.20-2

Descriere generală

Această tehnică imunologică, competitivă (cELISA) detectează anticorpii virusului bolii limbii albastre în serum de rumegătoare. Probele de serum care conțin anticorpi ai virusului bluetongue inhibă legarea anticorpilor monoclonali specifici virusului bluetongue cuplați cu peroxidază (HRP) la antigenul viral care căptușește godeurile de plastic.

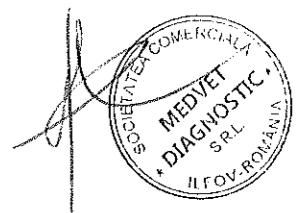
Legarea conjugatului, anticorpi monoclonali cuplați cu peroxidază este detectată prin adăugarea substratului enzimatic și cuantificată prin dezvoltarea culorii. O dezvoltare puternică a culorii indică faptul că legarea anticorpilor monoclonali cuplați cu peroxidază a fost puțin blocată sau deloc și totodată absența anticorpilor virusului bluetongue în probă de serum. O dezvoltare slabă a culorii datorată blocării legării anticorpilor monoclonali la antigen pe fază solidă indică prezența anticorpilor anti virusul bolii limbii albastre în probă de serum.

Kitul conține:

Componente	
A Plăci căptușite cu antigen	2 plăci
B Control pozitiv	4 ml
C Control negativ	4 ml
D Conjugat anticorp-peroxidază	16 ml
E Soluție substrat	30 ml
F Soluție de stopare	30 ml
Instrucțiuni de utilizare	

Materiale necesare dar nefurnizate în set

Micropipete mono și multicanal cu volume ajustabile și vârfuri din plastic, plăci de transfer necăptușite cu antigen, spectrofotometru pentru microplăci ELISA cu filtre de 620, 630 sau 650nm, apă distilată sau deionizată, prosoape de hârtie, cronometru, recipienți pentru pipete multicanal, vase pentru spălare, dispozitiv pentru spălarea manuală sau spălător automat de microplăci.





Depozitarea și stabilitatea

Păstrați toți reagenții la 2-7⁰ C. Nu congelați. Reagenții nedeschisi vor fi stabili până la data expirării dacă sunt păstrați conform instrucțiunilor. Nu utilizați setul după data expirării tiparită pe cutie.

Prepararea:

- a. **Încălziți reagenții:** aduceți probele de ser, reagenții și plăcile la temperatura camerei (23±2⁰ C) înainte de începerea testului.
- b. **Pregătiți controalele și probele:** Controlul pozitiv și negativ (B & C) și probele de testat trebuie să fie diluate 1/2 în Conjugat, anticorp cuplat cu peroxidază (D) pentru utilizarea în acest test. Aceste diluții trebuie să se facă într-o placă de transfer necăptușită cu antigen. Mai întâi, adăugați Conjugatul (D) în godeurile corespunzătoare ale plăcii de transfer, conform înregistrării de configurare. Adăugați în fiecare godeu un volum egal de Control pozitiv (B), Control negativ (C) sau de probă și mixați cu pipeta cel puțin de trei ori pentru a se amesteca. Schimbați vârfurile între probe. Volumul din placuța de transfer trebuie să fie mai mare de 50 µl pentru a transfera 50 µl din ea. Distribuiți controlul pozitiv (B) în dublu exemplar și controlul negativ (C) în trei exemplare, indiferent de numărul de probe care urmează să fie testate. Când se folosesc plăci întregi, este mai bine să punete controalele pe diferite zone ale plăcilor. Controalele trebuie să fie pipetate de fiecare dată când testul este efectuat și pe fiecare placă dacă se utilizează mai multe plăci.
- c. **Pregătiți placile:** Scoateți placile din folie (A). Dacă se poate: stripurile neutilizate se pot reintroduce în pungă și sigila. Puneți stripurile pe care le veți folosi în cadrul din plastic și numărul de sus al fiecărui rând să rămână orientat cum trebuie. Întotdeauna marcați rândurile în cazul în care vor cădea din cadru în timpul spălării.

Procedeul de testare:

1. **Pipetați controalele și probele de ser:** Folosind un pipetor setat la 50 µl, încărcați martorii diluați și probele de ser în placuța acoperită cu antigen (A). Probele și controalele trebuie încărcate cât mai repede posibil în placuța căptușită cu antigen (A). Schimbați vârfurile între rânduri sau coloane. Bateți de câteva ori în partea laterală a plăcii căptușite cu antigen (A) pentru a vă asigura că probele sunt pe fundul godeurilor. Utilizați cu grijă să nu vărsați probele dintr-un godeu în altul. Incubați placa timp de 30 de minute la temperatura camerei (23 ± 2 ° C).
2. **Spălarea godeurilor:** După incubarea de 30 de minute, spălați placa de 3 ori.
Dacă se utilizează un spălător automat, placa se aşază pe aparatul de spălare și se spală de 3 ori, umplându-se de fiecare dată cu apă distilată sau deionizată.
Dacă se utilizează spălarea manuală, aruncați conținutul și îndepărtați serurile și controalele rămase prin lovirea bruscă a plăcii inversate de 4 ori pe un prosop de hârtie curat, lovind o zonă curată de fiecare dată. Immediat umpleți fiecare godeu cu apă distilată sau deionizată utilizând un dispozitiv de umplere multi-canál sau o sticlă de spălare. Goliți soluția de spălare de pe placă și



loviți puternic placa inversată pe un prosop de hârtie curat, ca mai sus. Umpleți și goliți placa cu aceeași metodă de 2 ori suplimentar pentru un total de 3 spălări.

