

VetLine Brucella Бруцеллѐз

ELISA

Иммуноферментный метод для качественного определения антител против Brucella в ветеринарной сыворотке млекопитающих.

Номер продукта: BRUVT0050 (96 определений)

1. ВВЕДЕНИЕ

Виды Бруцеллы - очень маленькие, граммотрицательные неподвижные бактерии (0,4-0,8 мкм в диаметре и 0,4 - 3,0 мкм). Они были названы в честь английского военного врача Брюса Дэвиса, который изолировал возбудитель 1887 года на Мальте от селезенки умершего солдата с волнообразной лихорадкой. Особенно важны следующие четыре вида: Brucella abortus - возбудитель бруцеллеза крупного рогатого скота, Brucella melitensis - возбудитель овечьего и козьего бруцеллеза, Brucella suis - возбудитель бруцеллеза свиней, Brucella canis - возбудитель бруцеллеза собак. Симптомы заболевания сходны КРС, овец, коз и свиней. Овцы менее восприимчивы, поэтому у этого вида реже наблюдается аборт. После заражения бруцеллез начинается с клинически нормальной фазы, которая часто остается незамеченной. Позже часто возникает воспаление суставов, а иногда и мастит. Основными симптомами бруцеллеза являются аборты, преждевременные роды и рождение мертвого или слабого потомства. У зараженных быков может развиваться орхит и эпидидимит. Патоген передается главным образом при приеме внутрь и спаривании. Также возможна инфицирование с молоком, мочой и фекалиями. В животноводстве бруцеллез может стать эпидемией. Бруцеллез - это передаваемая болезнью людям (зооноз). Лица, подверженные риску, являются особенно пастухами, фермерами, владельцами животных, ветеринарами и персоналом лаборатории.

Инфекции могут быть диагностированы:

- По специфической ПЦР
- Серология: обнаружение антител с помощью ИФА

2. ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Brucella NovaТек VetLine ELISA предназначен для качественного определения антител против Brucella в сыворотке крови.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Качественный иммуноферментный метод определение антител к Brucella основан на ELISA (твердофазный иммуноферментный анализ). Микротитровальные стрипы предварительно покрывают Brucella антигенами для связывания соответствующих антител образца. После промывки лунок для удаления всех несвязанных образцов пероксидазой хрена (HRP), добавляют меченный белком А / G конъюгат. Этот конъюгат связывается с захваченными Brucella специфическими антителами. Иммуный комплекс визуализируют путем добавления тетраметилбензидинового (ТМБ) субстрата раствора, который дает синий цвет реакции. Интенсивность этого цвета пропорционально количеству Brucella специфических антител в образце. Серная кислота добавляется, чтобы остановить реакцию. Это дает желтый цвет. Поглощение при 450 нм считывается при помощи ELISA ридер пластины.

4. МАТЕРИАЛЫ

4.1. Реагенты поставляются

VetLine Brucella покрытые лунки: 12 рядный планшет с 8-ью хорошо отмывающимися полосками, покрытыми Brucella антигеном; закрытый алюминиевой фольгой.

Разбавитель образца **: 1 флакон, содержащий 100 мл буфера для разведения образцов; pH 7,2 ± 0,2; желтого цвета; готовый к использованию; белый колпачок.

Стоп-раствор: 1 флакон, содержащий 15 мл серной кислоты, 0,2 моль / л; готовый для использования; Красный колпачок.

Промывочный раствор (20-ти кр конц.) *: 1 флакон, содержащий 50 мл 20-кратного концентрированного буфера (pH 7,2 ± 0,2) для промывки лунок; белый колпачок.

VetLine Brucella Белковый А / G Конъюгат **: 1 флакон, содержащий 20 мл пероксидазы белка А / G; окрашены в желтый цвет

ТМБ Раствор субстрата: 1 флакон, содержащий 15 мл 3,3', 5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ); готов к использованию; желтый колпачок.

VetLine Brucella Положительный контроль **: 1 флакон, содержащий 2 мл; желтого цвета; готовый к использованию ; Красный колпачок.

VetLine Brucella Пороговый контроль **: 1 флакон, содержащий 3 мл; желтого цвета; готовый к

использованию; зеленый колпачок.

VetLine Brcella Отрицательный контроль **: 1 флакон, содержащий 2 мл; желтого цвета; готовый к использованию; синий колпачок.

