

S.C. NOVA GROUP INVESTMENT S.R.L.
J40 / 6000 / 2001 , CUI : RO13986464

Str. OITUZ, nr 47 C , OTOPENI, Jud. ILFOV , ROMANIA
Tel : +(4 031)425.35.15, Fax: +(4 031) 425.35.16
www.vetlab.ro ; E-mail: info@novagroup.ro



Kit de detecție a anticorpilor Diareei Virale Bovine (BVDV) la bovine

HerdChek * BVDV Ab

Denumire și Utilizare

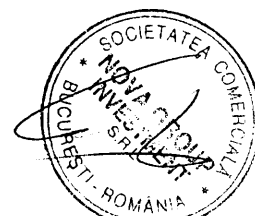
HerdCheck BVDV (Ab) este un kit produs de IDEXX pentru detecția anticorpilor anti BVDV în prob de ser, plasmă și lapte.

Informații Generale

Virusul Diareei Virale Bovine, virusul Bolii Border (de Graniță) și virusul Pestei Porcine Clasice sunt 3 membri ai genului Pestivirus din familia Flaviviridae. BVDV este unul din cei mai importanți virus patogeni pentru bovine, cauzând pierderi considerabile în efectivele de taurine de lapte și carne, în toată lumea. Simptomele tipice pentru infecția cu BVDV sunt diareea, febra, urmate de reducerea producție de lapte. Efectul imunosupresant al virusului poate determina prin consecință infecții secundare cu diverși agenți patogeni. Virusul traversează placenta inducând avorturi, fătare de produși neviabili sau produși ce mor de timpuriu. O parte din vițeele ce supraviețuiesc infecției devin imunotoleranți și vor secreta o cantitate impresionantă de virus pentru toată viața. Este important să se identifice aceste animale purtătoare pentru a „rupe” ciclul viral din efectivele contaminate. Animalele purtătoare de cele mai multe ori mor în primii doi ani de viață datorită bolii mucoaselor. Ca urmare a infectării in utero, BVDV este un contaminant frecvent al produselor biologice, cum ar fi vaccinurile sau produse farmaceutice. Virusul Diareei Virale Bovine determină sindroame similare la ovine, în timp ce virusul Pestei Porcine Clasice determină pierderi importante în efectivele de suine fiind înalt patogen și implicit determinând mortalitate ridicată. Toate pestivirusurile se pot identifica la bovine. Acest kit este destinat diagnosticului exclusiv „in vitro”.

Descriere/Principiu

HerdChek BVDV Ab este o metodă imunoenzimatică indirectă de detecție a anticorpilor anti BVDV (Ac) în probe de ser, plasmă sau lapte provenite de la bovine. Un format de placă de microtitrare căptușită cu antigen viral a fost conceput pentru detecția anticorpilor. Anticorpilor prezenți în probă se vor lega de antigenul viral capturat pe placă. După incubarea probei în godeu, anticorpilor anti BVDV sunt detectați de către conjugatul marcat cu peroxidază. Conjugatul nelegat la complexul antigen-anticorp este îndepărtat la etapele de spălare, după care este adăugată o soluție de substrat/cromogen. În prezența enzimei, substratul este convertit într-un compus ce reacționează cu cromogenul pentru a genera o culoare albastră. După adăugarea soluției de stopare, culoarea devine galbenă. Absorbanța culorii generate se va citi la o lungime de undă de 450nm (A450) sau la o lungime de undă duală 450nm respectiv 650nm, utilizând un spectrofotometru. Raportul Probă/ Control Pozitiv este calculat utilizând absorbbanțele obținute la 450 respectiv dual la 450 și 650nm, corectate pentru absorbbanța controlului negativ. Culoarea dezvoltată indică prezența anticorpilor în proba testată.



