

TestLine

Clinical
Diagnostics



EBLV Ab ELISA

Nr. Cat. EBL480



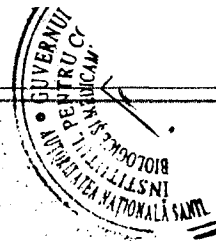
480

Kit pentru utilizare profesională

GMP

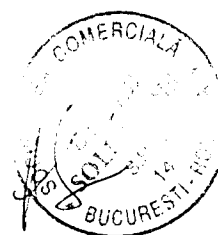
 TestLine Clinical Diagnostics S.r.l. Křížkova 68, 612 00 Brno, CZ Tel.: +420 541 248 311 FAX: +420 541 243 390 E-mail: info@testlinecd.com www.testlinecd.cz www.testlinecd.com		Veterinary Research Institute Hudecova 70/62, 32 Brno, CZ Tel.: +420 33 331 111 FAX: +420 541 21 029 E-mail: bo@telnet.cz www.vri.cz
--	---	--





Cuprins

1. Introducere	3
2. Principiul testării	3
3. Materiale furnizate	3
4. Alte materiale necesare pentru efectuarea analizei	4
5. Depozitare și stabilitate	4
6. Prepararea reactivilor	4
7. Prepararea probelor și a Serurilor de Control	5
9. Protocol de testare	6
10. Controlul calității	6
11. Calcularea și interpretarea rezultatelor	Eroare! Marcaj în document nedefinit.
12. Măsuri de siguranță	8
13. Observatii referitoare la procedura	Eroare! Marcaj în document nedefinit.
14. Simboluri Instrucțiuni de utilizare	10



Imunoanaliză enzimatică pentru detectarea anticorpilor împotriva virusului leucemic bovin în probe de ser individuale și comasate de sânge bovin

1. Introducere

Virusul Leucozei Enzootice Bovine (EBLV) face parte din familia *Retroviridae*. Leucoza Enzootică Bovină (EBL) este o boală infecțioasă a bovinelor. Virusul infectează în primul rând limfocitele B și determină o reacție persistentă a anticorpilor împotriva a cinci proteine virale. Cel mai puternic răspuns detectat al anticorpilor este fata de glicoproteina de suprafață gp-51 și proteina internă p-24. Numai aproximativ 11% din animalele infectate dezvoltă simptome de limfocitoză și limfosarcomatoză persistentă.

Tehnicile de diagnostic curente sunt bazate pe detectarea de anticorpi specifici. Metodele utilizate în mod obișnuit sunt testul de precipitare în gel de agar (AGPT) pentru a determina anticorpii din ser, ELISA sau RIA. Ca urmare a sensibilității și specificității ridicate, ELISA este utilizat pentru detectarea anticorpilor antivirali în serurile evaluate ca fiind negative prin AGPT. Această tehnică îndeplinește cerințele pentru testarea probelor comasate din aceste materiale cu o sensibilitate corespunzătoare cerințelor O.I.E (Directiva UE 88/406). Kitul este standardizat conform standardelor internaționale, inclusiv E05. Kitul detectează serul standard O.I.E. denumit E05 în diluție 1:100, permițând examinarea a zece probe grupate (pooled).

2. Principiul testării

Kitul este destinat pentru detectarea anticorpilor specifici dintr-o probă cu ajutorul unei metode EIA de tip sandwich (ex. fază solidă acoperită cu un antigen specific – anticorp din proba analizată – anticorp marcat). Anticorpul marcat (conjugat) este o fracție de imunoglobulină animală față de imunoglobulina bovină conjugată cu peroxidază de hrean. Activitatea peroxidazei este determinată în test printr-un substrat ce conține TMB. Pozitivitatea este indicată atunci când apare culoarea albastră; după adăugarea soluției de stopare, culoarea albastră devine galbenă. Intensitatea culorii galbene este măsurată cu ajutorul unui fotometru la 450 nm și este proporțională cu concentrația anticorpilor specifici din probă.