* Содержит 0,1% Bronidox L после разбавления

** Содержит 0,1% Катон

4.2. Поставленные материалы

1 Стрип-держатель

1 крышка из фольги

1 Тест -протокол

1 план распределения и идентификации

4.3.Необходимые материалы и оборудование

ELISA Микропланшетный ридер, оснащенный оптической системой для измерения плотности при 450/620 нм

Инкубатор 37 ° С

Ручное или автоматическое оборудование для промывки скважин

Пипетки поставляться объемы от 10 до 1000 мкл

смеситель вихревой трубы

деионизованная или (свежая) дистиллированная вода

Одноразовые трубки

Таймер

5. СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ

Реагенты стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке при хранении 2 ... 8 °С.

6. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Очень важно довести все реагенты, образцы и контроли до комнатной температуры (20 ... 25 ° С) перед началом анализа!

6.1. Стрипы покрытые FIV антигеном.

Хранить при температуре 2 ... 8 ° С. Сразу после удаления стрипов оставшиеся стрипы должны быть запечатаны в алюмин фольгу вместе с поглотителем влаги, и храниться при т 2 ... 8 ° С ;стабильны до истечения срока годности.

6.2. Вирус кошачьего иммунодефицита конъюгат

Бутылка содержит 20 мл раствора с белком А / G, пероксидаза хрена, буфер, стабилизаторы, консерванты и инертный желтый краситель. Раствор готов к использованию. Хранить при температуре 2 ... 8 ° С. После первого вскрытия годен до указанного срока годности при хранении при 2 ... 8 ° С.

6.3. Контроли

Бутыли, помеченные как Положительный, Пороговый и Отрицательный Контроль содержат 2 соотв. 3 мл готового к использованию контрольного раствора. Он содержит 0,1% Катона и должен храниться при температуре 2 ... 8 ° С. После первого вскрытия годен до истечения срока годности при хранении 2 ... 8 ° С.

6.4. Разбавитель образца

Флакон содержит 100 мл фосфатного буфера, стабилизаторы, консерванты и инертный желтый краситель. Он используется для разбавления образцов . Этот готовый к использованию раствор должен храниться при температуре 2 ... 8 ° С. После первого вскрытия годен до указанного срока годности при хранении при 2 ... 8 ° С.

6.5. Промывочный раствор (20хconc.)

Бутыль содержит 50 мл концентрированного буфера, моющих средств и консервантов. Развести промывочный раствор 1 + 19; например 10 мл промывочного раствора + 190 мл свежей или редистиллированной водой. Разбавленный буфер будет держать в течение 5 дней при хранении в комнатной температуре. Кристаллы в растворе исчезают при нагревании до 37 ° С в водяной бане. После первого вскрытия концентрата стабилен до истечения срока годности

6.6. ТМВ Раствор субстрата

Бутылка содержит 15 мл перекиси тетраметилбензидина / водорода. Реагент готов к использованию и должен храниться при температуре 2 ... 8 ° С, вдали от света. Раствор должен быть бесцветным или может иметь небольшой синий оттенок. Если субстрат превращается в синий, он может быть негоден и должен быть утилизирован. После первого вскрытия годен до указанного срока годности при хранении при 2 ... 8 ° С.

6.7. Стоп-раствор

Бутылка содержит 15 мл 0,2 М раствора серной кислоты (R 36/38, S 26). Этот готовый к использованию раствор должен храниться при температуре 2 ... 8 ° С.

После первого вскрытия годен до истечения срока годности.

7. СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Используйте кошачью сыворотку или плазму для анализа. Избегайте повторного замораживания и оттаивания.

Тепловая инаktivация образцов не рекомендуется.

7.1. разбавление образца

Перед анализом все образцы должны быть разбавлены 1 + 100 разбавителем образца. Разлить по 10 мкл образца и 1 мл раствора для разведения образцов в пробирки для получения 1 + 100 разбавления и тщательно перемешать с Vortex.

8. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

8.1. Подготовка к тестированию

Пожалуйста, тщательно прочитайте протокол тестирования перед выполнением анализа. Надежность результатов зависит от строгого соблюдения протокола испытаний, как описано. Следующая процедура анализа действительна только для ручной процедуры. При проведении испытания на автоматических системах ELISA мы рекомендуем увеличить промывки от трех до пяти, а объем промывочного раствора - от 300 мкл до 350 мкл, чтобы избежать отрицательных эффектов. До начала анализа : распределение, план идентификации образцов и контроля должны быть тщательно установлены на листе результатов поставляемых в комплекте. Выберите требуемое количество микротитровальных полосок или лунок и поместите их в держатель.

