

## BLUETONGUE VIRUS ANTI BODY TEST KIT, cELISA v2

### Descriere generala

Aceasta tehnica imunologica, competitiva(cELISA) detecteaza anticorpii virusului bolii limbii albastre in serum de rumegatoare. Probele de ser care contin anticorpi ai virusului bluetongue inhiba legarea anticorpilor monoclonali specifici virusului bluetongue cuplati cu peroxidaza (HRP) la antigenul viral care captureaza godeurile de plastic.

Legarea conjugatului, anticorpi monoclonali cuplati cu peroxidaza este detectata prin adaugarea substratului enzimatic si cuantificata prin dezvoltarea culorii. O dezvoltare puternica a culorii indica faptul ca legarea anticorpilor monoclonali cuplati cu peroxidaza a fost putin blocata sau deloc si totodata absenta anticorpilor virusului bluetongue in proba de ser. O dezvoltare slaba a culorii datorata blocarii legarii anticorpilor monoclonali la antigen pe faza solida indica prezenta anticorpilor anti virusul bolii limbii albastre in proba de ser.

### Kitul contine:

| Componente                     |         |
|--------------------------------|---------|
| A Placi captusite cu antigen   | 2 placi |
| B Control pozitiv              | 4 ml    |
| C Control negativ              | 4 ml    |
| D Conjugat anticorp-peroxidaza | 16 ml   |
| E Solutie substrat             | 30 ml   |
| F Solutie de stopare           | 30 ml   |

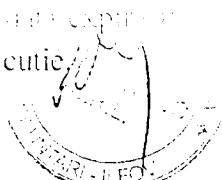
| Instructiuni de utilizare |
|---------------------------|
|---------------------------|

### Materiale necesare dar nefurnizate in set

Micropipete mono si multicanal cu volume ajustabile si varfuri din plastic sau placi de transfer necaptusite cu antigen, spectrofotometru pentru microplaci ELISA cu filtre de 620, 630 sau 650nm, apa distilata sau deionizata, prosoape de hartie , cronometru, recipienti pentru pipete multicanal, vase pentru spalare, dispozitiv pentru spalarea manuala sau automata a microplacilor.

### Depozitarea si stabilitatea

daca sunt pastrati conform instructiunilor. Nu utilizati setul dupa data expirarii tiparita pe cutie.



## **Prepararea:**

- a. Incalziti reagentii: aduceti probele de ser, reagentii si placile la temperatura camerei ( $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) inainte de inceperea testului.
- b. Pregatiti controlele si probele: Controlul pozitiv și negativ (B & C) și probă de testat trebuie să fie diluate 1/2 în Conjugat, un anticorp cuplat cu peroxidază (D) pentru utilizarea în acest test. Aceste diluții trebuie să se facă într-o placă de necăptușită cu antigen. Mai întâi, adăugați Conjugatul (D) în godeurile corespunzătoare ale plăcii de transfer, conform înregistrării de configurare. Adăugați în fiecare godeu un volum egal de Control pozitiv (B), Control negativ (C) sau de probă și mixați cu pipeta cel puțin de trei ori pentru a se amesteca. Schimbați varfurile între probe. Volumul din placă de transfer trebuie să fie mai mare de 50  $\mu\text{l}$  pentru a transfera 50  $\mu\text{l}$  din ea. Încărcați controlul pozitiv (B) în dublu exemplar și controlul negativ (C) în trei exemplare, indiferent de numărul de probe care urmează să fie testate. Când se folosesc plăci întregi, este mai bine să punete controalele pe diferite zone ale plăcilor. Controalele trebuie să fie pipetate de fiecare dată când testul este efectuat și pe fiecare placă dacă se utilizează mai multe plăci.
- c. Pregatiti placile: Scoateti placile din folie (A). Daca se poate: stripurile neutilizate se pot reintroduce in punga si sigila. Puneti stripurile pe care le veti folosi in cadrul din plastic si numarul de sus al fiecarui rand sa ramana orientat cum trebuie. Intotdeauna marcati randurile in cazul in care vor cadea din cadru in timpul spalarii.

