



IDEXX HerdCheck BSE - Scrapie Antigen

Kit EIA pentru detectia de Antigen BSE-Scrapie

Numele produsului

Kit EIA pentru detectia de Antigen *Encefalopatia Spongiforma Bovina – Scrapie*
Prescurtare: IDEXX Herd Check Bovine Spongiform Encephalopathy BSE

Kitul IDEXX HerdChek* de detectie de antigen BSE – Scrapie este un test imunoenzimatic bazat pe captura antigenica (antigen capture enzyme immunoassay EIA) pentru detectia precursorilor conformerilor anormali ai proteinei prionice (PrP^{Sc}) din creier (de preferat zona obexului/trunchi cerebral) de la bovine si rumegatoarele mici (ovine si caprine) afectate de Encefalopatia Spongiforma Bovina (BSE) respectiv de Scrapie. In cazul in care kitul este utilizat la rumegatoarele mici, acesta poate detecta PrP^{Sc} si din limfonoduri si tesut splenic. Kitul este conceput astfel incat sa identifice rapid probele ce contin PrP^{Sc} asociate entitatilor morbide aferente, cu o minima manipulare a acestora, de asemenea poate fi utilizat in sistem automatizat.

Pentru Statele Membre CE: Test in vitro pentru detectia PrP^{Sc} - PrP^C BSE –Scrapie

Producatorul kitului rapid trebuie sa detina un sistem al calitatii bine pus la punct agreat de Uniunea Europeana a Laboratoarelor de Referinta (EURL) care sa se asigure ca performanta testului nu se modifica. Producatorul trebuie sa puna la dispozitia EURL protocolul de testare. Instrumentele de prelevare si modificarile aduse in testul rapid sau in protocolul de testare (inclusiv metoda de prelevare) sunt facute numai daca EURL le aproba si daca EURL considera ca aceste modificari nu reduc sensibilitatea, specificitatea si robustetea testului rapid. Acestea trebuie comunicate Comisiei si laboratoarelor nationale de referinta (conform Regulamentului CE Nr. 956/2010 care amendeaza Regulamentul Nr.999/2001).

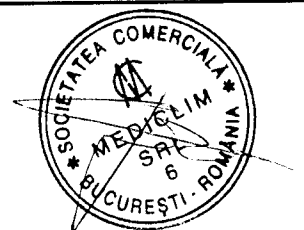
Descriere si principii

Acest kit are la baza o metoda licentiata de Microsens Biotechnologies (London, UK; compania detinatoare de patent) ce permite detectarea prionilor anormali. Un ligand specific PrP^{Sc} este imobilizat pe placa de captura antigenica. Probele ce urmeaza a fi testate sunt pregatite prin omogenizarea tesutului si apoi diluate cu diluantul de lucru. Dupa aplicarea probei pe placa, conformerii asociati bolii se leaga de liganzii imobilizati cu o afinitate ridicata. Placa se spala pentru a indeparta materialul nelegat, inclusiv conformerii normali ai proteinei PrP^C .

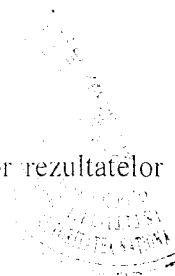
Dupa incubarea cu solutia tampon de conditionare, antigenul capturat este detectat utilizand un anticorp specific PrP^C ce a fost conjugat cu peroxidaza (HRPO).

Placa este spalata pentru a indeparta conjugatul nelegat si se adauga substratul. Culoarea dezvoltata este in legatura cu cantitatea relativa de PrP^{Sc} capturata de ligand imobilizat pe placa de microtitrare.

Interpretarea rezultatelor se bazeaza pe absorbanta optica a probelor. O proba a carei diferenta dintre absorbanta citita la 450 nm si cea referentiala ($A_{450} - A_{ref}$) este mai mica decat valoarea Cut off-ului se considera negativa cu kitul IDEXX HerdChek BSE – Scrapie – Antigen Test Kit. Proba la care diferenta dintre absorbanta la 450 nm – cea referentiala ($A_{450} - A_{ref}$) este mai mare sau egala decat valoarea cut off-ului se considera pozitiva pentru PrP^{Sc} . Un test de



confirmare ca de exemplu testul de imunohistochimie se impune in cazul tuturor rezultatelor pozitive.



Componentele kitului

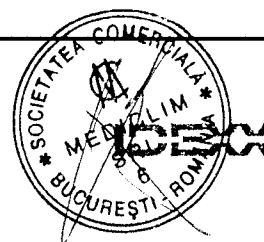
Pastrati toate componentele la 2-8°C.

	460 teste
A – placi de captura antigenica	5 placi
N - control negativ –nonreactiv cu placa de captura, conservat cu azida de sodiu.	5x1ml
P- control pozitiv – neinfectios reactiv cu placa de captura, conservat cu azida de sodiu.	5x1ml
D1 - component de diluare placa 1; conservat cu azida de sodiu.	20ml
D2 - component de diluare placa 2	5x 200µl
R - solutie tampon de reconstituire	20ml
CB - tampon de conditionare; conservat cu azida de sodiu.	60 ml
CC - conjugat concentrat ; conservat cu L- Bronidox si metilizotiazolona.	300µl
SRB-CC - conjugat concentrat de creier de rumegator mic conservat cu Bronidox si metilizotiazolona	300µl
CD- diluant pentru conjugat tamponat cu detergenti si stabilizatori de proteine; conservat cu kathon	60ml
W1 -10 x solutie de spalare 1; conservat cu azida de sodiu.	450ml
W2 - 10 x solutie de spalare 2; conservat cu gentamicina	450ml
T - TMB substrat	60 ml

Nota: vedeti tabelul de la sfarsitul instructiunilor pentru descrierea simbolurilor internationale utilizate pe etichetele kitului.