Antigenul utilizat

Antigen BLV purificat și activat ce conține p-24 (proteină internă)

3. Materiale furnizate

MICROPLATE	Placă Microtitrare	5 bucati
	acoperită cu antigen, 12x8 godeuri în ambalaj cu desicant	
NCS	Ser Control Negativ	1 x 0,4 ml
	ser bovin concentrat 10x, fără anticorpi specifici	
PCS-L	Ser Control Pozitiv - limită	1 x 0,4 ml
	ser bovin concentrat 10x, cu anticorpi specifici	
CONJUGATE	Conjugat	1 x 0,8 ml
	anticorpi anti- IgG bovină marcați cu peroxidază, concentrație 100x	



DILUENT 13	Diluant pentru Probă 13	
	Tampon cu stabilizatori de proteina, gata de utilizare	
CONJ.DILUENT 11	Diluant pentru Conjugat 11	1 x 70 ml
	Tampon cu stabilizatori de conjugat, gata de utilizare	
SUBSTRATE 5	TMB-Complete 5	1 x 60 ml
	Soluție de substrat cromogen, ce conține TMB/H ₂ O ₂ , gata de utilizare	
WASH 20x	Soluție de Spălare	2 x 60 ml
	tampon concentrat 20x	
STOP	Soluție de Stopare	1 x 60 ml
	Soluție acidă, gata de utilizare	
	Instrucțiuni de utilizare	1

4. Alte materiale necesare pentru efectuarea analizei

Pipete monocanal și multicanal
 Vârfuri de unică folosință
 Spălător microplacă
 Cronometru
 Agitator microplacă (nu este necesar la testarea unui număr mai mic de probe)
 Incubator (37°C) cu control de umiditate
 Cititor microplăci

5. Depozitare și stabilitate

Depozitați kitul la o temperatură cuprinsă între +2 °C și +8 °C. Nu congelați. Depozitat astfel, data de expirare indicată pe etichetă este validă (kitul este valabil timp de 24 de luni de la data fabricației). După deschidere kitul va fi utilizat în termen de trei luni.

Prepararea și depozitarea probelor

Pentru testare se utilizează probe de ser. Probele pot fi depozitate la o temperatură cuprinsă între +2 °C și +8 °C timp de 48 de ore. În cazul depozitării prelungite, temperatura de depozitare va fi de -20°C.

6. Prepararea reactivilor

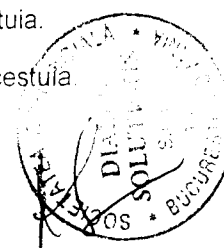
Diluati Soluția de Spălare 1:20, ex. 60 ml de Soluție de Spălare concentrată + 1140 ml de apă distilată (pentru 1 microplacă: 15 ml de Soluție de Spălare + 285 ml de apă distilată).

Este posibil ca în flaconul cu Soluție de Spălare să se formeze cristale de sare. Înainte de utilizare, este necesar ca aceste cristale să fie dizolvate prin încălzirea flaconului într-o baie de apă.

Soluția de Spălare diluată este stabilă la o temperatură cuprinsă între +2 °C și +8 °C timp de o săptămână.

Diluantul pentru Probe este gata de utilizare, nu este necesară diluarea suplimentară a acestuia.

Diluantul pentru Conjugat este gata de utilizare, nu este necesară diluarea suplimentară a acestuia.



Diluati Conjugatul 1:101 cu Diluant Conjugat. Adăugați Diluantul pentru Conjugat la 600 µl de Conjugat pentru a obține 60 ml de volum final (pentru 1 microplacă: 120 µl pentru a obține 12 ml, pentru o bareta: 10 µl pentru a obține 1 ml). Diluați Conjugatul cu maxim 10 minute înainte de utilizare. Amestecați bine.

TMB-Compleat este o soluție de substrat cromogen monocomponentă gata de utilizare, nu este necesară diluarea suplimentară a acesteia

Interschimbabilitatea reactivilor

Diluantul pentru Probă, Diluantul pentru Conjugat și TMB-Compleat sunt interschimbabile în kiturile EIA furnizate de TestLine Clinical Diagnostics s.r.o. Acestea dețin marcaj numeric identic (ex. Diluant pentru Probă 2, Diluant pentru Probă 3 etc). Soluția de Stopare și Soluția de Spălare sunt universale în toate kiturile.