3. **Adăugați soluția substrat:** Se adaugă 50 μ l de soluție de substrat (E) în fiecare godeu. Bateți de mai multe ori partea laterală a plăcii pentru a vă asigura că substratul acoperă fundul godeurilor. Incubați 10 minute la temperatura camerei (23 ± 2 °C). Evitați lăsarea plăcii în lumina directă a soarelui. *Nu goliti godeurile.*
4. **Adăugați soluția de stopare:** se adaugă 50 μ l soluție de stopare (F) în fiecare godeu. Bateți de mai multe ori partea laterală a plăcii de testare încărcate pentru a amesteca soluția de substrat și soluția de stop. *Nu goliti godeurile.*
5. **Citiți și înregistrați rezultatele testului:** Imediat după adăugarea soluției de stopare, plăcuța trebuie citită pe un spectrofotometru de microplăci. Setați densitatea optică (OD) și citiți la lungimea de undă 620, 630 sau 650 nm. Unele citiri au nevoie de un godeu gol pentru blank. În acest caz, nu trebuie adăugați reactivi în acest godeu.
6. Returnați toți reactivii kitului rămasi la 2-8 °C pentru depozitare.

Calculul % inhibării (% I):

$$\% I = 100 [1 - (DO \text{ proba} \div DO \text{ CN})]$$

Validarea testului

- Media **controlului negativ (CN)** trebuie să producă o densitate optică > 0.300 și < 2.000 .
- Media **controlului pozitiv** trebuie să aibă o inhibare de $\geq 60\%$.

Interpretarea rezultatelor

- Dacă o probă de testat produce o inhibare $\geq 60\%$, este pozitivă.
- Dacă o probă de testat produce o inhibare $< 60\%$, este negativă.

Măsuri de precauție

Componentele setului trebuie manipulate și eliminate ca potențial periculoase. Nu mâncăți, nu beți sau nu fumați în cazul în care se folosesc probele de ser și reactivii din kit. Nu pipetați cu gura. Anumiți reactivi pot fi dăunători dacă sunt inghițiti. Dacă este inghițit, solicitați asistență medicală. Nu utilizați reactivi expirați sau contaminați sau reactivi din alte kituri sau serii. Nu amestecați reactivi din serii diferite ale aceluiași produs.

Componentul B, pozitiv, conține azidă de sodiu 0,09% ca și conservant.

Componenta C, control negativ, conține azidă de sodiu 0,09% ca și conservant.

Componenta D, conjugatul, un anticorp cuplat cu peroxidază, conține ProClin 300, metilizotiazolonă și bromonitrodioxanul ca și conservanți.

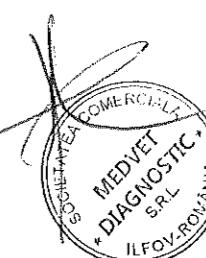
Componenta F, Soluția de Stopare, conține florură de sodiu.

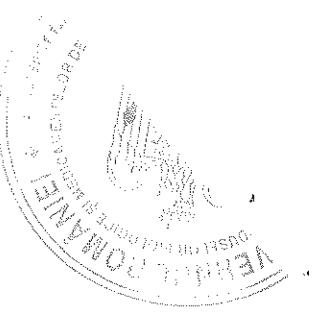
Version 180327

PO Box 502
Pullman, WA 99163 USA

P: 509.334.5815
F: 509.332.5356

support@vmrd.com
www.vmrd.com





Bluetongue Virus Antibody Test Kit, cELISA
Cod produs 5010.20
Etichetă cutie pentru formatul de 2 plăci

vmrd
Veterinary Medical
Research & Development

DE UZ VETERINAR EXCLUSIV

Cod produs USDA 5010.20

BLUETONGUE VIRUS ANTIBODY TEST KIT, cELISA v2

CATALOG NR: 5010.20-2

SERIE NR:

DATA EXPIRARE:

PĂSTRARE LA 2-8°C

UTILIZAȚI DOAR CONFORM INDICAȚIILOR

LICENȚĂ VETERINARĂ U.S. NR.332

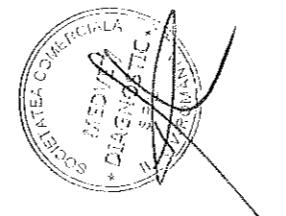
Cutia poștală 502

A Microplăci căptușite cu antigen	2 plăci
B Control pozitiv	4ml
C Control negativ	4ml
D Conjugat anticorpi-peroxidază	16ml
E Soluție substrat	30ml
F Soluție stopare	30ml

Instrucțiuni de utilizare
Conține reagenți suficienți pentru 182 probe

P: 509.334.5815 techserve@vmrd.com

F: 509.332.5356 www.vmrd.com



Bluetongue Virus Antibody Test Kit, cELISA
Cod produs 5010.20
Etichete componente pentru formatul de 2 plăci