Reagenți

Toți reagenții se păstrează la 2-8°C

1. Plăci de microtitrare/Stripuri căptușite cu antigen BVDV
2. Control Pozitiv
3. Control Negativ
4. Conjugat marcat cu peroxidază
5. Diluant pentru probe
- A. Soluție de spălare concentrată (10X)
- B. Soluție substrat TMB
- C. Soluție Stopare

5 plăci

1ml

1ml

60ml

60ml

480ml

60ml

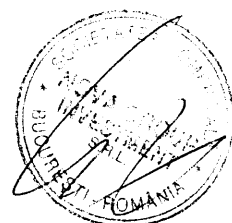
60ml

Materiale necesare dar nefurnizate în kit

- Pipete calibrate, automate, multicanal cu volume cuprinse între 10-1000μl;
- Vârfuri de pipetă de unică folosință;
- Cilindru gradat de 500ml;
- Cititor de plăci cu 96 godeuri;
- Apa distilată sau deionizată;
- Recipient special pentru soluțiile aspirate;
- Recipient pentru deșeuri contaminante;
- Cameră umedă sau folii de sigilare a plăcilor;
- Vortex;
- Centrifugă cu capacitatea de 2000g;

Precauții și avertismente pentru utilizatori

- Manipulați materialele având în vedere potențialul contaminant;
- Nu pipetați cu gura;
- Nu mâncați, nu beți și nu fumați atunci când maneveți probe și reagenții;
- Soluția substrat este iritantă pentru ochi, sistemul respirator și pielea. Evitați contactul cu ochii;
- Nu expuneți soluția TMB la lumină puternică sau agenți oxidanți. Maneveți soluția TMB utilizând recipiente de sticlă sau plastic;
- Stocați toți reagenții la 2-8 °C. Aduceți reagenții la temperatura camerei (18-25°C) înainte de utilizare și înapoi la frigider după utilizare;
- Toate reziduurile trebuie decontaminate înainte de aruncare;
- Trebuie evitată contaminarea componentelor kitului;
- Nu utilizați componente expirate și nu utilizați reagenți din kituri diferite;
- Rezultate optime se obțin prin aplicarea strictă a protocolului de lucru. Pipetarea corectă, respectarea timpilor de incubare și a etapelor de spălare sunt obligatorii pentru a realiza un test corect;
- Ambele controale trebuie utilizate pentru fiecare set de testare;
- Utilizați numai apă distilată sau deionizată;
- Stripurile neutilizate se plasează în pungă de aluminiu și se păstrează la 2-8 °C;
- Acest kit este exclusiv de uz veterinar;



Prepararea Reagentilor

Soluția de spălare

Soluția de spălare concentrată de 10X se echilibrează la temperatura camerei și se agită pentru a dizolva sărurile precipitate. Soluția concentrată se diluează 1 parte la 10 părți apă distilată/deionizată înainte de utilizare (ex. 30ml soluție concentrată cu 270ml de apă pentru o placă). Dacă soluția 1X este preparată în condiții sterile aceasta poate fi păstrată o săptămână la 2-8°C.

Probele

Probele proaspete sau congelate de ser, plasmă sau lapte se utilizează în acest test. Probele integrale de lapte trebuie centrifugate pentru 15 minute la 2000 rotații sau se vor lăsa peste noapte la 2-8°C. Nu se face nici o pregătire în cazul probelor degresate.

Protocol de testare

Toți reagenții se aduc la temperatura camerei pentru echilibrare termică 18-25°C. Aceștia se vor omogeniza prin mișcări ușoare sau pe vortex. Se va folosi un vârf de pipetă pentru fiecare probă.

Probele de ser sau plasmă

1. Se scoate placa din folia protectoare, se marchează pe fișa de lucru poziția probelor pe placă;
2. Se pun 100μl de probă în fiecare godeu. La această etapă poate fi folosită o pipetă multicanal cu 8-12 canale;
3. Se pipetează 25μl control negativ în godeurile destinate;
4. Se pipetează 25μl control pozitiv în godeurile destinate;
5. Se pipetează 25μl de probă în godeurile rămase disponibile; pentru fiecare probă se va folosi un nou vârf de pipetă. Se continuă cu pasul 6 din Protocolul de Testare.

Probele de lapte

1. Se scoate o placă din folia protectoare, se marchează pe fișa de lucru poziția probelor pe placă;
2. Se pipetează 100μl de diluant de proba numai în godeurile în care se găsesc controalele;
3. Se pipetează 25μl de control negativ;
4. Se pipetează 25μl de control pozitiv;
5. Se pipetează 100μl lapte nediluat (partea de sub stratul de grăsime) în godeuri. Se continuă cu pasul 6 din Protocolul de Testare.