Materiale si echipamente necesare (neincluse in kit)

- Pipete de precizie sau pipete multicanal cu volume cuprinse intre 25 si 200µl. Volumele de reagenti listate in Procedura de Testare necesita o precizie a pipetelor mai mica sau egala cu 5%.
- Cilindrii gradati pentru solutiile de spalare;
- Folii adezive sau capace de plastic dur pentru placile de microtitrare; tavite pentru reagenti
- Instrumente de unica folosinta pentru disectia probelor sau pentru prelevarea probelor;
- Cititor automat pentru placi de 96 de godeuri (echipat cu filtre de 450nm si 620-650nm) si spalator;
- Aparat FastPrep (FP120A,FP220A), Precess 48*, Precess 24* sau Precellys 24*
- Accesorii-instrumentar -placi de dilutie, tuburi de titurare a probelor cu perle ceramice, varfuri de pipete de transfer a omogenatelor sau capace adezive de placi (disponibile la IDEXX)



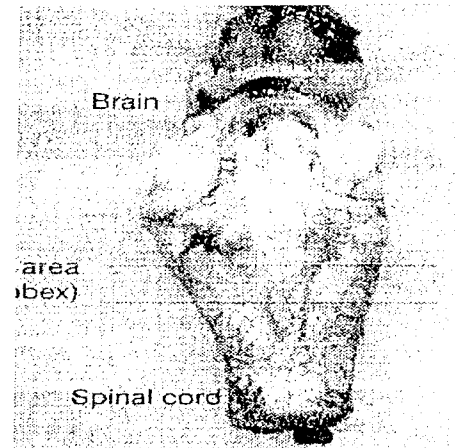


- Echipament de protectie: ochelari de protectie, halate, manusi, protectii pentru pantofi, bonete, masti faciale;
- HCL 0.5-1N sau H₂SO₄ 1.0 N solutie de stopare;
 - hipoclorit de sodiu, NaOH 1N si HCl 1N, apa deionizata;
 - Optional, procesor automat de probe cu o precizie de pipetare mai mica sau egala cu 2.5% (de exemplu, Tecan);
 - Optional agitator de microplaci (de exemplu IKA MTS 2/4);
 - Optional incubator de placi ce mentine temperatura la 32⁰-37⁰ C si are un circuit minimal de aer.
 - Optional unitate de uscare pentru tuburi de 1,5-2ml (capabil sa mentina temperatura de 70⁰C)
 - Optional capace pentru tuburile conice de 1,2-2ml

Prepararea si pregatirea probelor de tesut

A. Tesut cerebral (bovine si rumegatoare mici)

1. Trebuie urmarite reglementarile de prelevare si testare in laborator conform (CE) nr 999/20001, Anexa X, capitol C, care se refera, in ceea ce priveste colectarea probelor, la ultima editie a *Manualului de Standarde pentru Testele de Diagnostic si Vaccinuri* al Oficiului International pentru Bolile Epizootice (OIE), dupa cum urmeaza: Proba pentru imunoanaliza trebuie sa fie din, sau cat mai aproape de obex, dar nu mai departe de 1,5cm de partea anterioara a obexului. Se preleveaza 0,30 g (±0,05 g) de tesut nervos din partea stanga sau dreapta a a creierului (cat mai posibil) utilizand instrumente de disectie, si cantariti fragmentul prelevat pentru a fi sigur ca este cantitatea dorita.



Ca alternativa, se poate utiliza instrumentul de prelevare a probei de la IDEXX pentru obtinerea de probe cerebrale bovine asa cum este descris in Appendix.

Personalul ce efectueaza aceasta etapa trebuie instruit in ceea ce priveste metoda de prelevare. Diagrama din dreapta indica zona corecta de prelavare.

NOTA: *dupa prelevarea fragmentului, o semi- sectiune completa de creier cu o regiune a obexului cerebral intacta si cerebel (daca este prezent) trebuie pastrata pentru a fi utilizata la testarile de confirmare.*

2. Plasati fragmentul obtinut in tubul de ribolizare si inchideti-l ferm. Tuburile sunt dotate cu perle ceramice si solutie tampon.

3. Patru instrumente de ribolizare au fost validate pentru utilizarea cu IDEXX BSE- Scrapie EIA. Plasati tuburile in instrument si ribolizati asa cum este indicat pentru instrumentul utilizat. Daca macinarea este insuficienta, ciclul ribolizare/ macinare se poate repeta.

- Programul de preparare rapida **Fast Prep program** : ribolizati proba timp de 40 de secunde la viteza maxima (6,5m/s) . Daca un al doilea ciclu este necesar, instrumentul trebuie lasat sa se raceasca 5-10 minute intre ciclurile de ribolizare

- Programele Precess 48*, Precess 24* si Precellys 24*: se ribolizeaza probele de 2 ori timp de 20 pana la 25 secunde la 6500 rpm cu 5 secunde intarziere între ciclurile de functionare.

4. Omogenatele (proaspete sau decongelate) pot fi pastrate la 18-26⁰C pana la 4 ore inainte de a incepe testul. Numarul probelor ce pot fi preparate intr-o singura sesiune de lucru este flexibil.

Omogenatele pot fi pastrate pana la 24 de ore la 2-8 ⁰C sau la ≤- 20 ⁰ C pana la 6 luni. Probele congelate trebuie decongelate si mixate puternic, prin inversarea tubului inainte de utilizare. Probele de tesut pot fi pastrate la - 80 ⁰ C.

B. Tesut limfatic (limfonoduri) sau tesut splenic (rumegatoare mici)

1. Se preleveaza 0.30g (±0.05g) din limfonodul mezenteric sau din splina. Pentru limfonoduri tesutul trebuie prelevat astfel incat sa cuprinda un numar cat mai mare de celule germinative. Maruntiti tesutul in 8-10 fragmente de dimensiuni mici.

2. Etapele privind procesarea si stocarea probelor sunt la fel ca si la tesutul cerebral.

NOTA: Limfonodurile sau tesutul splenic nu pot fi folosite in contextul prelevării probelor si testării acestora oficial in cadrul regulamentului (CE), nr 999/2001.