## **Procedeul de testare:**

1. Pipatați controalele si probele serice: Folosind un pipetor setat la 50  $\mu\text{l}$ , încărcați martorii diluați și probele serice în placă acoperită cu antigen (A). Probele și controalele serice trebuie încărcate cât mai repede posibil în placă acoperită cu antigen (A). Schimbați varfurile între rânduri sau coloane. Atingeți de câteva ori partea laterală a plăcii captusita cu antigen (A) pentru a vă asigura că probele sunt pe fundul godeurilor. Utilizați cu grijă să nu vărsați probele dintr-un godeu în altul. Incubați placă timp de 30 de minute la temperatura camerei ( $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ).
2. Spalarea godeurilor : După incubarea de 30 de minute, spălați placă de 3 ori: Dacă se utilizează un spălător automat, placă se aşază pe aparatul de spălare și se spală placă de 3 ori, umplându-se de fiecare dată cu apă distilată sau deionizată. Dacă se utilizează spălare manuală, depozitați bine conținutul și îndepărtați serurile și controalele rămase prin lovirea bruscă a plăcii inversate de 4 ori pe un prosop de hârtie curat, lovind o zonă curată de fiecare dată. Imediat umpleti fiecare godeu cu apă distilată sau deionizată utilizând un dispozitiv de umplere multi-canál sau o sticlă de spălare. Goliți soluția de spălare de pe placă și loviți puternic placă inversată pe un prosop de hârtie curat, ca mai sus. Umpleți și goliți placă cu aceeași metodă de 2 ori suplimentar pentru un total de 3 spălări.
3. Adăugați soluția de substrat: Se adaugă 50  $\mu\text{l}$  de soluție de substrat (E) în fiecare godeu. Loviti de mai multe ori partea laterală a plăcii pentru a vă asigura că substratul acoperă fundul godeurilor. Incubați 10 minute la temperatura camerei ( $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ). Evitați lăsarea plăcii în lumina directă a soarelui.
4. Nu goliti godeurile.
5. Se adaugă soluția de stopare: se adaugă 50  $\mu\text{l}$  soluție de stopare (F) în fiecare godeu. Loviti de mai multe ori partea laterală a plăcii de testare încărcate pentru a amesteca soluția de substrat și

5. Citiți și înregistrați rezultatele testului: Imediat după adăugarea soluției de stopare, plăcuța trebuie citită pe un spectrofotometru de absorbanță cu microplăci. Setați densitatea optică (OD) și citiți la lungimea de undă 620, 630 sau 650 nm. Unele citiri au nevoie de un godeu gol pentru a bloca. În acest caz, nu trebuie adăugați reactivi în acest godeu.
6. Returnați toți reactivii kitului rămasi la 2-7 °C pentru depozitare.

#### **Calculul% inhibării (% I):**

$$\% I = 100 [1 - (DO \text{ proba} \div DO \text{ CN})]$$

#### **Validarea testului**

- Media controlului negativ (CN) trebuie să producă o densitate optică > 0.300 și < 2.000.
- Media controlului pozitiv trebuie să aibă o inhibare de  $\geq 60\%$ .

#### **Interpretarea rezultatelor**

- Dacă o probă de testat produce o inhibare  $\geq 60\%$ , este pozitivă.
- Dacă o probă de testat produce o inhibare  $<60\%$ , este negativă.

#### **Masuri de precautie**

Seturile din componente trebuie manipulate și aruncate ca potențial periculoase. Nu mâncați, nu beți sau nu fumați în cazul în care se folosesc probele serice și reactivii din kit. Nu pipetați cu gura. Anumiți reactivi pot fi dăunători dacă sunt inghititi. Dacă este inghitit, solicitați asistență medicală. Nu utilizați reactivi expirați sau contaminati sau reactivi din alte kituri sau serii. Nu amestecați reactivi din serii diferite ale aceluiași produs.

Componentul B, pozitiv, conține azidă de sodiu 0,09% ca și conservant.

Componenta C, control negativ, conține azidă de sodiu 0,09% ca și conservant.

Componenta D, conjugatul, un anticorp cuplat cu peroxidază, conține ProClin 300, metilizotiazolona și bromonitrodioxanul ca și conservanți.

