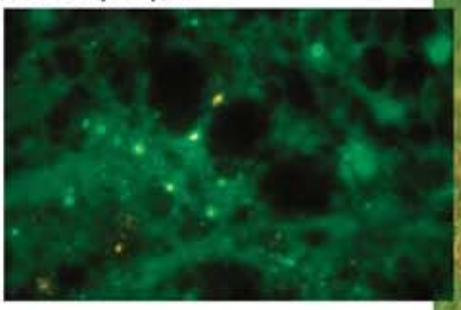
Диагностика

O.K. SERVIS
BioPro s.r.o.
www.rabieselisa.com

Диагностический тест-набор ELISA для определения антител вируса бешенства

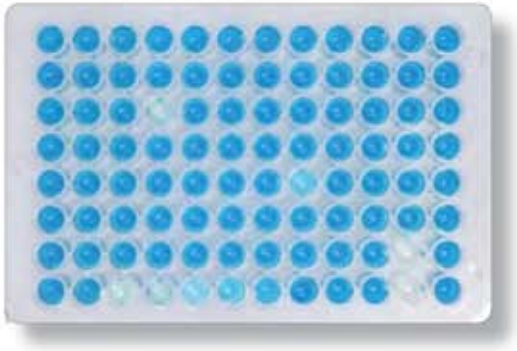
Согласно постановлениям ВОЗ, эффективность пероральной вакцинации против бешенства следует проверять путем выявления специфических антител, нейтрализирующих вирус. Однако стандартные методы, как FAVN или RFFIT, широко употребляемые для диагностики домашних животных, не очень подходят для диагностики диких животных, пробы которых могут оказаться токсическими или автолизированными.

На основании данной ситуации нами создана и валидизирована блокирующая проба ELISA для выявления антител G гликопротеина бешенства в лисьей сыворотке и других жидкостях тела. Данная проба является несложным, эффективным и надежным средством для регулярного использования в лаборатории.



Характеристика диагностического набора BioPro Rabies ELISA:

- Основан на блокирующей пробе ELISA для выявления антител
- Тест со 100%-ной чувствительностью – на панели негативных лисьих проб
- Тест со 95,5%-ной чувствительностью – по сравнению с методом FAVN, на панели исследуемой лисьей и собачьей сыворотки
- надежность – тест регулярно применяется в лабораторных условиях на протяжении нескольких лет
- независимость результата от породы животного – тест применяется для лисиц; испытание теста для енотов и собак пока не закончено
- пригоден для анализа разбавленных проб, благодаря своей высокой аналитической чувствительности
- прост в применении
- подходит как для ручного, так и для автоматического применения

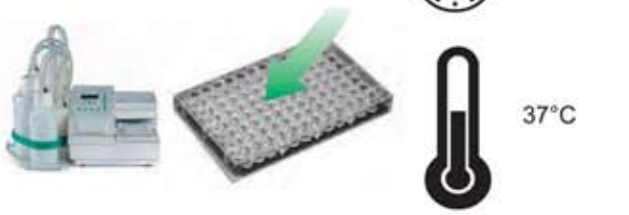


Пошаговая процедура:

1 100µл растворенных проб и контрольных веществ

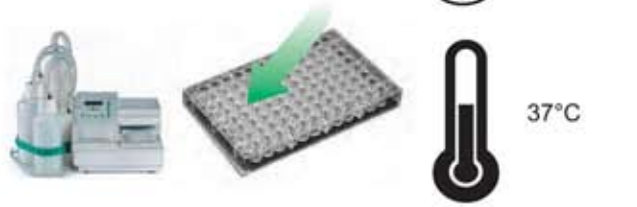
- развести пробы и контрольные вещества
- в пипетку набрать 100µл жидкости и значение на микропланшете
- инкубировать всю ночь (18-24 часов) при температуре 2-8°C