Prepararea reagentilor

Solutiile de spalare (Solutia de spalare 1 , solutia de spalare 2)

Solutiile de spalare concentrate trebuie aduse la temperatura camerei (18-26 ⁰C) si agitate usor pana la dizolvarea eventualelor precipitate. Fiecare solutie de spalare concentrata trebuie diluata 1:10 cu apa distilata, deionizata inainte de utilizare (ex. 40 ml de solutie concentrata cu 360 ml de apa distilata pentru o placa).

Componentul 2 Diluant placa

Componentul 2 (D2) diluantul pentru placa se gaseste sub forma liofilizata. Solutia se prepara prin adaugarea a 200µl de tampon de reconstituire (R) se lasa in repaus aproximativ 1 minut si apoi se agita /se mixeaza usor .Se utilizeaza in decurs de ora de la preparare.

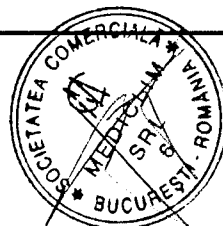
Diluant de lucru pentru placa

Componentul 1(D1) diluantul de lucru trebuie adus la 18-26 ⁰C.

Prepararea diluantului de lucru se face prin adaugarea a 1 parte diluant 2 (D2; preparat ca mai sus) cu 25 de parti de diluant 1 (D1) si amestecate energic (de exemplu 120µl D2 cu 3 ml D1 pentru o placa). Aproximativ 2,75 ml de diluant sunt necesari pentru o placa cand se testeaza probe de creier. Pentru probe de limfonoduri sau splina sunt necesari 5ml de diluant pentru o placa . Aceasta solutie trebuie preparata si utilizata in aceiasi zi in care este preparata.

Controalele Negativ si Pozitiv

Controalele negativ si pozitiv sunt sub forma liofilizata. Fiecare control se reconstituie prin adaugarea a 1ml de tampon de reconstituire. Solutia se lasa in repaus 1 minut si apoi se agita



viguros. Se utilizeaza in 2 ore de la preparare. **NU DILUATI CONTROALELE NEGATIV SI POZITIV CU SOLUTIA DE LUCRU PENTRU PLACA.**

Solutiile de conjugat Anti-PrP-HRPO

Acestea se obtin diluand conjugatul concentrat (vezi nota de mai jos) cu solutia de diluare specifica (CD) ; (de exemplu pentru o dilutie de 1:100 se utilizeaza 120µl de conjugat concentrat cu 12 ml de diluant pentru conjugat). Consultati eticheta de pe flaconul de conjugat pentru o dilutie corecta. Conjugatul diluat se utilizeaza in decurs de 4 ore.

IMPORTANT : In kit sunt doua conjugate concentrate pentru utilizarea in acest test - selectati conjugatul adecvat pentru tipul de proba ce urmeaza a fi testat-

- **Conjugat concentrat (CC)** – se utilizeaza cand se testeaza probe de creier bovin sau probe de limfonoduri de la rumegatoare mici sau probe de splina.
- **Conjugat concentrat creier rumegatoare mici (SRB-CC)** – utilizati acest conjugat cand testati probe de tesut cerebral de la rumegatoare mici.
- Godeurile pentru controalele negativ si pozitiv trebuie incluse pentru fiecare tip de conjugat testat.

Solutia de acid pentru stopare

Solutia de stopare nu este furnizata in kit ; solutia de stopare de HCl 0.5-1N sau H₂SO₄ 1N pot fi achizionate la concentratia de lucru sau preparate din concentrat.

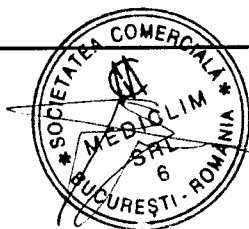
In toate cele trei protocoale de lucru ce urmeaza a fi descrise este nevoie ca reagentii sa fie echilibrati la temperatura camerei inainte de utilizare.

Inainte de inceperea testului preparati solutiile necesare. Mixati toti reagentii prin agitare usoara. Controalele (negativ si pozitiv) trebuie omogenizate prin agitare viguroasa si se testeaza in duplicat. Pentru acoperirea placii in timpul efectuarii testului se utilizeaza un capac de plastic.

Pastrarea si prepararea reagentilor

Component	Volumul de reconstituire	Valabilitatea dupa reconstituire
N/P Control Negativ/Pozitiv	1ml	2 ore la 18-25 °C 6 luni la -20° C
D2 Diluant placa 2	200µl	o ora la 18-26°C/ 6 luni la -20°C
Diluante de lucru pentru placa	NA	8 ore la 18-26°C
Solutii HRPO anti PrP	NA	4 ore la 18-26°C
Solutie de spalare 1;1X	NA	7 zile la 18-26°C
Solutie de spalare 2; 1x	NA	7 zile la 18-26°C

Pastrati orice fragment de placa neutilizat la intuneric, in loc uscat, intr-un container/recipient sigilat.



Protocol de lucru

Probele omogenizate se prepara asa cum a fost descris in sectiunea de Prelevare si Preparare a Probelor. Se poate utiliza un sistem automat de procesare a probelor in loc de metoda manuala, incepand cu etapa 1 sau din momentul in care controalele si probele diluate au fost puse in placa de captura de antigen. (Etapa 3).

Important : acoperiti fiecare placa cu un capac de plastic solid sau cu o folie adeziva in timpul etapelor de incubare. Daca etapele de incubare au loc intr-o hota de biosecuritate, placile trebuie aacoperite cu folii adezive.

Protocoalele de Lucru

IDEXX BSE-Scrapie EIA are doua protocoale de lucru validate pentru tesutul cerebral: *Scurt si Ultrascurt*. Protocoalele au o performanta echivalenta dar necesarul de echipamente variaza pentru a reduce timpii de lucru. Protocoalele vor fi descrise in detaliu in tabelul din pagina urmatoare.

NOTA: Protocolul de testare pentru probe de splina si limfonoduri de la rumegatoarele mici este diferit de cel Scurt si Ultra-Scurt si este descris in tabelul Protocoale de lucru de mai jos.