Componenta F, Soluția de Stopare, conține florura de sodiu.

BTV ANTIBODY  
TEST KIT, cELISA  
v2

Antigen-Coated Plate  
96 wells  
Store @ 2-7°C  
Lot No P161202001A

A

TEST ANTICORP BTV, cELISA V2

Placi capturite cu antigen  
96 godeuri  
Depozitare @ 2-7°C  
Lot No P161202001A

A

BTV ANTIBODY TEST KIT, cELISA  
v2

Antibody Peroxidase Conjugate 16 ml  
Store @ 2-7°C  
Lot No P161202001J

FOR VETERINARY USE ONLY USE ONLY AS DIRECTED US Vet Lic No 322

D

TEST ANTICORP BTV, cELISA V2

Conjugat anticorp  
peroxidaza 16 ml  
Store @ 2-7°C  
Lot No P161202001J

FOR VETERINARY USE ONLY USE ONLY AS DIRECTED US Vet Lic No 322

D

BTV ANTIBODY TEST KIT, cELISA  
v2

Substrate Solution 30 ml  
Store @ 2-7°C  
Lot No P161202001M

FOR VETERINARY USE ONLY USE ONLY AS DIRECTED US Vet Lic No 322

E

TEST ANTICORP BTV, cELISA V2

Solutie substrat 30 ml  
Store @ 2-7°C  
Lot No P161202001M

FOR VETERINARY USE ONLY USE ONLY AS DIRECTED US Vet Lic No 322

E

BTV ANTIBODY TEST KIT, cELISA  
v2

Stop solution 30 ml  
Store @ 2-7°C  
Lot No P161202001S

FOR VETERINARY USE ONLY USE ONLY AS DIRECTED US Vet Lic No 322

F

TEST ANTICORP BTV, cELISA V2

Solutie stopare 30 ml  
Store @ 2-7°C  
Lot No P161202001S

FOR VETERINARY USE ONLY USE ONLY AS DIRECTED US Vet Lic No 322

F

BTV ANTIBODY TEST KIT, cELISA

2 ml  
Store @ 2-7°C  
Lot No P161202001A

C

TEST ANTICORP BTV, cELISA V2

Control negativ 4 ml  
Store @ 2-7°C  
Lot No P161202001N

C

vivid PO Box 502 • Pullman, WA 99163 USA  
[www.vivid.com](http://www.vivid.com)

BTV ANTIBODY TEST KIT, cELISA  
v2

Antigen-Coated Plate  
96 wells  
Store @ 2-7°C

B

vivid PO Box 502 • Pullman, WA 99163 USA  
[www.vivid.com](http://www.vivid.com)

TEST ANTICORP BTV, cELISA V2

Control pozitiv 4 ml  
Store @ 2-7°C  
Lot No P161202001P

B

Fe-17



Bluetongue Virus Antibody Test Kit, cELISA

Cod produs 5010.20  
Etichetă cutie pentru formatul de 2 plăci

**vmrd**  
Veterinary Medical  
Research & Development

DE UZ VETERINAR EXCLUSIV

Cod produs USDA 5010.20

BLUETONGUE VIRUS ANTIBODY TEST KIT, cELISA v2

CATALOG NR: 5010.20-2

SERIE NR:

DATA EXPIRARE:

PĂSTRARE LA 2-7°C

UTILIZAȚI DOAR CONFORM INDICAȚIILOR

LICENȚĂ VETERINARĂ U.S. NR.332

Cutia poștală 502

Pullman, WA 99163 SUA

|                                   |         |
|-----------------------------------|---------|
| A Microplăci căptușite cu antigen | 2 plăci |
| B Control pozitiv                 | 4ml     |
| C Control negativ                 | 4ml     |
| D Conjugat anticorpi-peroxidază   | 16ml    |
| E Soluție substrat                | 30ml    |
| F Soluție stopare                 | 30ml    |

Instrucțiuni de utilizare

Conține reagenți suficienți pentru 182 probe

P : 509.334.5815

[techserve@vmrd.com](mailto:techserve@vmrd.com)

F: 509.332.5356

[www.vmrd.com](http://www.vmrd.com)