



INSTRUCTIUNI UTILIZARE


ID Screen[®] Schmallenberg Virus Indirect TEST DE CONFIRMARE

ELISA indirectă pentru detecția anticorpilor anti virusul Schmallenberg în ser și plasmă

August 2012: Păstrați microplaca la $5 \pm 3^\circ\text{C}$. Atenție când stocați plăcile deschise. Vă rugăm citiți documentul "Condiții de păstrare a plăcilor Schmallenberg"

Septembrie 2012: Diluția tamponului 11 este înlocuită de diluția tamponului 14 și probele sunt diluate direct în placă (prediluția nu mai este necesară)

Pentru utilizare *in vitro*

NOACK
NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Urdaleanu 24, Sect. 5
Bucuresti
Tel. +40 (0) 31 31 66 70
Fax +40 (0) 31 66 58
www.noack.ro 

SBVB versiunea 1012 GB





Informații generale

Acest set de diagnostic este proiectat să detecteze anticorpilor anti virusul Schmallerberg (VSB). El poate fi utilizat pe probe individuale de ser și plasmă de bovine, ovine și caprine.

Testul utilizează un conjugat multi-specie aplicabil la un domeniu larg de animale. Vă rugăm să contactați ID VET pentru mai multe detalii.

Descriere și principiu

Godeurile sunt căptușite cu antigen nucleoproteic recombinat al virusului Schmallerberg (VSB).

Rândurile pare ale plăcii sunt căptușite cu antigen purificat VSB. Coloanele impare sunt lăsate necăptușite.

Probele de testat și controalele se adaugă în godeuri. Dacă sunt prezenți anticorpi anti-VSB, se formează un complex antigen-anticorp.

Se adaugă conjugatul multi-specie cuplat cu peroxidază. Acesta se fixează la anticorpii anti-VSB, formând un complex antigen-anticorp-conjugat-peroxidază.

După spălare pentru eliminarea excesului de conjugat, se adaugă **Soluția Substrat (TMB)**.

Culoarea rezultată depinde de cantitatea de anticorpi specifici prezenți în proba de testat:

- În prezența anticorpilor, apare culoarea albastră care devine galbenă după adăugarea **Soluției de Stopare**.
- În absența anticorpilor, nu apare nici o culoare.

Microplaca se citește la 450nm.

NOACK

NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Urdareanu St. Sect. 5
București
Tel: +40 755 7217 66 70
Fax: +40 755 7376 66 58
www.noackgroup.com



Componentele setului

Reagenți*
Microplăci căptușite cu antigen nucleoproteic recombinant VSB (rândurile pare)
Conjugat concentrat (10x)
Control pozitiv
Control negativ
Tampon de diluție 14
Tampon de diluție 3
Soluție de spălare concentrată (20x)
Soluție Substrat
Soluție de Stopare (H ₂ SO ₄ 0.5M)

*Cantitățile sunt indicate pe etichetele din set.

1. Conjugatul, **plăcile**, controalele și soluția substrat trebuie păstrate la 5⁰C (±3⁰C).
2. Ceilalți reagenți pot fi stocați între +2⁰C și +26⁰C.
3. Componentele cu același nume (soluția de spălare, tampoanele de diluție) pot fi utilizate pentru toată gama de produse ID VET.

Materiale necesare nefurnizate

1. Micropipete mono sau multi-canal cu volume de 10μl, 100μl și 200μl.
2. Vârfuri de micropipetă.
3. Cititor de microplăci de 96 de godeuri.
4. Apă distilată sau deionizată.
5. Spălător manual sau automat.

NOACK
NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Urubeanu 3A, Sector 5
Bucuresti
Tel: +40 21 317 66 70
Fax: +40 21 316 66 58
www.noackgroup.com



Precauții

1. Nu pipetați cu gura.
2. Soluția substrat poate fi iritantă pentru piele.
3. Soluția de stopare (H_2SO_4 0.5M) poate cauza arsuri grave (**R35**). În cazul contactului cu pielea sau ochii, spălați imediat și din abundență cu apă și consultați un doctor (**S26**).
4. Nu expuneți soluția substrat la lumină sau la agenți oxidanți.
5. Decontaminați toți reagenții înainte de eliminare.

Prepararea probelor

Pentru evitarea apariției diferențelor dintre probe la timpii de incubare, dacă este posibil, pregătiți o placă de 96 de godeuri ce conține probele și controalele, înainte de transferul acestora în microplaca ELISA utilizând o micropipetă multicanal.

Prepararea soluției de spălare

Dacă este necesar, aduceți Soluția de spălare concentrată (20x) la temperatura camerei și agitați ușor pentru a vă asigura că este complet solubilizată.

Preparați Soluția de spălare (1x) prin diluarea Soluției de spălare concentrată (20x) în apă distilată /deionizată.

Procedura de testare

Aduceți toți reagenții la temperatura camerei ($21^{\circ}C \pm 5^{\circ}C$) înainte de utilizare . Omogenizați toți reagenții prin agitare sau răsturnare.

1. Adăugați:
 - 90μl **Tampon de diluție 14** în fiecare godeu.
 - 10 μl **Control negativ** în godeurile A1, A2, B1 și B2
 - 10 μl **Control pozitiv** în godeurile C1, C2, D1 și D2

NOACK

NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Urdeleanu 34, Sect. 5
Bucharest
Tel: +40 721 317 66 70
Fax: +40 721 316 66 58
www.noackgroup.com



– 10 μ l din fiecare probă de testat în godeurile rămase.