Dilutia probelor in placa de lucru

Fixati o schema de testare in care sa se indice pozitia probelor atat in placa de dilutie cat si in cea de testare. Rezervati godeuri in duplicat pentru controale. Diluantul pentru placa poate fi pus inainte de adaugarea probelor sau dupa aceea in placa de dilutie. Se vor pune 30 µl diluant la 120 µl proba omogenizata (pentru tesut splenic si ganglionar de la rumegatoare mici se vor utiliza 50µl diluant cu 100 µl de proba omogenizata).

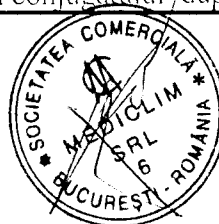
Proba omogenizata se resuspenda prin inversiune si apoi cu atentie se pipeteaza proba utilizand o pipeta de transfer , varful pipetei sa ajunga pana la perlele de omogenizare si lasand proba in tubul de distrugere tisulara. Cu atentie pipetati fiecare proba in placa de dilutie evitand formarea de bule sau sa lasati omogenizat rezidual pe marginile placii de dilutie.

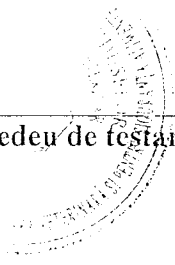
Dupa diluarea omogenizatului mixati energic avand grija sa nu se formeze bule. Amestecarea se poate realiza cu o pipeta sau pe un agitator de placi.

Daca se utilizeaza un agitator de placi este necesar sa se ajusteze viteza de agitare si timpul pentru a se asigura o mixare cat mai completa fara a se imprastia proba. Procedura de lucru se efectueaza in 2 ore.

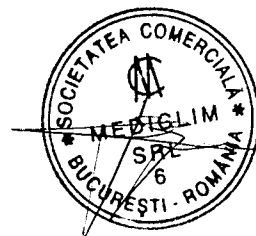
Utilizarea unui agitator pentru incubarea probelor (Protocoalele scurt si ultrascurt)

Protocolul standard de lucru impune ca toti timpii de incubare sa fie stationari. Celelalte doua protocoale implica o rotatie usoara (200 ± 100 rpm) pe platforma unui agitator de placi pentru etapa de incubare. Agitatorul trebuie sa creeze o miscare usoara orizontala, circulara. Desi proba din fiecare godeu de pe placa de microtitrare va fi miscata usor, nu se poate vizualiza miscarea. Miscarea nu trebuie sa fie viguroasa pentru a nu se ridica proba pe peretele godeului. Timpii de incubare descresc odata cu incubarea probei si a conjugatului dupa cum urmeaza.





Procedeu de testare		Protocol Scurt	Protocol Ultra -Scurt	Protocol Limfonoduri/ Tesut splenic de rumegatoare mici
Etapa	Activitatea	18-26 °C toate etapele	32-37°C : doar incubarile (pasii 3,5,8,10) 18-26°C: toate etapele inclusiv spalarile	18-26 °C toate etapele
1	Adaugarea probei in placa de dilutie	Tesut de creier - 120 µl de proba cu 30 µl de diluant de lucru		Limfonoduri si tesut splenic 100µl proba cu 50µl diluant de lucru
2	Adaugarea probei pe placa de captura a antigenului	Se pipeteza 100µl de proba diluata in placa de testare; mixati controalele, adaugati 100µl in duplicat; acoperiti placa cu un capac.		
3	Incubarea placii de captura	45-60 de minute; agitare usoara 200±100rpm	20-25 minute ; agitare usoara 200± 100 rpm	2-3 ore stationar
4	Spalarea cu Solutie de spalare 1, 1X	Spalati godeurile de 6 ori cu aproximativ 350 µl solutie de spalare 1, 1X		
5	Conditionare: Adaugare/ incubare	Adaugati 100µl de tampon in fiecare godeu; acoperiti placa ; incubati 10 ± 1 min.		
6	Spalarea cu solutia de spalare 2 ,1X	Spalati godeurile de 3 ori cu 350µl solutie de spalare 2 ,1X		
7	Adaugarea conjugatului	Tesut de creier -Adaugare 100 µl de conjugat diluat (creier de bovine utilizati CC, creier de rumegatoare mici utilizati SRB-CC) si acoperiti placa cu un capac.		Adaugare 100µl de conjugat diluat CC si acoperirea placii cu un capac
8	Incubarea cu conjugat	45-50min.	25-30min	60-75 min.
9	Spalare cu solutie de spalare 2, 1X	Spalare de 5 ori cu 350µl solutie de spalare 2, 1X		
10	Adaugarea substratului/incubare	Adaugarea de 100µl de substrat in fiecare godeu; acoperiti placa; incubare 15±1 ferit de lumina directa (nu utilizati folie adeziva)		
11	Adaugarea solutiei de stopare /citirea placii	Adaugare de 100µl solutie de stopare ; placa poate fi tinuta 30 minute la intuneric inainte de citirea densitatii optice (450nm), utilizand o lungime de unda referentiala de 620-650nm.		



1. Incubarea la 32-37°C inseamna plasarea placii de testat intr-un incubator care este pre-incalzit la 32-37°C.

Rezumat privind formatul testelor

	Creier Bovine	Creier Rumegetoare Mici	Tesut limfatic ganglionar si splina de rumegetoare mici
Prepararea probelor			
Siringa pentru prelevare probe	Da	Nu	Nu
Tesut afectat (Preomogenizarea probelor)	Nu	Nu	Da
Conditii de testare			
Conjugat Concentrat	CC	SRB-CC	CC
Diluant de lucru (raport diluant/proba)	30µl/120µl	30µl/120µl	50µl /100µl
Protocoale aprobate	Scurt&Ultrascurt	Scurt&Ultrascurt	Limfonoduri&splina rumegetoare mici
Cut off testului	NCx+0,120	NCx+0,180	NCx +0,180
Tratament de incalzire optional Protocoale aplicate	Da	Nu	Nu

Interpretarea rezultatelor

Pentru ca metoda sa fie validata, media controlului negativ (NCx) trebuie sa mearga cu o valoare a diferentei $A_{450} - A_{ref}$ mai mica decat 0,150 si media controlului pozitiv (PCx) trebuie sa aiba o diferenta $A_{450} - A_{ref} \geq 0,400$.