7. Prepararea Probelor și a Serurilor de Control

Amestecați ușor Diluantul de Probă înainte de utilizare.

Diluarea probelor de ser și a Serurilor de Control

Diluati bine probele amestecate și Serurile de Control (PCS-L și NCS) 1:10 cu Diluantul pentru Probă.

Ex.: 10 µl de probă + 90 µl de Diluant pentru Probă

Diluati în godeurile microplacii (consultați punctul 8 Proceduri de analiză). Amestecați bine.

Probele diluate ar trebui să fie utilizate cât mai curând posibil.

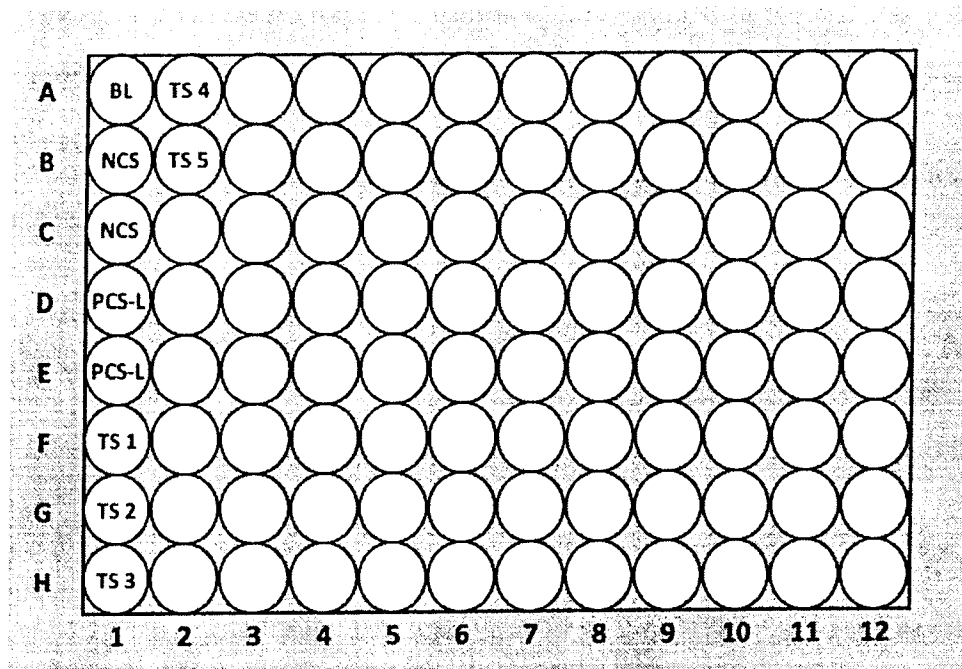
8. Proceduri de analiză

Așteptați ca toți reactivii să ajungă la temperatura camerei și agitați bine. Dacă nu utilizați toată microplaca, baretele nefolosite vor fi reamplasate în ambalajul cu desicant. Închideți bine ambalajul și depozitați la o temperatură cuprinsă între +2 °C și +8 °C. A se păstra în mediu uscat!