2 100µл биотинилизированных антител бешенства



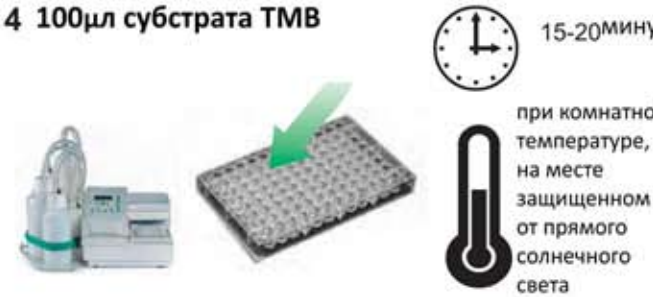
- промыть 6 раз
- добавить 100µл биотинилизированных антител бешенства
- инкубировать 30 минут при температуре 37°C

3 100µл конъюгата стрептавидин пероксидазы



- промыть 4 раза
- добавить 100µл конъюгата стрептавидин пероксидазы
- инкубировать 30 минут при температуре 37°C

4 100µл субстрата TMB



- промыть 4 раза
- добавить 100 µл субстрата TMB
- инкубировать 15-20 минут при комнатной температуре

5 50µл стоп-раствора

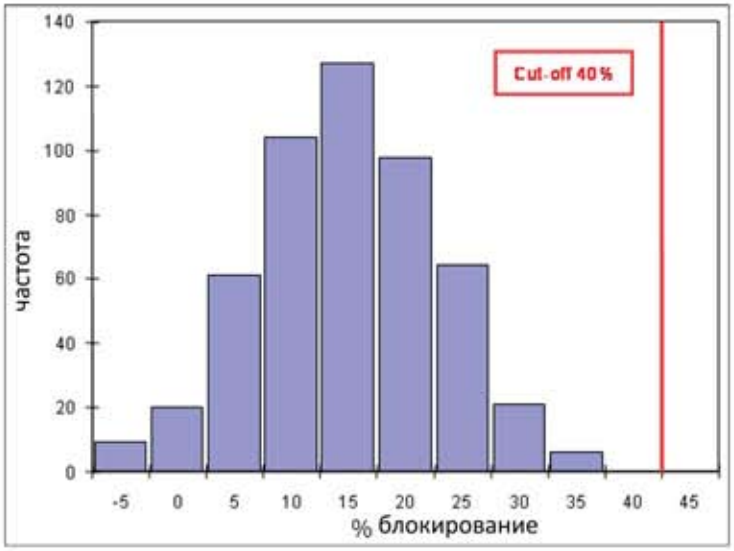
- добавить 50 µл стоп-раствора
- считывать значение на микропланшете на 450 нм
- рассчитать процентное значение блокировок (ПБ)
- Значение результатов:

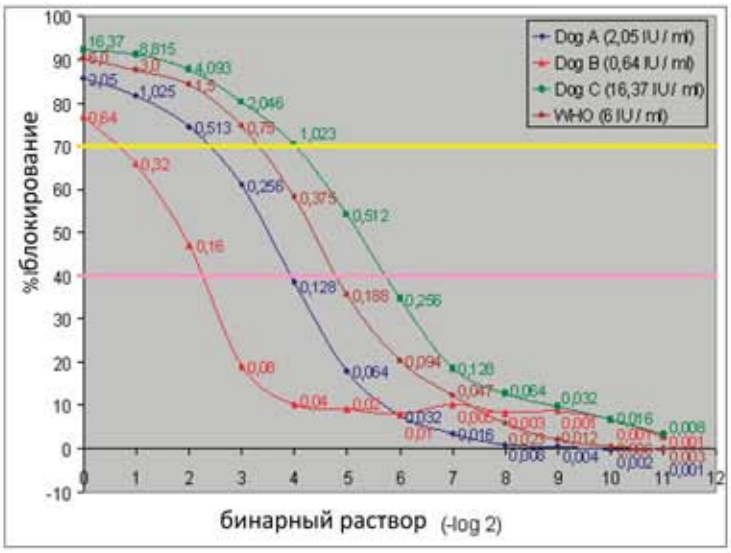
ПБ<40%	негативный результат
40% ≤ПБ<70%	положительный результат на антитела бешенства **(Ab+)**
ПБ≥70%	уровень антител равен или выше 0,5 IU/мл, на основе теста FAVN (**Ab≥0,5IU/мл**)

Положительный результат → нет окраски: Негативный результат → окраска есть

Наличие специфического антитела в составе пробы блокирует развитие цветной реакции.