Calculul valorilor

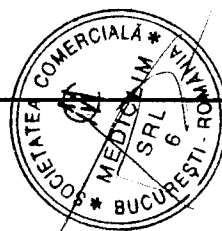
Media controlului negativ

$$NCx = \frac{A1(A_{450} - A_{ref}) + B1(A_{450} - A_{ref})}{2}$$

Media controlului pozitiv

$$PCx = \frac{C1(A_{450} - A_{ref}) + D1(A_{450} - A_{ref})}{2}$$

Calcularea valorii Cut off-ului



Cut off bovine = $NCx + 0,120$

Cut off rumegatoare mici = $NCx + 0,180$

Nota: vezi etapa 11 a graficului procedurii de testare pentru definirea lui A_{REF} .

Rezultate

Interpretarea rezultatelor se bazeaza pe valoarea absorbantei probelor. Probele cu o valoare a diferentei $A_{450}-A_{ref}$ mai mica decat valoarea cut-off ului sunt considerate negative cu testul IDEXX HerdChek BSE Scrapie Antigen Test Kit.

Probele a caror valoare a diferentei $A_{450}-A_{ref}$ este mai mare sau egala cu cea a cut-off-ului se considera initial reactive pentru PrP^{sc} si omogenatele trebuie retestate in duplicat cu acelasi kit.

Probele de creier de retestat pot fi luate din omogenatul de tesut original sau din omogenatul preparat utilizand protocolul de tratament termic pentru bovine, descris mai jos. Daca ambele valori obtinute la retestare sunt egale sau mai mari decat valoarea cut-off-ului, probele sunt considerate pozitive. Proba este considerata negativa cand ambele replicare retestate sunt mai mici decat cut-off-ul. In cadrul probelor de bovine EU initial reactive care sunt negative prin retestarea cu protocolul de tratament termic toate trebuie raportate ca negative. In statele membre ale Uniunii Europene, probele si tesutul corespunzator care au furnizat rezultate pozitive la testele rapide trebuie trimise la LNR pentru confirmare.

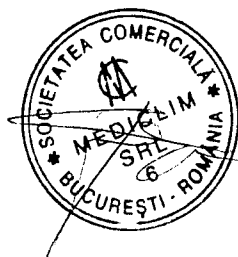
Probele de rumegatoare mici trebuie retestate in duplicat direct din omogenatul de tesut original / NU tratati termic omogenatele de rumegatoare mici. Daca valoarea la ambele probe este egala sau mai mare cu valoarea cut-off-ului, proba este considerata pozitiva. Proba este considerata negativa atunci cand ambele replicare retestate sunt mai mici decat cut-off-ul.

Protocolul optional de tratare termica pentru omogenatele de bovine initial reactive: (protocolul tratamentului termic se aplica doar probelor de bovine)

Scoateti $230 \pm 20 \mu l$ din omogenatul de tesut initial reactiv si distribuiti-l intr-un tub conic cu capac de 1,5-2ml. Puneti tubul intr-un incubator care a fost preincalzit la $70 \pm 2^{\circ}C$. Incalziti tubul timp de $10 \pm 1^{\circ}C$ si puneti-l apoi intr-un suport la $18-26^{\circ}C$ timp de minimum 20 minute pentru a permite probei sa se raceasca. Omogenatul trebuie retestat in maxim de 2 ore de la tratamentul termic, in duplicat, cu setul IDEXX HerdChek BSE-Scrapie Antigen Test Kit.

Masuri de precautii

- nu expuneti substratul tetrametilbenzidina (TMB) la lumina puternica sau la agenti oxidanti; utilizati recipiente de plastic de unica folosinta pentru dispersarea TMB ;
- preveniti contaminarea componentelor kitului; nu utilizati componente ale kitului expirate si nu utilizati componente din mai multe kituri ;
- unele componente ale kitului contin azida de sodiu ca si conservant (vezi descrierea componentelor kitului). Aveti grija sa nu contaminati conjugatul cu solutiile ce contin azida de sodiu.
- pastrati reagentii la $2-8^{\circ}C$; aduceti reagentii la $18-26^{\circ}C$ inainte de utilizare si apoi in frigider dupa utilizare;



- utilizati tavite separate pentru fiecare reagent; evitati contaminarea substratului cu solutia de conjugat diluat; nu puneti TMB nefolosit inapoi in flacon;
- nu lasati placutele de microtitrare sa stea mai mult de 5 minute intre etapele de spalare si adaugarea reactivilor;

Informatii pentru siguranta personalului

- Tot personalul trebuie sa fie instruit privind riscul relationat cu BSE respectiv Scrapie si sa i se recomande procedurile de decontaminare. Procedurile de biosecuritate trebuie urmate cu strictete asa cum sunt stipulate de reglementarile nationale de biosecuritate.
- Solutiile tampon contin agenti de denaturare; se va evita contactul cu pielea si cu mucoasele;
- Substratul TMB poate irita pielea si ochii; evitati contactul direct ;
- Diluantul I contine o concentratie ridicata de detergenti; evitati contactul direct;
- Evitati utilizarea recipientilor de sticla in laborator.

