

cattletype[®] BHV1 gB Ab

Příručka

K detekci protilátek proti glykoproteinu B
bovinního Herpesviru 1

Registrováno v souladu s § 11 (2) německého Zákona o zvířecích nemocech
(FLI-B 491)



5 destiček (kat. č. CT270043)



20 destiček (kat. č. CT270045)



INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Deutscher Platz 5b,
04103 Leipzig, Germany

Obsah

Obsah soupravy	3
Účel použití	3
Symbyly	4
Kontrola kvality	4
Skladování	4
Bezpečnostní informace	5
Úvod	6
Princip	6
Vybavení a reagentie zajištěné uživatelem	7
Důležitá upozornění	8
Všeobecná opatření	8
Protocol: ELISA testovací procedura	9
Důležité body před spuštěním	9
Co je třeba udělat před zahájením testu	9
Příprava vzorků mléka	9
Testování v případě séra a vzorků plazmy	10
Testování v případě vzorků mléka	11
Interpretace dat	12
Validační kritéria	12
Výpočet	12
Interpretace výsledků	13
Index změn	16
Rychlý průvodce pro cattletype BHV1 gB Ab	17

Obsah soupravy

cattletype BHV1 gB Ab	(5)	(20)
Kat. č.	CT270043	CT270045
Počet destiček	5	20
Test. destička: mikrotitrační s 96 jamkami, potažená inaktivovaným BHV1 antigenem	5	20
Ředící roztok vzorku, připraveno k použití	1 x 30 ml	1 x 125 ml
Negativní kontrola, připraveno k použití	1 x 3.5 ml	2 x 3.5 ml
Pozitivní kontrola, připraveno k použití	1 x 3.5 ml	2 x 3.5 ml
Promývací pufr, 10x koncentrovaný	3 x 125 ml	2 x 500 ml
Konjugát, připraveno k použití	1 x 60 ml	1 x 240 ml
TMB Substrát, připraveno k použití	1 x 60 ml	1 x 240 ml
Zastavovací roztok, připraveno k použití	1 x 60 ml	1 x 240 ml
Příručka	1	1

Účel použití

Souprava *cattletype* BHV1 gB Ab je enzymová imunoanalýza (ELISA). Slouží k detekci protilátek proti glykoproteinu E bovinního herpesviru 1 (BHV1) v séru, plazmě a vzorcích mléka od dobytka. Souprava je schválena institutem Friedrich-Loeffler-Institut a registrována v souladu s § 11 (2) německého Zákona o zvířecích nemocech (FLI-B 491) k použití pro veterinární diagnostické procedury v Německu.

Určeno pouze k veterinárním účelům.

Symboly



Zákonný výrobce



Číslo šarže



Datum spotřeby



Teplotní omezení při skladování



Příručka



Katalogové číslo



Číslo materiálu



Pro vzorky dobytka

Kontrola kvality

V souladu se systémem řízení jakosti ISO certifikovaným společností ISO je každá dávka bovinného typu BHV1 gB Ab testována na základě předem stanovených specifikací, aby byla zajištěna konzistentní kvalita produktu.

Skladování

Komponenty soupravy *cattletype* BHV1 gB Ab ELISA je třeba skladovat při teplotě 2–8 °C a zůstávají stabilní do data spotřeby uvedeného na štítku.

Promývací pufr (10x) a zastavovací roztok lze skladovat při pokojové teplotě (18–25 °C), aby nedocházelo ke krystalizaci soli. Pokud jsou součástí soupravy testovací stripy, zbylé testovací stripy skladujte do dalšího použití v těsně uzavřeném fóliovém váčku se sikařem při teplotě 2–8 °C. Testovací stripy je po otevření váčku s destičkou možné skladovat minimálně 6 týdnů.

Bezpečnostní informace

Při práci s chemikáliemi vždy noste vhodný laboratorní oděv, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Další informace naleznete v příslušných bezpečnostních listech (SDS). Tyto informace získáte od místního obchodního zástupce nebo e-mailem na adrese compliance@indical.com.



UPOZORNĚNÍ: Zastavovací roztok obsahuje 0,5M kyselinu sírovou.

Všechny zbytky vzorků a předměty, které se dostaly do kontaktu se vzorky, je nutné dekontaminovat nebo zlikvidovat jako potenciálně infekční materiál.