Procedura comună de testare pentru probele de ser, plasmă și lapte

6. Conținutul godeurilor se omogenizează ușor - se bate ușor placa cu mâna - sau pe vortex;
 7. Se incubează pentru 90 de minute la temperatura camerei (18-25°C) sau peste noapte (12-18 ore) la frigider (2-8°C).
- Protocolul cu timpul de incubare peste noapte este recomandat pentru comasatele de lapte. Indiferent de protocol, placa se va sigila pentru a se evita uscarea acesteia;
8. Conținutul godeurilor este aspirat și se elimină într-un recipient de deșeuri;
 9. Fiecare godeu se spală cu aproximativ 300μl de soluție de spălare, de 5 ori.



Conținutul godeurilor se elimină după fiecare spălare. După ultima spălare și respectiv eliminare a conținutului, placa se scutură bine pe o hârtie de filtru pentru a nu rămâne nici o urmă de lichid. Evitați uscarea plăcii între etapele de spălare și înainte de adăugarea următorului reagent.

10. Adăugați 100μl de conjugat în fiecare godeu;

11. Incubați pentru 30 de minute la temperatura camerei (18-25 °C);

12. Repetați etapele 8 și 9;

13. Adăugați 100μl TMB în fiecare godeu;

14. Incubați 10 minute la temperatura camerei (18-25 °C) la întuneric. Începeți cronometrarea după ce primul godeu a fost umplut;

15. Adăugați 100μl de soluție de stopare în fiecare godeu pentru a stopa reacția. Soluția de stopare va fi adăugată în același ordine ca și substratul, etapa 13;

16. Citirea la spectrofotometru se va face față de aer;

17. Măsurati și înregistrați absorbbanțele obținute la 450nm sau la o lungime de undă duală de 450 nm respectiv 650nm.

18. Calculați rezultate.

Rezultatele

Pentru ca metoda să fie validată, diferența dintre media densității optice a controlul pozitiv și cea a controlului negativ trebuie să fie mai mare sau egală cu 0.150. Mai mult, media densității optice a controlului negativ trebuie să fie mai mică sau egală cu 0.250. Pentru rezultate invalidate, trebuie să se suspecteze o tehnica defectuoasă iar testul se va repeta urmărind cu atenție protocolul de lucru. Prezența sau absența anticorpilor anti BVDV în probă este exprimată prin raportul Probă/Control Pozitiv pentru fiecare probă.

Vezi modelul de calcul.

NOTA : IDEXX Laboratories deține aparatura și software-ul pentru a se calcula mediile cât și raportul Probă/ Control Pozitiv .

Calculul

Calculul mediei Controlului Negativ (NCx)

$$NCx = \frac{NC1A_{450} + NC2A_{450}}{2}$$

Exemplu:

$$\frac{0.140 + 0.120}{2} = 0.130$$

Calculul mediei Controlului Pozitiv (PCx)

$$PCx = \frac{PC1A_{450} + PC2A_{450}}{2}$$

Exemplu :

$$\frac{1.380 + 1.400}{2} = 1.390$$

Calculul Probelor

$$S/P = \frac{\text{Probă}(A_{450}) - NCx(A_{450})}{PCx(A_{450}) - NCx(A_{450})}$$

Exemplu rezultat probă 0.750

$$S/P = \frac{1.075 - 0.130}{1.390 - 0.130} = 0.750$$

Interpretarea rezultatelor

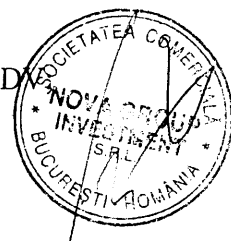
Ser, plasmă, probe de lapte individuale

1. Probe cu un raport S/P mai mic de 0.20 sunt clasificate ca **negative**;
2. Probe cu un raport S/P este mai mare sau egal cu 0.20, dar mai mic de 0.3 sunt clasificate ca dubioase. Animalele trebuie retestate.
3. Probe cu un raport S/P mai mare sau egal de 0.30 sunt clasificate ca pozitive;

Probe comasate de lapte

1. Probe cu un raport S/P mai mic de 0.20 sunt clasificate ca negative pentru BVDVAb;
2. Probe cu un raport S/P mai mare sau egal de 0.20 sunt clasificate ca pozitive pentru BVDVAb