Apendix

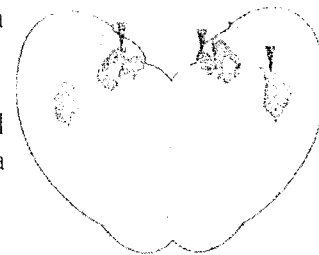
Prelevarea Obexului de Bovine cu dispozitivul de colectare IDEXX

IDEXX detine un dispozitiv de prelevare al probelor ca o alternativa la metoda de extractie a obexului la bovine. Acesta este o seringa de prelevare. Dispozitivul de prelevare IDEXX a fost aprobat de EURL. Ghidarea in aceasta sectiune de analiza nu interzice informarea ulterioara sau instructiunile care sunt conform reglementarilor CE 999/2001 si amendeaza ordonantele. Cand nu este posibil sa se identifice corect zona anatomica de prelevare se vor utiliza instrumente de disectie, asa cum se descrie in sectiunea „Prelevarea si Prepararea Probelor

1. Creierul trebuie colectat in abator pe la nivelul gaurii occipitale utilizand un instrument adecvat sau o lingura de prelevare. Identificati regiunea corespunzatoare a obexului prin prezenta formei V pe suprafata superioara a stemului cerebral (vezi diagrama sectiunii prelevarea si prepararea probelor). Cand nu este posibila identificarea corecta a ariei anatomice pentru prelevare se vor utiliza instrumente de disectie asa cum au fost descrise in sectiunea de prelevare si pregatire a probelor.

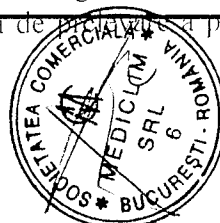
2. Pozitionati partea inferioara a creierului –stemul- cu partea ce prezinta forma V in sus. Plasati varful seringii colectoare la marginea zonei de sectiune in partea caudala a stemului cerebral, in zona ce urmeaza a fi prelevata aproximativ 3mm (suficient pentru a oferi siguranta in prelevare).

S-ar putea sa fie necesara ajustarea tesutului prin indepartarea tesutului spinal daca lungimea de la baza maduvei spinarii la apexul formei V este mai lunga de 3-4 cm.



3. Tineti pistonul seringii ferm. Cu indexul impingeti in stemul cerebral cilindru exterior nepermitand ca pistonul seringii sa se miste in alta directie. Urmariti figura 2 pentru o aliniere cat mai corecta a seringii in situsul de prelevare. Daca cilindru seringii este impins in zona de prelevare a probei

Sectiune transversala prin creier de bovine la nivelul obexului punctele de prelevare 1.tractul solitar : 2 nucleul nervului trigemen : 3 nucleul dorsal caudal al vagului; diagrama Manual OIE, cap.2.3.13



trebuie sa stea in zona selectata pentru a nu se leziona zona opozita. O jumatate completa de stem cerebral trebuie pastrata pentru testele de confirmare.

4. Cilindrul seringii se va misca prin tesutul cerebral in zona obexului. Asigurati-va ca seringa a fost manevrata in zona de prelevare superioara (vezi figura 1). Cilindrul astfel manevrat trebuie sa contina acum proba.

Nota : Proba pe care o doriti (de exemplu aria obexului) este la varful cilindrului.

5. Rasuciti cilindrul seringii pentru a izola proba si cu atentie indepartati seringa din tesutul cerebral.

6. Daca o portiune semnificativa de tesut se regaseste in varful seringii, plasati-o in cilindru prin impingerea pistonului usor. Seringa poate fi manevrata acum pentru indepartarea aerului si pentru indepartarea oricaror spatii moarte dintre portiunile probei prelevate.

NOTA : seringa prezinta in interior niste limitatoare ce se simt atunci cand pistonul este impins. Spatiul dintre limitatoare asigura o masurare corecta a volumului probei.

7. Cand cantitatea de proba este suficienta in seringa impingeti pistonul pana la cel mai apropiat limitator. Proba trebuie sa fie fara spatii in zona delimitata de varful seringii si piston. Cateodata poate aparea un exces de material in varful seringii.

8. Indepartati orice cantitate de tesut rezidual. Nu apasati pe piston in timpul curatirii varfului pentru ca proba poate fi eliberata sau compresata si amandoua evenimentele sunt de nedorit.

9. Recipientul pentru distrugere tisulara (tub riboliser) se va tine intr-o mana, vertical, iar in cealalta seringa, varful seringii se va pune in gura tubului de distrugere tisulara. Depuneti o cantitate de proba in tubul de distrugere tisulara prin impingerea pistonului de la primul limitator la cel de al 2 lea. Volumul dintre limitatoare este de 150 μ l; un volum total de 300 μ l este depus in tub (echivalent a 0,30g \pm 0,05 g de tesut).

10. Inchideti tubul si incepeti procedura de omogenizare a probei.

Personalul ce colecteaza probe de obex cu echipamentul IDEXX trebuie bine instruit pentru utilizarea corecta a dispozitivului de colectare, pentru a preleva proba din zona corecta a stemului cerebral. Fiecare tehnician va verifica periodic prin cantarire cantitatea de proba prelevata. Se va institui un program de masuri corective atunci cand se vor constata abateri de la criteriile de prelevare a probelor. Dispozitivele IDEXX sunt de unica folosinta si trebuie indepartate dupa utilizare pentru a preveni contaminarea incrucisata.

Limitarea Responsabilitatii

Conform legislatiei, sub nici o circumstanta IDEXX sau alta persoana autorizata nu va face raspunzator o terta persoana pentru pierderea profitului sau a folosintei, special sau accidental, ca si consecinta, indirect, exemplar, punitiv sau a multiplelor pierderi, inclusiv cele ce determina pierderea clientelei, datelor, echipamentelor sau intreruperea activitatii, pornind de la fabricare,



vanzare, aprovizionare sau utilizarea produselor sau serviciilor noastre sau insuficienta sau intarzierea in livrarea a astfel de produse sau servicii.

Suport Tehnic IDEXX

IDEXX SUA tel: 1 800 248 2483 sau 1 207 556 4890

Fax: 1 800 328 5461 sau 1 207 556 4890

IDEXX Europe Tel: 008800 1234 4499

Fax: 00800 433 99329

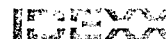
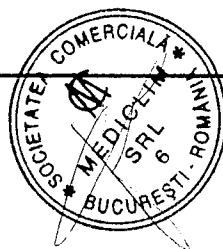
U.S. Vet License No. 313

Product Code: 5440.21

*HerdChek este marca inregistrata a IDEXX Laboratories, Inc. sau a afiliatelor sale in Statele Unite si/sau alte state. Toate celelalte companiile si numele produselor sunt proprietatea detinatorilor respectivi.