Úvod

Cattletype BHV1 gB Ab je citlivým testem pro detekci protilátek proti glykoproteinu B (gB) hovězího herpesviru 1 (BHV1) v séru, plazmě a mléčných vzorcích. BHV1 je příčinou infekční bovinní rinotracheitidy (IBR) - respiračního onemocnění, které způsobuje tracheitidu, rinitidu a horečku. Kromě toho infekce BHV1 může způsobit infekční pustulární vulvovaginitidu (IPV), balanoposthritidu a potraty.

Klinické onemocnění je často následováno latentní infekcí BHV1. Reaktivace viru může být příčinou šíření infekce ve stádu. *cattletype* BHV1 gB Ab umožňuje detekci protilátek proti BHV1 v séru, plazmě a mléčných vzorcích skotu infikovaného BHV1 nebo vakcinovaných vakcínou obsahující glykoprotein B.

Princip

cattletype BHV1 gB Ab je blokovácí ELISA. Testovací destička je potažena inaktivovaným antigenem BHV1. Během inkubace vzorku se BHV1-specifické protilátky vážou na imobilizovaný antigen. Nevázaný materiál se odstraňuje promýváním.

Poté je přidána HRP-značená gB-specifická monoklonální protilátka, která se nemůže vázat na antigen BHV1, zatímco jeho antigenní determinant byl dříve obsazen protilátkami v testovaném vzorku. Nenavázaný konjugát anti-gB-HRP se odstraní promytím. Barevná reakce se zahájí přidáním roztoku substrátu a zastaví se po 10 minutách. Optická hustota (OD) se měří spektrofotometrem. Blokovácí hodnota (procento inhibice) se vypočítá z hodnot OD získaných ze zkušebního vzorku a negativní kontroly, která neobsahuje žádné protilátky specifické pro BHV1.

Vybavení a reagentie zajištěné uživatelem

Při práci s chemikáliemi mějte vždy oblečený vhodný laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Více informací se dočtete v příslušných BL, které jsou k dispozici u dodavatele produktu.

- Kádinky
- Odměrné válce
- Pipety (nastavitelné)
- Multikanálové pipety (nastavitelné)
- Hliníková nebo lepicí fólie k přikrytí testovací destičky
- Volitelné: Zařízení pro aplikaci a nasátí promývacího pufru
- Čtečka absorbance mikrotitrační destičky
- Zkumavky nebo destičky pro ředění vzorků
- Destilovaná voda

Důležitá upozornění

Všeobecná opatření

Uživatel by měl vždy dbát následujících pokynů:

- Při provádění testu nevystavujte TMB substrátový roztok intenzivnímu světlu ani slunečnímu světlu.
- Nesmí dojít ke kontaminaci komponentů testovací soupravy ani k jejich smíchání s komponenty z jiných šarží.
- Komponenty testovací soupravy nepoužívejte, pokud již uplynulo datum spotřeby.
- Nedostatečně čistá voda ze systémů s iontovou výměnou použitá k ředění promývacího pufru (10x) může test narušit. Použijte dvojitě destilovanou vodu nebo vysoce purifikovanou vodu (např. Milli-Q®).
- Aby byla výsledky testu přesné, je nezbytné při provádění testu použít čisté nádoby a při pipetování a výplachu postupovat opatrně a striktně dodržovat inkubační doby.

Protokol: ELISA testovací procedura

Důležité body před spuštěním

Prosím přečtěte si „Důležité poznámky“ na straně 8 před spuštěním.

Co je třeba udělat před zahájením testu

- Bezprostředně před použitím vytemperujte reagenty na pokojovou teplotu (18–25 °C). V případě, že se v promývacím pufru (10x) vyskytnou precipitované krystaly soli, rozpust'te je jemným vířením a zahříváním.
- Nařed'te promývací pufr (10x) 1:10 v destilované vodě. Například pro jednu testovací destičku nařed'te 50 ml promývacího pufru (10x) ve 450 ml destilované vody a promíchejte.
- Lze použít čerstvé, chlazené nebo předtím zmrazené sérum nebo vzorky plazmy.

Příprava vzorků mléka

Před analýzou vzorků je nutné vzorky mléka zbavit tuku. Vzorky plnotučného mléka odstřed'ujte 10 minut při 3000 x g a 10 °C nebo vzorky uchovejte přes noc v chladnu při teplotě 2-8 °C. Poté odstraňte smetanu.

Poznámka: Po přípravě vzorků s použitím vhodného protokolu se mohou testovat vzorky mléka pomocí soupravy cattletype BHV1 gB Ab. Test je validován pro testování skupin až do 50 vzorků mléka po přípravě vzorku mléka pomocí soupravy cattletype Milk Prep Kit.

