

IDEXX Leukosis Serum X2 Ab Test

EBT1132T

10/strip

ELISA

Opis i deklarisana namjena

IDEXX Leukosis Serum X2 Ab Test nudi brzu, jednostavnu, senzitivnu i specifičnu metodu za detekciju antitijela protiv BLV u individualnim ili grupnim uzorcima (do 10 individualnih uzoraka) plazme i serumu kod stoke.

Mikroploče su obložene inaktiviranim antigenom. Razrijeđeni uzorci se inkubiraju u bazenima ovih ploča. Svako antitijelo specifično za BLV se veže za antigen u bazenima i formira antigen-antitijelo kompleks na površini bazena. Nevezani materijal se otklanja ispiranjem. Dodaje se igG konjugat koji vezuje za antitijela povezan sa BLV antigenom. Nevezani materijal se otklanja ispiranjem, i dodaje se TMB substrat.

Intezitet boje koja se obrazuje je proporcionalan količini prisutnih antitijela specifičnih za BLV. Rezultat se dobija poređenjem OD uzorka sa OD pozitivne kontrole.

	Reagensi	Količina
1	Mikroploča obložena antigenom BLV	10
2	Pozitivna kontrola	1 x 1,5ml
3	Negativna kontrola	1 x 1,5ml
4	Konjugat	1 x 110 ml
5	Razređivač uzorka	1 x 110 ml
A	TMB substrat N.12	1 x 100 ml
B	Stop rastvor N.3	1 x 100 ml
C	Koncentrat za ispiranje (10x)	1 x 480 mL

Skladištenje

Skladištitи reagense на 2–8°C. Reagensi су stabilни sve do isteka roka trajanja kita koji je označен на кутиji.

Potreban materijal koji nije obezbijeđen u kitu:

- precizne mikropipete i multikanalne mikropipete
- nastavci za pipete
- poklopci mikroploča
- ELISA čitač opremljen 450 nm filterom
- Ispirač mikropipeta (manuelni, automatski ili poluautomatski)
- destilovana ili dejonizovana voda
- Vortex ili ekvivalent
- inkubator

Mjere opreza i upozorenja

- Rukovati svim biološkim materijalom kao potencijalno infektivnim. Antigen koji se koristi u reagensima možda nije potpuno inaktivisan.
- Nosite zaštitne rukavice/odjeću kao i zaštitu za lice i oči kada se rukuje uzorcima i reagensima.
- Za dodatne informacije preporučujemo MSDS dokument

Laboratorijska praksa

- Optimalne rezultate ćete postići striktnim pridržavanjem ovog protokola. Pažljivo pipetiranje, mjerjenje vremena kao i procedure ispiranja su neophodni da bi se postigli preciznost i tačnost. Koristite poseban nastavak za pipete za svaki novi uzorak i kontrolu.
- Ne izlažite TMB rastvor jakom svetlu niti bilo kom agensu koji lako oksidiše. Držite TMB rastvor u čistom staklu ili plastici.
- Sav otpad treba da bude pravilno dekontaminiran pre uklanjanja. Uklanjanje treba da se obavi u skladu sa lokalnom, regionalnom i nacionalnom regulativom.
- Voditi računa da se spreči kontaminacija komponenata kita. Ne vraćati neiskorišćen reagens nazad u originalnu bočicu.
- Ne koristiti kitove sa isteklim rokom trajanja i ne miješati komponente iz kitova različitih kodova proizvodnje (Lot Nr).

Priprema rastvora za ispiranje

Koncentrat za ispiranje (10X) se dovodi na temperaturu od 18-26°C i promješan. Koncentrat za ispiranje (10X) mora biti razrijeđen 1:10 sa destilovanom vodom.

Npr. Za 1000ml rastvora za ispiranje, razrijediti 100ml koncentrata za ispiranje (10X) sa 900ml destilovane vode, i dobro promiješati.

Procedura testa

1	Zabilježiti poziciju uzorka na mikroploči
2	Odmjeriti 90 µL razređivača uzorka u sve bazenčice.
3	Odmjeriti 10 µL nerazrijeđene pozitivne kontole (PC) u duple bazenčice
4	Odmjeriti 10 µL nerazrijeđene negativne kontole (NC) u duple bazenčice
5	Odmjeriti 10 µL nerazrijeđenog uzorka u odgovarajuće bazenčice.
6	Miješati sadržaj bazenčica ručno pažljivo ili šejkerom za mikroploče
7	Inkubirati serum ili plazmu tokom 1h (\pm 5 minuta) na 37°C (\pm 3°C), ili 14-18 sati na 18-26°C. Ploče moraju biri čvrsto zapečaćene
8	Ukloniti rastvor i isprati svaki bazenčić sa približno 300 µL rastvorom za ispiranje 3 puta. Trudite se da se mikroploča ne suši između ispiranja kao ni prije dodavanja sljedećeg reagensa. Nakon finalnog ispiranja uklonite preostale ostatke tečnosti za ispiranje lupkanjem o apsorpcioni materijal.
9	Odmjeriti 100 µL konjugata u svaki bazenčić.
10	Inkubirati serum ili plazmu tokom 1h (\pm 5 minuta) na 37°C (\pm 3°C). Ploče moraju biri čvrsto zapečaćene
11	Ponoviti korak 8
12	Odmjeriti 100 µL TMB substrata N.12 u svaki bazenčić.
13	Inkubirati tokom 15 minuta (\pm 1 minut) pri 18–26°C.
14	Odmjeriti 100 µL stop rastvora (Stop Solution) u svaki bazenčić.
15	Očitati rezultate na 450 nm.

KONTROLE

$$NC\bar{x} = \frac{NC1 A(450) + NC2 A(450)}{2}$$

KONTROLE

$$PC\bar{x} = \frac{PC1 A(450) + PC2 A(450)}{2}$$

Kalkulacije

KRITERIJUM VALIDNOSTI

$NC\bar{x} \leq 0,500$	$PC\bar{x} \leq 2,000$	$PC\bar{x} - NC\bar{x} \geq 0,300$
------------------------	------------------------	------------------------------------

UZORCI

$$S/P\% = 100 \times \frac{Sample A(450) - NCx}{PC\bar{x} - NC\bar{x}}$$

INTERPRETACIJA REZULTATA

Rezultati		
negativan	sumnjiv	pozitivan
$S/P\% < 30$	$30 \leq S/P\% < 40$	$S/P\% \geq 40$

PULIRANJE DO 10 UZORAKA

Negativno $S/P \% < 20$	Pozitivno $S/P \% \geq 20$
----------------------------	-------------------------------

Ako određeni bazen daje pozitivan rezultat, uzorke za testiranje korištene za pripremu bazena treba analizirati pojedinačno.

Napomena: IDEXX ima na raspolaganju instrumente i softverske sisteme koji izračunavaju rezultate i daju sažetke podataka.