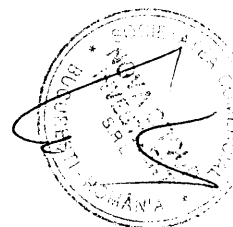
HerdChek BVDV Ab

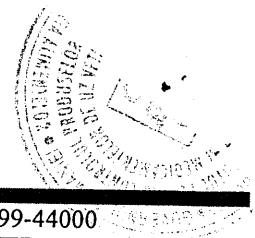


ETAPA	ACȚIUNE			
1.Prepararea probelor și repartizarea lor	Probe de ser sau plasmă - plasarea plăcilor căptușite pe masa de lucru și înregistrarea poziției controalelor și a probelor; - adăugarea a 100μl de diluant pentru proba în fiecare godeu; la acest pas se pot utiliza pipetele multicanale de 8-12 canale; - adăugarea a 25 μl control negativ în godeurile destinate; - adăugarea a 25 μl control pozitiv în godeurile destinate; - adăugarea a 25 μl de probă în restul godeurilor; pentru fiecare proba se va utiliza un alt vârf de pipetă Probe de lapte - plasarea plăcilor căptușite pe masa de lucru și înregistrarea poziției controalelor și a probelor; - adăugarea a 100 μl de diluant pentru proba numai în godeurile pentru controalele pozitiv respectiv negativ; - adăugarea 25 μl de control negativ în godeurile corespunzătoare; - adăugarea a 25 μl de control pozitiv în godeurile corespunzătoare; - plasarea a 100μl de lapte nediluat (obținut din stratul de sub stratul de grăsime) în godeurile rămase libere; - conținutul godeurilor se omogenizează prin bătăi ușoare ale plăcii cu mâna;			
2. Incubarea probei	- placa se incubează 90 de minute la temperatura camerei (18-25 °C) sau peste noapte (12-8 ore) în frigider (2-8 °C). Protocolul de incubare peste noapte este recomandat pentru comasate de probe de lapte. La ambele protocoale, plăcile se vor sigila pentru evitarea uscării acestora sau se vor depozita într-o incintă umedă.			
3.Spălarea plăcii	- lichidul din godeuri se îndepărtează și se depozitează într-un recipient de reziduuri;	- fiecare godeu se va spăla cu aproximativ 300μl de soluție de spălare de 5 ori; lichidul de spălare din godeuri se aspiră de fiecare dată; evitați uscarea plăcii între spălări și înaintea următoarei etape; după ultima spălare, placa se va scutura ferm pe o hârtie de filtru pentru îndepărtarea oricărei urme de lichid;		
4.Adăugarea conjugatului	- se adaugă 100μl conjugat în fiecare godeu;			
5. Incubarea cu conjugatul	- placa se va incuba 30 de minute la temperatura camerei (18-25 °C);			
6. Repetarea etapei 3				
7. Adăugarea substratului	- se distribuie 100μl substrat în fiecare godeu;			
8. Incubarea cu substratul	- placa se incubează 10 minute la temperatura camerei (18-25 °C) la întuneric; începeți să cronometrați după ce primul godeu a fost umplut;			
9. Stoparea reacției	- se adaugă în fiecare godeu 100μl de soluție de stopare; aceasta se adaugă în aceeași ordine ca și substratul (etapa 7);			
10. Măsurarea/citirea plăcii	- blank față de aer;			- se măsoară și se înregistrează absorbanta probelor și a controalelor la 450nm sau la o lungime de bandă duală de 450nm și 650nm ;
11. Interpretare (S/P)	Ser, plasmă, lapte individual	< 0,20	≥ 0,20 până la < 0,30	≥ 0,30
		negativ	suspect	pozitiv
	Lapte comasat	< 0,20	≥ 0,20	
		negativ	pozitiv	

PRODUS DE: IDEXX Switzerland AG Stationsstrasse 12 3097 Liebfeld –Bern, Elveția	Asistenta tehnica Contactati distribuitorul IDEXX din tara d-voastra sau vizitati : <u>www.idexx.com/production/contact</u> IDEXX U.S. Technical Support: 00-800-727-43399
--	---

*CHEKIT este marcă înregistrată a IDEXX Laboratories, Inc. în Statele Unite și/sau alte țări.