Testování v případě séra a vzorků plazmy

Přečtěte si „Co je třeba udělat před zahájením testu“, strana 9.

Postup

1. Napipetujte 50 μ l připraveného ředícího roztoku vzorku do jamek testovací destičky.
2. Napipetujte 50 μ l negativní kontroly (duplikátně) a pozitivní kontroly (duplikátně) do příslušných jamek a zamíchejte.
3. Napipetujte 50 μ l vzorků do zbývajících jamek a zamíchejte.

Upozornění: Zaznamenejte pozice kontrol a vzorků do testového protokolu. Zamíchejte buďto na destičkové třepače nebo opakovaným nasátím a vypuštěním tekutiny. Testovací destičku přikryjte.

4. Inkubujte 2 hodiny při 37°C nebo přes noc (12-18 h) při pokojové teplotě (18-25°C).
5. Odstraňte roztok z jamek odsátím a vyklepáním.
6. Každou jamku promyjte 5x 300 μ l připraveného promývacího pufru. Po každém promytí odstraňte pufr odsátím a vyklepáním.
7. Do každé jamky napipetujte 100 μ l připraveného konjugátu a inkubujte 30 minut při pokojové teplotě (18–25 °C).
8. Odstraňte roztok z jamek nasátím a vyklepáním.
9. Každou jamku promyjte 5x 300 μ l připraveného promývacího pufru. Po každém promytí odstraňte pufr odsátím a vyklepáním.
10. Do každé jamky napipetujte 100 μ l TMB substrátového roztoku.
11. Inkubujte v temnu 10 min při pokojové teplotě. Po naplnění první jamky spusťte časování.
12. Zastavte reakci přidáním 100 μ l zastavovacího roztoku na každou jamku. Přidejte zastavovací roztok ve stejném pořadí, jako jste přidávali substrátový roztok.

13. Změřte OD ve čtečce destiček při 450 nm do 20 min po zastavení reakce.

Měření při referenční vlnové délce (620–650 nm) je volitelné.

Testování v případě vzorků mléka

Přečtěte si „Co je třeba udělat před zahájením testu“, strana 9.

Postup

1. Napipetujte 100 µl negativní kontroly (duplikátně) a pozitivní kontroly (duplikátně) do příslušných jamek.
2. Napipetujte 100 µl odtučněného mléka do zbývajících jamek.
Upozornění: Zaznamenejte pozice kontrol a vzorků do testového protokolu. Testovací destičku přikryjte.
3. Inkubujte přes noc (12–18 h) při pokojové teplotě (18–25 °C).
4. Odstraňte roztok z jamek odsátím a vyklepáním.
5. Každou jamku promyjte 5x 300 µl připraveného promývacího pufru. Po každém promytí odstraňte pufr vysátím a vyklepáním.
6. Do každé jamky napipetujte 100 µl připraveného konjugátu a inkubujte 60 minut při pokojové teplotě (18–25 °C).
7. Odstraňte roztok z jamek odsátím a vyklepáním.
8. Každou jamku promyjte 5x 300 µl připraveného promývacího pufru. Po každém promytí odstraňte pufr odsátím a vyklepáním.
9. Do každé jamky napipetujte 100 µl TMB substrátového roztoku.
10. Inkubujte v temnu 10 min při pokojové teplotě. Po naplnění první jamky spusťte časování.

11. Zastavte reakci přidáním 100 µl zastavovacího roztoku na každou jamku. Přidejte zastavovací roztok ve stejném pořadí, jako jste přidávali substrátový roztok.
12. Změřte OD ve čtečce destiček při 450 nm do 20 min po zastavení reakce. Měření při referenční vlnové délce (620–650 nm) je volitelné.

Interpretace dat

Validační kritéria

Výsledky jsou platné, pokud jsou splněna následující kritéria:

- Střední hodnota (MV) naměřených hodnot OD pro negativní kontrolní sérum musí být $\geq 0,60$.
- Blokovací hodnota vypočítaná ze střední hodnoty MV naměřené hodnoty OD pro pozitivní kontrolu (PC) musí být $\geq 75 \%$.

Jsou-li validační kritéria neplatná, je nutné test po důkladném přečtení návodu na použití zopakovat.

Výpočet

Vypočítejte střední hodnoty (MV) naměřené OD pro negativní kontrolní sérum (NC) a pozitivní kontrolní sérum (PC).