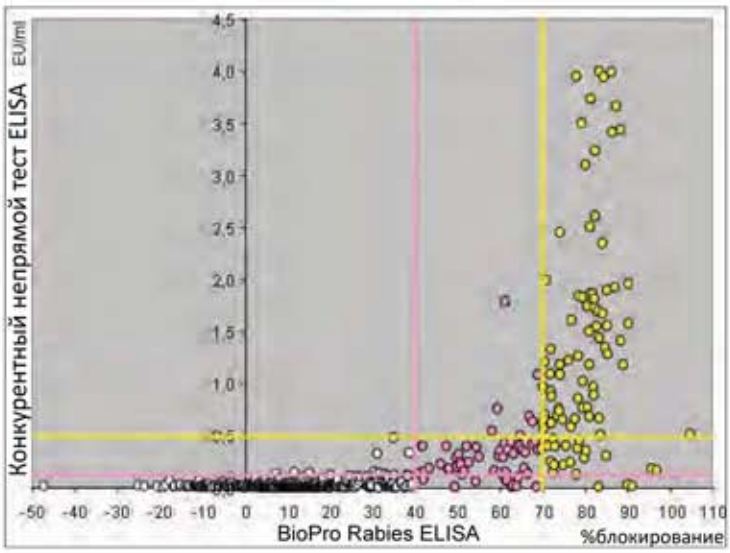
Специфичность:
Набор BioPro Rabies ELISA продемонстрировал 100%-ную специфичность на панели с 512 негативными пробами лисьей сыворотки и жидкостей тела.





Аналитическая чувствительность:
Набор BioPro Rabies ELISA продемонстрировал высокую аналитическую чувствительность, несмотря на начальный титр, что весьма важно именно для тестирования проб, полученных из тел диких животных в полевых условиях, так как такие пробы часто бывают разведенными.

Диагностическая чувствительность:
Сравнение набора BioPro Rabies ELISA с набором непрямого анализа ELISA, созданного конкурентной компанией, показало высокую корреляцию между обоими тестами ELISA.



	Негативный	Ab+	Ab≥0,5IU/ml
BioPro Rabies ELISA	410	59	91
Конкурентный непрямой тест ELISA	415	68	77

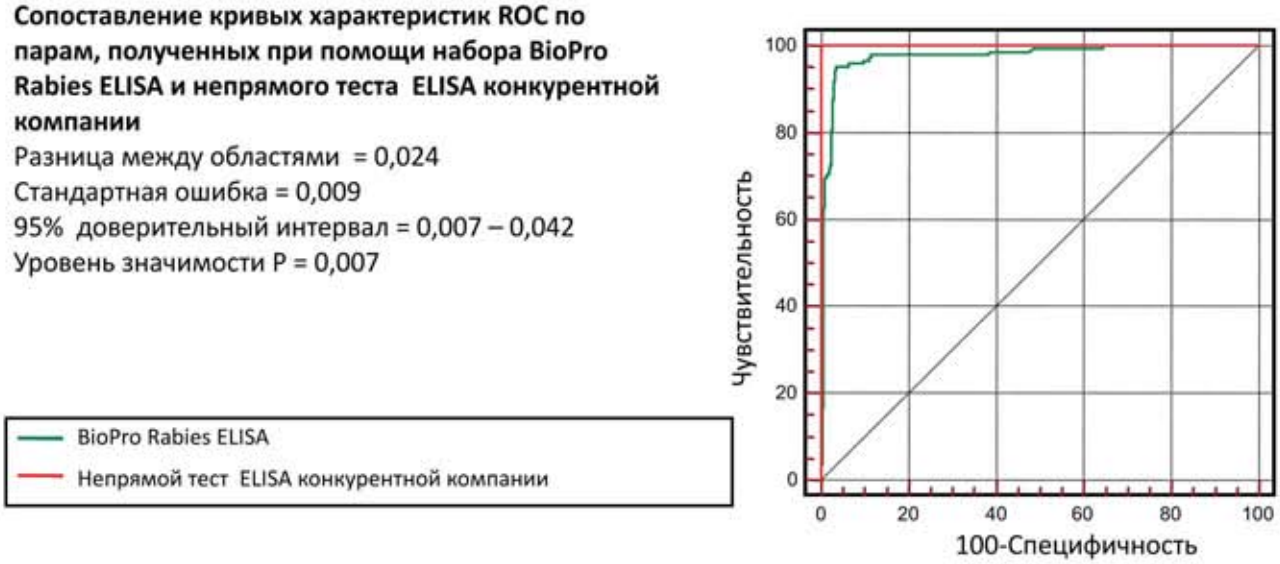
BioPro Rabies ELISA	Конкурентный непрямой тест ELISA	
Негативный 410	Негативный	402
	Ab+	8
	Ab≥0,5IU/ml	0
Ab+ 59	Негативный	10
	Ab+	43
	Ab≥0,5IU/ml	6
Ab≥0,5IU/ml 91	Негативный	3
	Ab+	17
	Ab≥0,5IU/ml	71