5 pl /kit	BVDV Ab	Art. Nr 99-44000
-----------	----------------	------------------

HerdChek* Kit de detecție anticorpi Diaree Virală Bovină (BVDV)
Pentru utilizare pe seruri, plasmă sau lapte.
Diagnostic in vitro. Pentru uz veterinar exclusiv.

IDEXX
LABORATORIES

Conservare la 2-8°C		LOT
Distribuit de : IDEXX Europe B.V, P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda, Tel +31-(0)23 558 7000, FAX +31- (0)23 558 7233		
Producător: IDEXX Switzerland AG, Stationsstrasse 12, CH- 3097 Liebefeld -Bern, Elveția, Tel.+41. 31.970.62.60; Fax+41.31.970.62.79		
* HerdChek este marcă înregistrată a IDEXX Laboratories, Inc. în Statele Unite și/sau alte țări.		

	BVDV Ab	Lot
HerdChek®	5 x BVDV Ab Plăci de testare	
IDEXX LABORATORIES	1 x 1ml Control pozitiv	
	1 x 1ml Control Negativ	
	1 x 60ml Conjugat HRPO	
	1 x 60ml Diluant probe	
	1 x 480ml Soluție de spălare concentrată 10x	
	1 x 60ml Substrat TMB	
	1 x 60ml Soluție de stopare	
Conservare la 2-8°C		LOT

HerdChek®	BVDV Ab	Art. Nr.
IDEXX LABORATORIES	Placă de testare	
	Diagnostic in vitro.	
1	Plăci căptușite cu Antigen BVDV /godeuri monofazic	
	Conservare la 2-8°C	LOT

Distribuit de: IDEXX Europe B.V, P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda, Tel +31-(0)23 558 7000, FAX +31- (0)23 558 7233
Producător: IDEXX Switzerland AG, Stationsstrasse 12, CH- 3097 Liebefeld -Bern Elveția Tel.+41. 31.970.62.60; Fax+41.31.970.62.79



HerdChek®

BVDV Ab

60 ml

Art. Nr.

Diagnostic in vitro

Conjugat HRPO

IDEXX
LABORATORIES

4

Conservare la 2-8°C

LOT

Distribuit de: IDEXX Europe B.V., P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda, Tel +31-(0)23 558 7000, FAX +31-(0)23 558 7233
Producător: IDEXX Switzerland AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld - Bern Elveția Tel.+41. 31.970.62.60; Fax+41.31.970.62.79

HerdChek®

+

BVDV Ab

1.0 ml

Art. Nr.

Diagnostic in vitro

Control pozitiv

IDEXX
LABORATORIES

2

Conservare la 2-8°C

LOT

Distribuit de: IDEXX Europe B.V. Producător IDEXX
Switzerland AG

HerdChek®

-

BVDV Ab

1.0 ml

Art. Nr.

Diagnostic in vitro

Control Negativ

IDEXX
LABORATORIES

3

Conservare la 2-8°C

LOT

Distribuit de IDEXX Europe B.V. Producător IDEXX Switzerland
AG

IDEXX
LABORATORIES

Concentrat 10x

Art. Nr.

480 ml

Diagnostic in vitro

Soluție de spălare concentrată (x10)

Conservare la 2-8°C

LOT

Distribuit de: IDEXX Europe B.V., P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda, Tel +31-(0)23 558 7000, FAX +31-(0)23 558 7233
Producător: IDEXX Switzerland AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld - Bern Elveția Tel.+41. 31.970.62.60; Fax+41.31.970.62.79





IDEXX LABORATORIES B	TMB	
	Art. Nr.	60ml
	Diagnostic in vitro	
	Substrat TMB	
Conservare la 2-8°C		Data exp. LOT
Distribuit de: IDEXX Europe B.V., P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda, Tel +31-(0)23 558 7000, FAX +31-(0)23 558 7233 Producător: IDEXX Switzerland AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld - Bern Elveția Tel.+41.31.970.62.60; Fax+41.31.970.62.79		