Пожалуйста, разместите:

- 1 лунка (например, A1) для субстрата,
- 1 лунка (например B1) для отрицательного контроля,
- 2 лунки (например, C1 + D1) порогового контроля
- 1 лунка (например, E1) для положительного контроля.

Рекомендуется определять контроли и образцы в двух экземплярах.

Выполните все шаги теста в указанном порядке и без каких-либо заметных задержек между шагами.

Чистый, одноразовый наконечник должен быть использован для дозирования каждого контроля и образца.

Отрегулируйте инкубатор 37 ± 1 ° C.

1. Внести 100 мкл контроля и разбавленных образцов в соответствующие лунки. Оставить лунку A1 для субстрата.
2. Накрыть лунки фольгой, поставляемой в комплекте.
3. Инкубировать в течение 1 часа \pm 5 мин при температуре 37 ± 1 ° C.
4. После инкубации удалите фольгу, удалите содержимое лунок и промойте каждую лунку три раза 300 мкл промывочного раствора. Избегайте переполнения лунок. Время выдержки между каждой промывкой должна быть > 5 сек. В конце осторожно удалить остатки жидкости на стрипах на салфетку перед следующим этапом!

Примечание: Промывка очень важна! Недостаточная промывка приводит к низкой точности и завышенным значениям абсорбции.

5. Распределить 100 мкл VetLine Кошачий Вирус иммунодефицита Белок A / G конъюгата во все лунки (например, A1). Закрыть с фольгой.

6. Инкубировать в течение 30 мин при комнатной температуре. Не подвергать воздействию прямых солнечных лучей.

7. Повторите шаг 4.

8. Внесите 100 мкл ТМВ раствора субстрата во все лунки

9. Инкубировать ровно 15 минут при комнатной температуре в темноте.

10. Внесите 100 мкл Стоп-раствора во все лунки в том же порядке и с той же скоростью, что и для ТМВ раствора субстрата.

Любое голубое окрашивание проявившееся во время инкубации переходит в желтый.

Примечание: высоко-положительные образцы могут иметь темный осадок хромогена! Эти преципитаты могут влиять на оптическую плотность. Предварительное разбавление образца физиологическим раствором хлорида натрия, например, 1 + 1, рекомендуется. Затем разбавить образец 1 + 100 с буфером для разведения и умножить результаты в ОД на 2.

11. Измеряют абсорбцию образца при 450/620 нм в течение 30 мин после добавления стоп-раствора или читают результаты визуально.

8.2. Измерение

Отрегулируйте микролуночные планшет-ридер ELISA до нуля, используя бланк субстрата в лунке A1.

Если - по техническим причинам - ридер не может быть настроен на нуль используя бланк субстрата в

лунке A1, вычтешь значение абсорбции лунки A1 из всех остальных значений абсорбции, чтобы получить достоверные результаты!

Измерить абсорбцию во всех лунках при длине волны 450 нм и записать значения абсорбции для каждого контроля и образца в плане распределения и идентификации.

Двойное считывание длины волны 620 нм в качестве эталонной длины волны рекомендуется.

Там, где это применимо рассчитать среднее значение абсорбции всех дублей.

9. РЕЗУЛЬТАТ

9.1. Выполнить критерии проверки.

Для того, чтобы анализ считался действительным, должны быть соблюдены следующие критерии:

Заготовка субстрата в A1: Значение абсорбции <0.100.

Отрицательный контроль в B1: Значение абсорбции <0.200 и <cut-off

Контроль отсечки в C1 и D1: Значение абсорбции 0,150 - 1,30.

Положительный контроль в E1: Значение абсорбции > отсечка.

Если эти критерии не выполняются, тест недействителен и должен быть повторен.

9.2. Расчет результатов

Отсечка представляет собой среднее значение абсорбции для определений контроля отсечки.

Пример: значение абсорбции.

