

Общая информация

Диагностический набор непрямого иммуноферментного анализа для обнаружения антител, направленных против вируса бычьего герпеса крупного рогатого скота типа 2 (BHV-2) в сыворотке или плазме крови крупного рогатого скота.

Описание и принцип

Лунки микропланшета покрыты очищенным экстрактом антигена BHV-2.

При внесении в лунки тестируемых образцов и контрольных сывороток, антитела анти-BHV-2, если они присутствуют, образуют комплекс антиген-антитело с очищенным экстрактом BHV-2. После этапа промывки микропланшета, в лунки вносится конъюгат анти-жвачных IgG, меченный пероксидазой (HRP), который фиксируется вместе с антителами анти-BHV-2, образуя комплекс антиген - антитело – конъюгат - HRP.

После отмывки микропланшета в лунки добавляют субстратный раствор (ТМБ). Реакцию останавливают, добавляя стоп-реагент.

Окрашивание раствора в лунках свидетельствует об отсутствии или наличии в исследуемых образцах антител, специфичных к BHV-2:

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

Оптическую плотность раствора измеряют фотометрически при длине волны 450 нм.

Компоненты набора

Реагенты*
Микропланшет, лунки которого покрыты очищенным антигеном BHV-2
Концентрат конъюгата (10X)
Положительный контроль
Отрицательный контроль
Буферный раствор 2
Буферный раствор 3
Концентрат промывочного раствора (20X)
Субстратный раствор (ТМБ)
Стоп-реагент (0.5 М)

* *Количества компонентов обозначены на этикетке набора.*

1. Конъюгат, контрольные сыворотки и субстратный раствор хранят при температуре $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$.
2. Остальные компоненты хранят при температуре $+2^\circ\text{C}$ и $+26^\circ\text{C}$.
3. Промывочный, субстратный растворы и стоп-реагент могут быть использованы для всей гаммы наборов IDvet. Буферы для разбавления с одинаковыми номерами партий являются взаимозаменяемыми.

Примечание: в случае необходимости, IDvet может предоставить вам дополнительные объемы указанных выше компонентов.

Дополнительные материалы и оборудование (не входящие в набор)

1. Дозаторы одноканальные и многоканальные, откалиброванные к объемами 10 мкл, 100 мкл и 200 мкл.
2. Одноразовые наконечники к дозаторам.
3. Фотометр оптической плотности для 96-луночного микропланшета.
4. Дистиллированная и деионизированная вода.
5. Ручная или автоматическая промывочная система.

6. 96-луночный микропланшет для предварительного разведения образцов.

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 опасен при проглатывании. Раствор может стать причиной раздражений при контакте с кожей (R22-43). Избегать контакта с кожей (S24-37).
4. Не оставлять субстратный раствор под действием прямого солнечного света и не допускать его окисления.
5. Все отходы должны быть надлежащим образом дезактивированы перед утилизацией. Дезактивация должна проводиться в соответствии с местными санитарными правилами об утилизации и обезвреживании отходов.

Подготовка промывочного раствора

Доведите концентрат промывочного раствора (20X) до комнатной температуры перед 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.

Процедура анализа

Все реагенты набора перед использованием, должны иметь комнатную температуру 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$) и однородность. Для этого встряхните флаконы или используйте Вортекс.

1. Внести 190 мкл **Буферного раствора 2** в каждую лунку.
2. Внести:
 - 10 мкл **Отрицательного контроля** в лунки A1 и B1.
 - 10 мкл **Положительного контроля** в лунки C1 и D1.
 - 10 мкл каждого тестируемого образца в оставшиеся лунки.
3. Закрыть микропланшет и инкубировать **45 мин** ± 4 мин при температуре 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$).
4. Опустошить лунки. Промыть микропланшет 3 раза **Промывочным раствором 1X**, внося приблизительно 300 мкл в каждую лунку. Избегать высыхания лунок между промывками.
5. Подготовить **Конъюгат 1X** разведением концентрата конъюгата (10X) в соотношении 1:10 в **Буферном растворе 3**.
6. Внести 100 мкл **Конъюгата 1X** в каждую лунку.
7. Закрыть микропланшет и инкубировать **30 мин** ± 3 мин при температуре 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$).
8. Опустошить лунки. Промыть микропланшет 3 раза **Промывочным раствором 1X**, внося приблизительно 300 мкл в каждую лунку. Избегать высыхания лунок между промывками.
9. Внести 100 мкл **Субстратного раствора** в каждую лунку.
10. Закрыть микропланшет и инкубировать **15 мин** ± 2 мин при температуре 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$) в темноте.
11. Внести 100 мкл **Стоп-реагента** в каждую лунку для остановки реакции.
12. Измерить оптическую плотность при длине волны 450 нм.

Валидация

Результаты теста считаются достоверными, если:

- ✓ Среднее значение Оптической плотности Положительного контроля (ОП_{к+}) больше 0,350

$$ОП_{к+} > 0,350$$

- ✓ Отношение средних значений Оптической плотности Положительного (ОП_{к+}) и Отрицательного (ОП_{к-}) контролей больше 3

$$ОП_{к+}/ОП_{к-} = 3$$

Интерпретация результатов

Для каждого образца рассчитывается процентное значение S/P :

$$S/P = \frac{ОП_{образца} - ОП_{к-}}{ОП_{к+} - ОП_{к-}} \times 100$$

Образцы, имеющие процентное значение S/P (S/P %):

- Менше или равные 90% считаются отрицательными
- Больше 90% и меньше 110% считаются сомнительными
- Больше или равные 110 % считаются положительными.

Результат	Иммунный статус
S/P % ≤ 90%	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ
90% < S/P % < 110%	СОМНИТЕЛЬНЫЙ
S/P % ≥ 110%	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ

ID Screen[®] BHV-2 Indirect



Непрямой иммуноферментный анализ для обнаружения антител против анти-BHV-2 в сыворотке или плазме крови крупного рогатого скота

Для применения *in vitro*

BHV2S версия 0215 RU