1. Distribuți controalele și probele diluate conform protocolului de testare.
 - Pipetați 100 µl din Diluantul pentru Probă în godeul A1 (blank)
 - Pipetați 90 µl de Diluant pentru Probă în celelalte godeuri.
 - Pipetați 10 µl de Ser Control Negativ în 2 godeuri (B1, C1)
 - Pipetați 10 µl de Ser Control Pozitiv- Limită în 2 godeuri (D1, E1)
 - Pipetați 10 µl de probe analizate în celelalte godeuri cu Diluantul pentru Probă (F1-H12)
 - Agitați bine (folosind agitatorul pentru microplaci)
2. Acoperiți microplaca cu capacul și incubați la 37°C timp de 60 de minute sau la o temperatură cuprinsă între +2 °C și +8 °C într-o cameră cu aer umed peste noapte (14-18 ore). Înainte de aspirare, incubați microplaca la temperatura camerei, timp de 15 minute.
3. Aspirați conținutul godeurilor și spălați de 4 ori cu Soluție de Spălare cu concentrația de lucru corespunzătoare. Umpleți godeurile până la margine. La final, răsturnați microplaca și tapotați-o ușor pe hârtie absorbantă pentru a îndepărta resturile de soluție.
4. Pipetați 100 µl de Conjugat la concentrație de lucru corespunzătoare în toate godeurile
5. Acoperiți microplaca cu capacul și incubați la 37°C timp de 30 de minute.
6. Aspirați conținutul godeurilor și spălați de 4 ori cu Soluție de Spălare de lucru. Umpleți godeurile până la margine. La final, răsturnați microplaca și tapotați-o ușor pe hârtie absorbantă pentru a îndepărta resturile de soluție.
7. Pipetați 100 µl de TMB-Complete în toate godeurile. Evitați contaminarea – consultați capitolul Note procedurale.
8. Acoperiți microplaca cu capacul și incubați la temperatura camerei timp de 15 de minute.
9. Opriti reacția adăugând 100 µl de Soluție de Stopare în aceeași ordine și la aceleași intervale la care a fost adăugat substratul.

10. Citiți intensitatea culorii din godeuri în raport cu godeul liber (A1) cu ajutorul fotometru setat la 450 nm. Absorbanța ar trebui să fie citită în interval de 30 de minute de la stoparea reacției. Observați formarea culorii albastre în special în godeurile cu Ser Control Pozitiv-limită (PCS-L). În cazul în care reacția este mai slabă, cauzată de exemplu de o temperatură mai scăzută în camera, prelungiți incubarea cu substratul până la 30 de minute. Stopați reacția atunci când intensitatea culorii PCS-L corespunde valorii de absorbanță 0,500 – 2,500

9. Protocol de testare



BL 100 µl Diluant pentru Probă (Liber)

NCS 100 µl diluat

PCS-L 100 µl diluat

TS 1-x 100 µl probă analizată diluată

10. Controlul calității

Analiza este validă dacă:

Absorbanța din godeul blank este mai mică decât 0,200.

BLANK < 0,200

Absorbanța Serului de Control Negativ este mai mică decât 1/3 ori din absorbanța Serului Control Pozitiv- limită

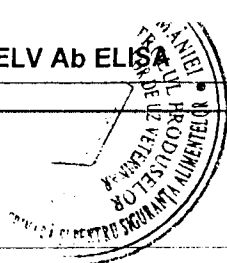
$$[NCS] < 1/3 \times [PCS-L]$$

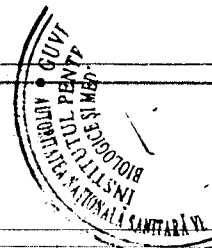
Absorbanța Serului de Control Pozitiv - limită se încadrează în intervalul 0,500 – 2,500.

$$0.500 < [PCS-L] < 2.500$$

Dacă nu sunt îndeplinite specificațiile de mai sus, testul nu este valid și trebuie repetat

ELV Ab ELISA





11. Calcularea si interpretarea rezultatelor

Calcularea raportului S/P

Împărțiți absorbanța probei testate la valoarea medie a absorbanței Serului de Control Pozitiv - limită (PCS-L), măsurată în aceeași rundă de analiză:

$$S/P = \frac{\text{Absorbance of sample}}{\text{Mean absorbance of PCS-L}} \times 100 [\%]$$

Legendă:

Absorbance of sample = absorbanță probă

Mean absorbance of PCS-L = valoare medie absorbantă PCS-L

Tabelul 1 Interpretarea rezultatelor analizei probelor mixe

S/P[%]	Evaluare
Mai mică de 30	negativ
Între 30 și 40	la limită
Mai mare sau egal cu 40	pozitiv

În cazul rezultatelor la limită examinarea va trebui repetată. Colectați și analizați o nouă probă.