Informatia patentului: idexx.com/patents.

© 2013 IDEXX Laboratories, Inc. Toate drepturile rezervate.



Handwritten signature or mark.

A

HerdChek

96 godeuri/placa

Placa de captura antigenica

Pastrati la 2-8°C.
Pentru diagnostic in vitro.
Vezi prospectul pentru descriere.
Exclusiv pentru uz veterinar.

Lic. Vet. U.S. Nr. 313

Lot Nr:

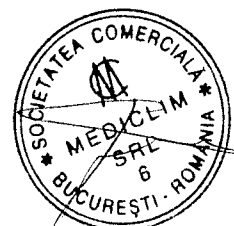
Data de expirare:


LABORATORIES

One IDEXX Drive
Westbrook, ME 04092

IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1834
NL-2130
EK Hoofddorp

04-04748-116



SHE-CC

HardChek

300 µL

Conjugat concentrat
pentru creier
rumegătoare mici

Pastrati la 2-8°C.
Pentru diagnostic in vitro.
Vezi prospectul pentru
descriere.
Exclusiv pentru uz veterinar.

Lic. Vet. U.S. Nr. 313

Lot Nr:
expirare:

Data de

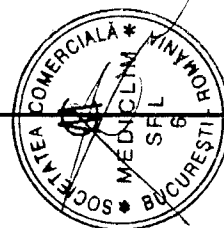
IDEXX
LABORATORIES

One IDEXX Drive
Westbrook, ME 04092

IDEXX Europa B.V.
P.O. Box 1334
NL-5130
EK Hoofddorp

04-08522-02

P





HerdChek

5 X
200 µL

Component de diluare placa 2

Pastrati la 2-8°C.
Pentru diagnostic in vitro.
Vezi prospectul pentru descriere.
Exclusiv pentru uz veterinar.

Lic. Vet. U.S. Nr. 313

Lot Nr:

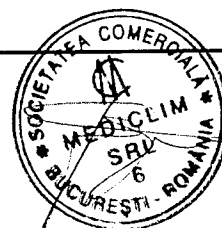
Data de expirare:

LABORATORIES

One IDEXX Drive
Westbrook, ME
04092

IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1334
NL-2130
EK Hooftdorp

04-047-09-08



CB

HeruChek

50 mL

Tampon de
conditionare

Pastrati la 2-8°C.
Pentru diagnostic in vitro.
Vezi prospectul pentru descriere.
Exclusiv pentru uz veterinar.

Lic. Vet. U.S. Nr. 313

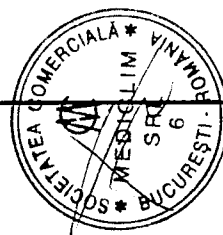
Lot Nr:

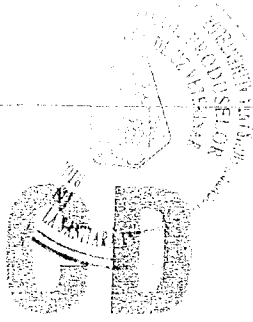
Data de expirare:

IDEXX
LABORATORIES

One IDEXX Drive
Westbrook, ME 04092

IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1834
NL-2130
EK Hoofddorp
04-0-755-06





HerdChek

60 mL

Diluant pentru conjugat

Pastrati la 2-8°C.
Pentru diagnostic in vitro.
Vezi prospectul pentru descriere.
Exclusiv pentru uz veterinar.

Lic. Vet. U.S. Nr. 313

Lot Nr:

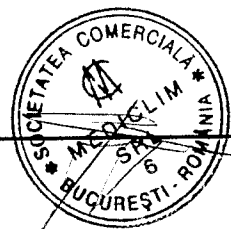
Data de expirare:

IDEXX
LABORATORIES

One IDEXX Drive
Westbrook, ME 04092

IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1334
NL-2130
EK Hoofddorp

04-04755-07



W2

HerdChek

450 mL

10X Solutie de
spalare 2

Pastrati la 2-8°C.

Pentru diagnostic in vitro.

Vezi prospectul pentru descriere.

Exclusiv pentru uz veterinar.

Lic. Vet. U.S. Nr. 313

Lot Nr:

Data de expirare:


LABORATORIES

One IDEXX Drive
Westbrook, ME 04092

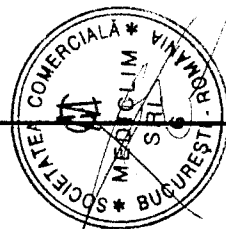
IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

NL-2130

EK Hoofddorp

04-04757-07





HerdChek

50 mL

Substrat TMB

Pastrati la 2-8°C.
Pentru diagnostic in vitro.
Vezi prospectul pentru descriere.
Exclusiv pentru uz veterinar.

Lic. Vet. U.S. Nr. 313

Lot Nr:

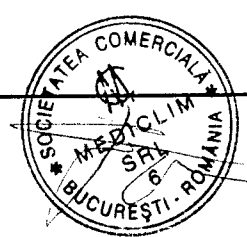
Data de expirare:



One IDEXX Drive
Westbrook, ME 04092

IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1334
NL-2130
EK, Hoofddorp

04-04758-07



R

HerdChek

20 mL

Diluant de
reconstituire

Pastrati la 2-8°C.
Pentru diagnostic in vitro.
Vezi prospectul pentru descriere.
Exclusiv pentru uz veterinar.

Lic. Vet. U.S. Nr. 313

Lot Nr:

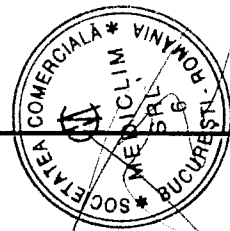
Data de expirare:

IDEXX
LABORATORIES

One IDEXX Drive
Webster, ME 04092

IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1334
NL-2130
EK Hoofddorp

04-04761-00





Control
Negativ

HerdChek

5 X 1 mL

Pastrati la 2-8°C.
Pentru diagnostic in vitro.
Vezi prospectul pentru descriere.
Exclusiv pentru uz veterinar.