Blokovací hodnota se vypočítá podle následující rovnice:

$$\% \text{ blocking} = \frac{MV OD_{NC} - OD_{\text{sample}}}{MV OD_{NC}} \times 100$$

Interpretace výsledků

- Vzorky s blokovacími hodnotami <45 % jsou negativní. Specifické protilátky proti BHV1 nebyly detekovány.
- Vzorky s blokovacími hodnotami ≥ 45 % a <55 % jsou hraniční. Doporučujeme zvířata s hraničními výsledky otestovat znova.
-
- Vzorky s blokovacími hodnotami ≥ 55 % jsou pozitivní. Specifické protilátky proti BHV1 byly detekovány.

INDICAL nabízí řadu souprav ELISA a real-time PCR a real-time RT-PCR souprav pro detekci živočišných patogenů. Navštivte www.indical.com, kde naleznete další informace o produktech baktotyp, cador, cattletype, flocktype, pigtype a virotype.

Aktualizované informace o licencích a odmítnutí odpovědnosti za konkrétní produkt naleznete v příslušné příručce k soupravě INDICAL nebo uživatelské příručce.

Licenční smlouva s omezeným oprávněním pro cattletypeBHV1 gBAb

Použití tohoto produktu znamená souhlas kupujícího nebo uživatele produktu s následujícími podmínkami:

1. Výrobek lze používat výhradně v souladu s protokoly dodanými s výrobkem a touto příručkou a pro použití s komponentami obsaženými v kitu. Společnost INDICAL neuděluje žádné oprávnění vyplývající z jakéhokoli svého duševního vlastnictví používat nebo zabudovat přiložené součásti této sady s jinými součástmi, které nejsou součástí této sady, s výjimkou popsanych v protokolech dodaných s tímto produktem, této příručce a dodatečných protokolů k dispozici na adrese www.indical.com. Některé z těchto dodatečných protokolů byly poskytnuty společností INDICAL uživatelům INDICAL. Tyto protokoly nebyly důkladně testovány nebo optimalizovány společností INDICAL. Společnost INDICAL za ně neručí a ani nezaručuje, že neporušují práva třetích stran.
2. Kromě výslovně uvedených licencí společnost INDICAL neposkytuje žádnou záruku, že tato sada a / nebo její použití neporušují práva třetích stran.
3. Tato souprava a její složky jsou určeny k jednorázovému použití a je zakázáno je používat opakovaně, renovovat je či přeprodávat.
4. Společnost INDICAL výslovně odmítá jakékoli jiné, výslovné nebo implicitní licence, než které jsou výslovně uvedeny.
5. Kupující a uživatel této soupravy se dohodli, že sami nepodniknou, ani neumožní nikomu jinému podniknout, kroky, které by mohly vést k usnadnění kteréhokoli z výše uvedených typů jednání. Společnost INDICAL se může domáhat dodržování podmínek této omezené licenční smlouvy u kteréhokoli soudu a bude požadovat kompenzaci všech svých soudních výloh, výloh za vyšetřování, včetně poplatků za právníka, v případě jakéhokoli svého jednání s cílem domoci se svých práv duševního vlastnictví ve vztahu k této soupravě a/nebo jejím komponentům.

Aktuální licenční podmínky naleznete na stránkách www.indical.com.

Ochranné známky: bactotype®, cador®, cattletype®, flocktype®, pigtype®, virotype® (INDICAL BIOSCIENCE GmbH); Milli-Q® (Merck KGaA, Darmstadt, Německo). Registrované názvy, ochranné známky apod. použité v tomto dokumentu, i když nemusí být výslovně takto označeny, je třeba považovat za chráněné zákonem.

HB-1833-007 © 2018 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, všechna práva vyhrazena.

Index změn

Příručka	Verze	Změna
HB-1588-006	Květen 2018	INDICAL design

Rychlý průvodce pro cattletype BHV1 gB Ab

Ředění vzorku:

Sérum, plazma 1:2, dobře promíchejte Neředěné mléko

Krok	Krátký postup	Postup při inkubaci přes noc*
1. Vzorek		100 µl/ jamka
2. Inkubace	Sérum: 2 h 37°C	Přes noc (12-18h) při pok. teplotě
3. Promytí		5 x 300 µl
4. Konjugát		100 µl/ jamka
5. Inkubace		60 min při pok. teplotě
6. Promytí		5 x 300 µl
7. TMB		100 µl/ jamka
8. Inkubace		10 min při pok. teplotě
9. Stop		100 µl/ jamka
10. Čtení		450 nm

* Při použití vzorků mléka musí být inkubace prováděna přes noc.

Interpreatce dat

Negativní	Hraniční	Pozitivní
< 45%	≥ 45% a < 55%	≥ 55%