Tabelul 2 Interpretarea rezultatelor analizei probelor individuale

S/P[%]	Evaluare
Mai mică de 40	negativ
Mai mare sau egal cu 40	pozitiv

Rezultatele la limită nu pot fi utilizate pentru probele individuale

12. Măsuri de siguranță

Kitul servește numai la diagnosticarea *in vitro*.

Serurile, Conjugatul, Diluantul pentru Probă, Diluantul pentru Conjugat și alte materiale ce intră în contact cu probele analizate vor fi manipulate ca potențial infecțioase.

Unii reactivi conțin azidă de sodiu, care este un compus toxic. Evitați contactul cu pielea.

Soluția de Stopare conține soluție de acid diluată. Evitați contactul cu ochii și cu pielea!

Este necesară respectarea regulilor și reglementărilor locale cu privire la siguranță.

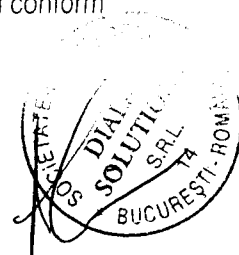
În caz de contact cu ochii, spălați cu multă apă și consultați medicul. În caz de contact cu pielea și cu îmbrăcămintea, îndepărtați toate hainele contaminate. Spălați pielea cu săpun și cu multă apă curată. În caz de contact cu soluție ce conține ser, dezinfecțați pielea. În caz de ingerare accidentală clătiți gura cu apă potabilă și consultați medicul.

Eliminarea resturilor

Toate materialele utilizate la efectuarea analizei vor fi tratate ca potențial infecțioase, ca urmare a contactului cu materiale biologice. Prin urmare, vor fi eliminate împreună cu deșeurile biologice.

Eliminarea unui kit expirat

Dezasamblați kitul și eliminați componentele ca materiale biologice. Eliminați ambalajul conform reglementărilor locale.



13. Observatii referitoare la procedura

Pentru obținerea unor rezultate fiabile este necesară **respectarea cu strictețe a următoarelor Instrucțiuni de utilizare**. Vârfurile și articolele de sticlă folosite vor fi întotdeauna curate sau, preferențial, vor fi de unică folosință.

Lamele – pentru a împiedica condensarea apei pe suprafața microplăcii, permiteți întotdeauna ca ambalajul care conține microplaca să se încălzească la temperatura camerei înainte de utilizare.

Soluția de Spălare – pentru prepararea Soluției de Spălare de lucru utilizați apă distilată de calitate ridicată.

Procedura de spălare – respectați numărul de cicluri de spălare specificat și umpleți godeurile până la marginea de sus.

TMB-Complet – vasul utilizat pentru pipetarea cu pipeta multicanal nu va fi utilizat pentru alți reactivi. Nu distribuiți surplusul de TMB-Complet din vasul de pipetare înapoi în flacon.

Rezultatele nereproductibile ar putea fi cauzate de utilizarea de metodologii necorespunzătoare, precum:

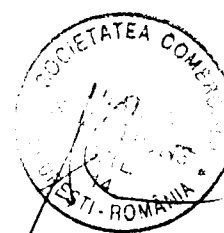
- Amestecarea insuficientă a reactivilor și probelor înainte de utilizare
- Închiderea necorespunzătoare a flacon
- Utilizarea aceluiași vârf pentru pipetarea de reactivi diferiți
- Expunerea reactivilor la temperaturi excesive; contaminare bacteriană sau chimică
- Spălarea insuficientă sau umplerea insuficientă a godeurilor (godeurile ar trebui să fie umplute până la marginea de sus), aspirarea necorespunzătoare a resturilor de Soluției de Spălare
- Contaminarea marginilor godeurilor cu Conjugat sau cu probe
- Utilizarea de reactivi din kituri provenite din loturi diferite
- Contactul reactivilor cu oxidanți, metale grele și sărurile aferente.