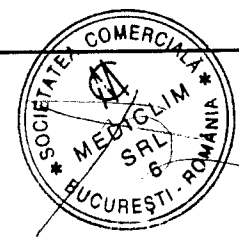
Lic. Vet. U.S. Nr. 313

Lot Nr:
Data de expirare:



One IDEXX Drive
Westbrook, ME
04092

IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1334
NL-2130
EK Hoofddorp
04-04798-06



R

HardChek

20 mL

Diluant de
reconstituire

Pastrati la 2-8°C.
Pentru diagnostic in vitro.
Vezi prospectul pentru descriere.
Exclusiv pentru uz veterinar.

Lic. Vet. U.S. Nr. 313

Lot Nr:

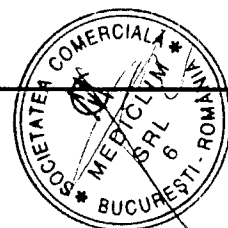
Data de expirare:

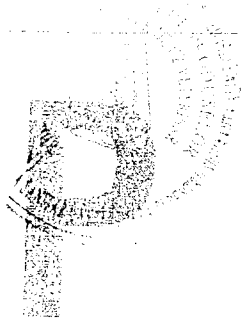
IDEXX LABORATORIES

One IDEXX Drive
Westbrook, ME 04092

IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1334
NL-3730
EK Huzendorp

04-04761-06





**Control
Pozitiv**

Pastrati la 2-8°C.
Pentru diagnostic in vitro.
Vezi prospectul pentru descriere.
Exclusiv pentru uz veterinar.

Lic. Vet. U.S. Nr. 313

Lot Nr:

Data de expirare.

HardChek

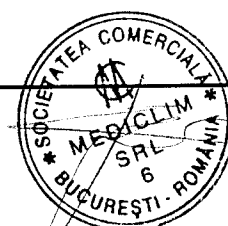
5 x 1 mL

IDEXX
LABORATORIES

One IDEXX Drive
Westbrook, ME
04092

IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1334
NL-2130
EK Hoofddorp

04-34800-06



D1

HerdChek

20 mL

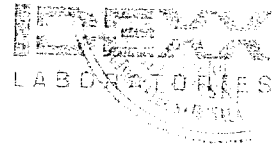
Component de
diluare placa 1

Pastrati la 2-8°C.
Pentru diagnostic in vitro.
Vezi prospectul pentru descriere.
Exclusiv pentru uz veterinar.

Lic. Vet. U.S. Nr. 313

Lot Nr:

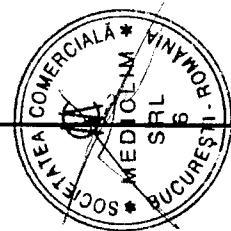
Data de expirare:



One IDEXX Drive
Westbrook, ME 04092

IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1334
NL-2130
EK Hoofdsorp.

04-64306-07





HerdChek

150 mL

10X Solutie de Spalare 1

Pastrati la 2-8°C.
Pentru diagnostic in vitro.
Vezi prospectul pentru descriere.
Exclusiv pentru uz veterinar.

Lic. Vet. U.S. Nr. 313

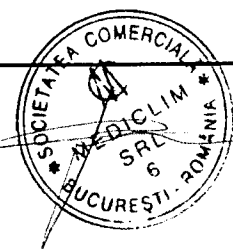
Lot Nr:

Data de expirare:

IDEXX
LABORATORIES

One IDEXX Drive
Westbrook, ME 04092

IDEXX Europe B.V.
PO. Box 1384
NL-2130
EK Hoofddorp
04 04805-00



CC

HerdChek

300 μ L

Conjugat
Concentrat

Pastrati la 2-8°C.
Pentru diagnostic in vitro.
Vezi prospectul pentru descriere.
Exclusiv pentru uz veterinar.

Lic. Vet. U.S. Nr. 313

Lot Nr:

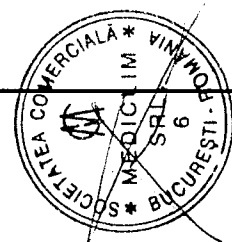
Data de expirare:

IDEXX
LABORATORIES

One IDEXX Drive
Westbrook, ME
04092

IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1334
NL-2130
EB Hoofddorp

04-0-332-05



Kit EIA pentru detectie Antigen in
Encefalopatia Spongiforma Bovina -
Scrapie

IdChek® BSE-Scrapie Antigen

5placi x 96 godeuri / kit

Kit EIA pentru detectie Antigen in Encefalopatia
Spongiforma Bovina - Scrapie

Kitul de detectie de antigen BSE – Scrapie este un
test imunoenzimatic bazat pe captura antigenica
(EIA) pentru detectia precursorilor conformerilor
anormali ai proteinei prionice (P^{P^{sc}}) postmortem, in
tesut de bovine si rumegatoare mici.

Nota: vezi prospectul pentru instructiuni.
Exclusiv pentru uz veterinar.

Articol	Reagenti	Volume
A	placi de captura antigenica	5
N	control negativ –nonreactiv	5x1ml
P	control pozitiv –neinfectios	5x1ml
D1	component 1 de diluare placa	1x20ml
D2	component 2 de diluare placa	5x200µl
R	diluam de reconstituire	1x20ml
CR	tampon de conditionare	1x60ml
CC	conjugat concentrat	1x300µl
SRB-CC	conjugat concentrat pentru creier rumegatoare mici	1x300µl
CD	diluanti pentru conjugat tamp.	1x60ml
W1	10 x solutie de spalare	1x450ml
W2	10 x solutie de spalare	1x450ml
T	TMB substrat	1x60ml

Pastrare :

Pastrati kitul la temperatura 2-8°C.

Licenta veterinara U.S. nr. 313.

Codul produsului: 544021



Laboratoarele IDEXX, Inc.

One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092 USA

Tel: 1 207 556 0300 or 1 800 248 2488

idexx.com