Atenție: Acesta este un test de confirmare. Fiecare probă și control trebuie pipetat în duplicat într-un godeu dintr-un rând par și un godeu din rândul impar adiacent.

2. Agitați placa manual sau cu un agitator de microplăci pentru agitarea conținutului.
3. Incubați **45 \pm 5 minute** la 21⁰C (\pm 5⁰C).
4. Goliți godeurile. Spălați fiecare godeu de 3 ori cu aproximativ 300 μ l **Soluție de spălare**. Evitați uscarea godeurilor între spălări.
5. Preparați **Conjugatul 1x** prin diluarea **Conjugatului concentrat 10x** la diluția 1/10 în **Tampon de diluție 3**.
6. Adăugați 100 μ l **Conjugat 1x** în fiecare godeu.
7. Incubați **30 \pm 3 minute** la 21⁰C (\pm 5⁰C).
8. Goliți godeurile. Spălați fiecare godeu de 3 ori cu aproximativ 300 μ l **Soluție de spălare**. Evitați uscarea godeurilor între spălări.
9. Adăugați 100 μ l **Soluție substrat** în fiecare godeu.
10. Incubați **15 \pm 2 minute** la 21⁰C (\pm 5⁰C), la întuneric.
11. Adăugați 100 μ l **Soluție de stopare** în fiecare godeu pentru stoparea reacției.
12. Citiți și înregistrați D.O. la 450nm.

Validarea

Calculați DOnet rezultate (utilizate pentru validare și interpretare):

DO net = DO godeuri pare – DO godeuri impare

NOACK

NOACK ROMANIA SRL
Ion Ūrdareanu 34C Sect. 5
București
Tel. +40 / 21 / 317 66 70
Fax +40 / 21 / 316 88 58
www.noackgroup.com

Testul este validat dacă:

- Media valorii DO net a Controlului pozitiv (DO_{CP}) este mai mare decât 0,350.

$DO_{CP} \text{ net} > 0,350$

- Raportul dintre media valorilor Controalelor Pozitiv și Negativ (DO_{CP} și DO_{CN}) este mai mare decât 3. În această formulă, utilizați valoarea absolută a CN net.

$DO_{CP} \text{ net} / \text{valoarea absolută } DO_{CN} \text{ net} > 3.$

Interpretarea

Pentru fiecare probă, se calculează procentajul S/P:

$$S/P = \frac{DO_{proba \text{ net}}}{DO_{CP \text{ net}}} \times 100$$

Probele care prezintă un procentaj S/P ($S/P\%$):

- mai mic sau egal cu 50% sunt considerate negative.
- mai mare decât 50% și mai mic sau egal cu 60% sunt considerate dubioase.
- mai mari decât 60% sunt considerate pozitive.

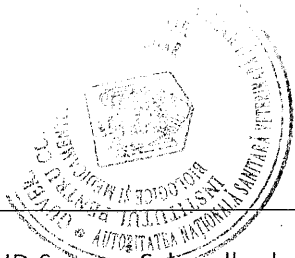
Rezultat	Status
$S/P \% \leq 50\%$	NEGATIVE
$50\% < S/P \leq 60\%$	DUBIOASE
$S/P \% > 60\%$	POZITIVE

Nota 1: dacă DO a probelor din godeurile de control (coloane impare) este mai mare decât cea a controlului pozitiv (DO_{CP}), rezultatul nu poate fi interpretat.

Nota 2: rezultatele pozitive pot fi confirmate prin alte tehnici serologice (virus neutralizare, imunofluorescență indirectă).

NOACK

NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Bredareanu 3A-Sect. 5
Bucuresti
Tel. +40 721 7017 66 70
Fax +40 721 7316 66 58
www.noackgroup.com



ID Screen - Schmallenberg Virus Indirect		Cod	SBVB-4P
Multi-species	Confirmation test	Instructiuni	1012
ELISA indirecta pentru detectia anticorpilor anti virusul Schmallenberg		Lot	459
in ser si plasma de bovine, ovine si caprine		Exp	09/2014
Componente		Lot	Exp.
4 x 1	Microplaci captusite cu antigen viral Schmallenberg	684-002	09/2014
1 ml	Control pozitiv	384-003	09/2014
1 ml	Control negativ	21-008	12/2014
60 ml	Tampon dilutie 14	14-002	03/2015
6 ml	Conjugat concentrat 10X	484-003	09/2014
60 ml	Tampon dilutie 3	3-007	11/2014
60 ml	Solutie spalare concentrata 20X	15-004	12/2015
60 ml	Solutie substrat	7-010	01/2015
60 ml	Solutie stopare	10-004	05/2016

IDVET
diagnostics

ID Screen®
Schmallenberg Virus Indirect

ID-VET - 167 rue Medhi Ben Barka - GAROSUD - 34070 MONTPELLIER - France
Tel : + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax : + 33 (0)4 67 45 36 95 - idvet.info@id-vet.com
SIRET 478 123 219 00014 - APE 731 Z - TVA FR 17478123219
WWW.ID-VET.COM

IDVET
diagnostics

Schmallenberg Virus
Indirect (godeuri duble)

Test in vitro

Test in vitro

Godeuri căptușite

Lot: 684-002
Exp:09/2014
Conservare: +2 - +26°C

IDVET
diagnostics

SBVB

Conjugat concentrat

Lot / Ch.-B : 484-003 6ml
Exp. : 09/2014 (10x)
Depozitare : + 2 - + 8 °C

NOACK

NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Urzăreanu 34, Sect. 5
București
Tel: +40 / 21 / 317 66 78
Fax: +40 / 21 / 316 66 58
www.noackgroup.com