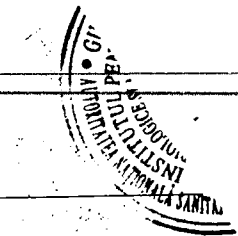
Kitul ar putea fi utilizat pentru examinări secvențiale. La prepararea de soluții de lucru utilizați numai cantitatea de reactivi necesară pentru analiză.

Kitul ar putea fi utilizat cu toate tipurile de analizoare EIA automate.

Dacă este necesar, TestLine Clinical Diagnostics s.r.o. poate oferi o modificare autorizată a Instrucțiunilor de utilizare pentru tipul de analizor specific.

Producătorul nu poate garanta funcționarea corespunzătoare a kitului dacă nu sunt respectate cu strictețe instrucțiunile cu privire la procedura de efectuare a analizei.





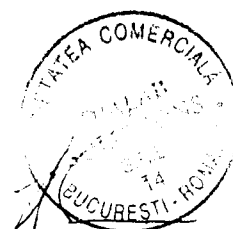
14. Simboluri Instrucțiuni de utilizare

	Limite temperatură
	A se păstra în mediu uscat
	Data expirare
	Număr lot
	Fabricat de
	Consultați instrucțiunile
	Număr catalog
	Număr de teste
	Bune practici de fabricație



Rezumat protocol EBLV Ab ELISA

Nr. pas	Simbol	Pași analiză
1		Pipetați Diluant pentru Probă Godeul Blank – 100 µl Alte godeuri – 90 µl
2		Pipetați Controale și probe nediluate - 10 µl Godeul Blank – godeu gol
3		- Incubați la 37°C timp de 60 de minute - Incubați la o temperatură cuprinsă între +2 °C și +8 °C peste noapte (14-18 ore)
4		Aspirați și spălați godeurile de 4 ori
5		Pipetați Conjugat - 100 µl Inclusiv Godeul Blank
6		Incubați la 37°C timp de 30 de minute
7		Aspirați și spălați godeurile de 4 ori
8		Pipetați Substrat (TMB-Complete) - 100 µl Inclusiv Godeul Blank
9		Incubați la temperatura camerei timp de 15 de minute
10		Pipetați Soluție de Stopare - 100 µl Inclusiv Godeul Blank
11		Citiți intensitate culoare la 450 nm



INSTITUTUL
TEHNOLOGIC
SANTARA VET
BUCURESTI



Fato



EBVL Ab ELISA 480

REF EBL480

LOT 0100019002

 2018-05

Σ 480



GMP

(240)000004540(10)0100019002(02)08595635302596(17)180531



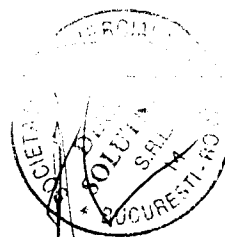
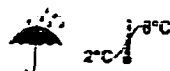