Контроль отсечки 0,39 + значение поглощения. Контроль отсечки $0,37 = 0,76 / 2 = 0,38$

Отсечка = 0,38

9.3.1. Результаты в единицах NovaTec

Среднее значение абсорбции пациента x 10 = [NovaTec-Units = NTU]

отсечка

Пример: $\frac{1,216 \times 10}{0,38} = 32$ NTU (НоваТек Units)

Отключение: 10 NTU

Серая зона: 9-11 NTU

Отрицательный: <9 NTU

Положительно: > 11 NTU

10. КОНКРЕТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данные о рабочих характеристиках были установлены с образцами отобранных видов млекопитающих.

Из-за природы конъюгата с белком A / G этот ELISA также должен взаимодействовать с другими видами.

Более подробная информация предоставляется по запросу.

10.1. Точность

Interassay	n	среднее (NTU)Cv (%)	
Pos. Serum	12	57	3,6
Neg. Serum	12	76	4,8
Intraassay	n	среднее(E) Cv (%)	
Pos. Serum	23	1,49	5,3
Neg. Serum	24	2,53	4,2

10.1. Диагностическая специфичность

Специфичность диагностики определяется как вероятность анализа отрицательного результата оценки в отсутствие конкретного аналита. Это > 98%.

10.2. Диагностическая чувствительность. Диагностическая чувствительность определяется как вероятность анализа положительного результата в присутствии конкретного аналита. .

Это > 98%.

Примечание: результаты относятся к исследуемым группам образцов; Это не гарантированные спецификации.

10.4. Интерференция

Интерференция с гемолитической, Липемичные или желтушном сывороток не наблюдается вплоть до концентрации 10 мг / мл гемоглобина, 5 мг / мл триглицеридов и 0,2 мг / мл билирубина.

Примечание: результаты относятся к исследуемым группам образцов; Это не гарантированные спецификации.

11. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Бактериальное загрязнение или повторные циклы замораживания-оттаивания образца может повлиять на

значения абсорбции. Диагноз инфекционного заболевания не могут быть установлены на основе единого результата теста. Точный диагноз должен учитывать историю болезни, симптоматику, а также серологические данные.

12. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все материалы должны рассматриваться и обрабатываться как потенциально инфицированные. Все компоненты человеческого происхождения используемые для производства этих реагентов были протестированы на антитела к ВИЧ, антитела-НСV и HBsAg и были признаны как инактивированные. Не путайте реагенты или стрипы из разных партий продукции.

Не используйте реагенты других производителей с реагенты данного набора.

Не использовать реагенты по истечении срока годности, указанного на этикетке.

Используйте только чистые наконечники пипеток, дозаторов и лабораторный инвентарь.

Не путать колпачки реагентов во избежание перекрестного загрязнения.

Закрывать ампулу с реагентами плотно сразу после использования во избежание испарения и микробного загрязнения.

После первого вскрытия и последующего хранения проверять конъюгат и флаконы для контроля микробного загрязнения перед дальнейшим использованием.

Чтобы избежать перекрестного загрязнения и ложно завышенных результатов-распределять образцы и раскапывать конъюгат без расплескивания на дно лунок.

Процедура ELISA предназначена только для квалифицированного персонала, которые знакомы с надлежащей лабораторной практикой.

ВНИМАНИЕ: В используемой концентрации Bronidox L не имеет почти никакого токсикологического риска при контакте с кожей и слизистыми оболочками!

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ: Серная кислота раздражает глаза и кожу. Хранить в недоступном для детей месте. При контакте с глазами, тщательно промыть водой и обратиться к врачу!

12.1. Утилизация отходов

Остатки химических веществ и препаратов, как правило, рассматриваются как опасные отходы.

Утилизация такого рода отходов регулируется в рамках национальных и региональных законов и нормативных актов. Обратитесь к местным властям или компаний по вывозу и утилизации отходов.

13. ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Каталожный номер No BRUVT0050 VetLine Brucella ИФА (96 определений)

Производитель:	Эксклюзивный дистрибьютор в Российской Федерации:
NovaTec Immundiagnostica Gmb Waldstraße 23 A6 63128 Dietzenbach, Германия Tel.: +49 (0) 6074-48760 Fax: +49 (0) 6074-487629 Email : info@NovaTec-ID.com	ЗАО «Биоград» Россия, 197110, г. Санкт-Петербург, Петровский проспект, д. 14, литер А, офис 19-Н. тел/факс: +7 (812) 325 21 70 http://www.biograd.ru biograd@biograd.ru