IDEXX LABORATORIES C	Stop	
	Art. Nr.	60ml
	Diagnostic in vitro	
	Soluție de stopare	
Conservare la 2-8°C		LOT
Distribuit de: IDEXX Europe B.V., P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda, Tel +31-(0)23 558 7000, FAX +31-(0)23 558 7233 Producător: IDEXX Switzerland AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld - Bern Elveția Tel.+41.31.970.62.60; Fax+41.31.970.62.79		

HerdChek® IDEXX LABORATORIES 5	BVDV Ab	60 ml
	Art. Nr.	
	Diagnostic in vitro	
	Diluant pentru probe	
Conservare la 2-8°C		LOT
Distribuit de: IDEXX Europe B.V., P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda, Tel +31-(0)23 558 7000, FAX +31-(0)23 558 7233 Producător: IDEXX Switzerland AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld - Bern Elveția Tel.+41.31.970.62.60; Fax+41.31.970.62.79		



5 pl /kit

BVDV Ab

Art. Nr 99-44000

HerdChek*

Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) Antibody Test kit

For use with serum, plasma and milk samples.

In vitro-diagnostic. For veterinary use only.

IDEXX
LABORATORIES

..... 2-8°C

.....

LOT

Distributed by: IDEXX Europe B.V, P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, The Netherlands, Tel +31-(0)23 558 7000, FAX +31- (0)23 558 7233

Manufacturer: IDEXX Switzerland AG, Stationsstrasse 12, CH- 3097 Liebefeld -Bern, Switzerland, Tel.+41. 31.970.62.60; Fax+41.31.970.62.79

* HerdChek is a trademark or a registered trademark of IDEXX Laboratories, Inc. in the United States and/or other countries.

	BVDV Ab	Lot
HerdChek®	5 x BVDV Ab Test Plate	
	1 x 1ml Positive control	
	1 x 1ml Negative control	
	1 x 60ml HRPO Conjugate	
	1 x 60ml Sample diluent	
	1 x 480ml Wash solution 10x concentrate	
	1 x 60ml TMB Substrate	
	1 x 60ml Stop solution	
2-8°C		LOT

HerdChek®	BVDV Ab	Art. Nr.
	Test plate	
	In vitro diagnostic.	
	BVDV Antigen coated plate/strips	
	monophasic	
1	2-8°C	LOT

Distributed by: IDEXX Europe B.V, P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, The Netherlands, Tel +31-(0)23 558 7000, FAX +31- (0)23 558 7233

Manufacturer: IDEXX Switzerland AG, Stationsstrasse 12, CH- 3097 Liebefeld -Bern Switzerland Tel.+41. 31.970.62.60; Fax+41.31.970.62.79

HerdChek®	BVDV Ab	60 ml
	Art. Nr.	
	In vitro diagnostic	
IDEXX LABORATORIES	HRPO Conjugate	
4		
	2-8°C	LOT
Distributed by: IDEXX Europe B.V, P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, The Netherlands, Tel +31-(0)23 558 7000, FAX +31- (0)23 558 7233 Manufacturer: IDEXX Switzerland AG, Stationsstrasse 12, CH- 3097 Liebefeld -Bern Switzerland Tel+41. 31.970.62.60; Fax+41.31.970.62.79		

HerdChek®	+ BVDV Ab	1.0 ml
	Art. Nr.	
	In vitro diagnostic	
IDEXX LABORATORIES	Positive control	
2		
	2-8°C	LOT
Distributed by IDEXX Europe B.V. Manufacturer IDEXX Switzerland AG		

HerdChek®	- BVDV Ab	1.0 ml
	Art. Nr.	
	In vitro diagnostic	
IDEXX LABORATORIES	Negative control	
3		
	2-8°C	LOT
Distributed by IDEXX Europe B.V. Manufacturer IDEXX Switzerland AG		

IDEXX LABORATORIES	10x Concentrate	
	Art. Nr.	480 ml
	In vitro diagnostic	
A	Wash concentrate (x10)	
	2-8°C	LOT
Distributed by: IDEXX Europe B.V, P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, The Netherlands, Tel +31-(0)23 558 7000, FAX +31- (0)23 558 7233 Manufacturer: IDEXX Switzerland AG, Stationsstrasse 12, CH- 3097 Liebefeld -Bern Switzerland Tel+41. 31.970.62.60; Fax+41.31.970.62.79		