Сопоставление кривых характеристик ROC по парам, полученных при помощи набора BioPro Rabies ELISA и непрямого теста ELISA конкурентной компании показало, что:

- нет значимой разницы (p=0,055), если тест сравнивался с образцами (cut-offs) для уровня антител, равного или выше 0,5 IU/мл (**Ab≥0,5 IU/мл**), данные не указаны
- имеется значимая разница (p=0,007) если тест сравнивался с образцами (cut-offs) позитивных антител бешенства (**Ab+**), данные указаны ниже

Сопоставление кривых характеристик ROC по парам, полученных при помощи набора BioPro Rabies ELISA и непрямого теста ELISA конкурентной компании

Разница между областями = 0,024
Стандартная ошибка = 0,009
95% доверительный интервал = 0,007 – 0,042
Уровень значимости P = 0,007



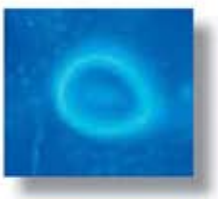
Пробы, тестируемые в рамках проверки эффективности пероральной вакцинации, часто не являются настоящей сывороткой, а жидкостью тела, в которой весьма трудно точно определить коэффициент растворения. Поэтому мы рекомендуем в целях расшифровки результатов пероральной вакцинации установить уровень образцов (cut-offs) для процентного значения блокировок в размере ≥40% (**Ab+**).

Информация о продукте:
Блокирующая проба ELISA для выявления антител бешенства в сыворотке или плазме

RAB 01-02 **Набор 2 стрип-микропланшето**
RAB CS-02 **Набор дополнительного контроль**
(1x 0,6 мл позитивный контрольный тест бешенства, 1x0,6 негативный контрольный тест бешенства, 1x0,3 мл контрольная сыворотка бешенства но. 1, 1x0,3 контрольная сыворотка бешенства но. 2, 1x0,3 контрольная сыворотка бешенства но. 3)
Срок хранения: 1 год после даты изготовления (при условии хранения при температуре 2-8°C.

Другие изделия: ОСТЕОТОМ
Прибор оснащен двумя парами дисковой пилы, созданной специально для нарезки тонких слоев из челюсти лисиц или других животных в целях проверки эффективности устной вакцинации против бешенства.

- параллельная резка двух слоев увеличивает производительность прибора
- охлаждение дисков водой
- пробы собираются в водном сосуде
- точное управление скоростью вращения
- управление прижимной силой при помощи передвижного груза (отдельно для каждого образца)
- толщина отрезанных слоев начиная с 0,3 мм
- прибор изготовлен из нержавеющей стали, следовательно, его очистка очень проста
- «брызговики», находящиеся над дисками, защищают от брызгающей воды для охлаждения



® O.K. SERVIS BioPro s.r.o.
www.rabieselisa.com

O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.
Bořetická 2668/1, 193 00 Praha 9 – Horní Počernice, Чешская республика
Тел: +420 281 091 460, Факс: +420 281 866 264, Адрес электронной почты: info@oks.cz
Представительство в Словацкой республике:
O.K.SERVIS BioPro SK, s.r.o. Bulharská 70, 821 04 Братислава, Словацкая республика
Тел: +421 243 634 967, Факс: +421 233 331 785, Адрес эл. почты: bratislava@oks.cz

Сертификация системы менеджмента качества в соответствии с ČSN EN ISO 9001:2001