LOT 0100019501

2018-11

GMP

MICROPLACĂ





EBLV

LOT 0100019503

NCS

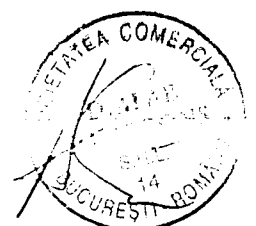


2018-11

GMP

0,4 ml

2°C





EBLV

LOT

0100019504



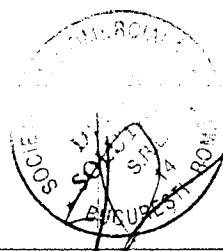
2018-11

PCS-L

GMP

0,4 ml

2°C - 8°C





EBLV

CONJUGAT

0,8 ml

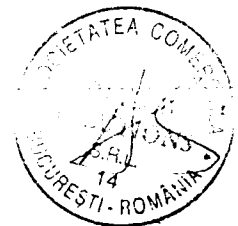
LOT 0100019505



2018-11

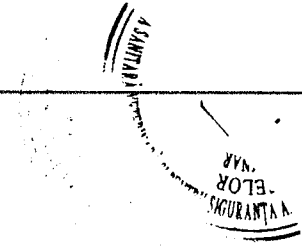
GMP

2°C





EIA



LOT 0100019005



2018-12

GMP

DILUANT 13

240 ml



1/5°C
2°C





EIA

LOT 0100019005



2018-12

GMP

DILUANT 13

240 ml



rc 18c





LOT 0100019007

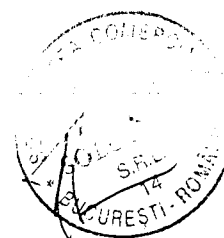


2019-01

GMP

CONJ. DILUANT 11

70 ml



TestLine

EIA

LOT 0100019012



2018-05

GMP

SUBSTRAT 5

60 ml

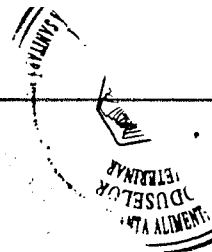


20°C





EIA



LOT 0100019025



2018-08

GMP

SPĂLARE 20x

60 ml



2°C 8°C



TestLine

EIA

STOP

60 ml



Pericol

LOT



GMP

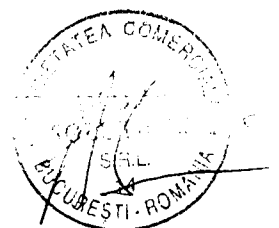
0100019026

2018-10

2°C / 8°C



TestLine Clinical Diagnostic s.r.o. +420 549 121 239
Křížkova 188/68, 612 00 Brno-Královo Pole, Czech Republic

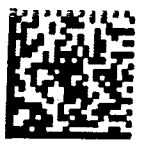


AAI VETERINARII SI PENTRU SIGURANTA

EBVL Ab ELISA 480

MICROPLACĂ	5 x 96	LOT	0100019501
NCS	1 x 0,4 ml	LOT	0100019503
PCS-L	1 x 0,4 ml	LOT	0100019504
CONJUGAT	1 x 0,8 ml	LOT	0100019505
DILUANT 13	1 x 240 ml	LOT	0100019005
CONJ. DILUANT 11	1 x 70 ml	LOT	0100019007
SUBSTRAT 5	1 x 60 ml	LOT	0100019012
SPĂLARE 20x	1 x 60 ml	LOT	0100019025
STOP	1 x 60 ml	LOT	0100019026

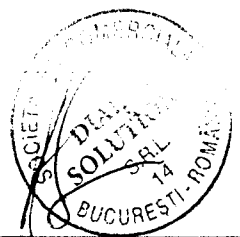
REF EBL480

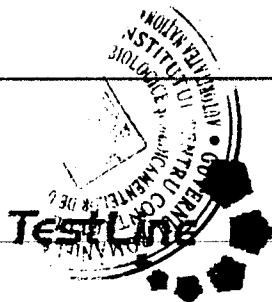


LOT 0100019002



2018-05





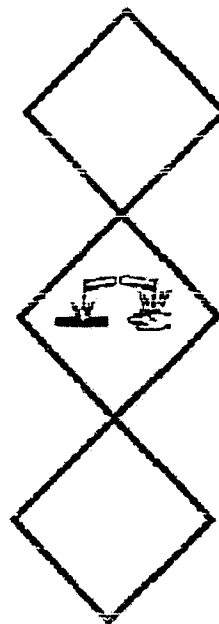
www.testlinecd.com

STOP

Conținut: Acid metansulfonic

Pericol

Eliminați conținutul recipientului conform reglementărilor locale. Cauzează arsuri grave ale pielii și leziuni oculare. Purați mănuși de protecție/echipament de protecție/protecție pentru ochi. ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau cu părul): Scoateți imediat tot echipamentul contaminat. Clătiți pielea cu apă/duș. ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă timp de câteva minute. Scoateți lentilele de contact, dacă acestea există și sunt ușor de scos/ Continuați să clătiți. Tratament specific (consultați această etichetă). Depozitați sub cheie.



TestLine Clinical Diagnostic s.r.o. ☎ +420 549 121 239
Křižíkova 188/68, 612 00 Brno-Královo Pole, Czech Republic



