



BLUETONGUE VIRUS (BTV) VP7 ANTIBODY TEST KIT

DETECȚIA ANTICORPILOL SPECIFICI

AI PROTEINEI VP7 A VIRUSULUI BLUETONGUE (BTV)

IDEXX Bluetongue Competiție
Versiune : P00450-09

Test with confidence*

IDEXX





Kit pentru detecția anticorpilor VP7 ai virusului Bluetongue (BTv)

Exclusiv de uz veterinar

Denumire și utilizare

IDEXX Bluetongue Competition este o tehnică imunoenzimatică pentru detectia anticorpilor specifici ai proteinei VP7 a virusului Bluetongue (BTv) în probe individuale de ser și plasmă de bovine, ovine și caprine.

Informații generale

Boala limbii albastre este o boală virală care afectează ovinele, caprinele, bovinele și rumegătoarele sălbaticice. Boala este transmisă de o insectă din genul *Culicoides* și semnele clinice pot fi asociate cu inflamații intense și febră mare, congestii și edeme ale limbii și feței, ulcerații și hemoragii ale mucoasei. Boala poate fi produsă de virusul Bluetongue (BTv), un ARN segmentat *Orbivirus* al familiei *Reoviridae*. Se cunosc 24 de serotipuri, dintre proteinele virale BTv, VP7 este comună celor 24 de serotipuri, puternic imunogenă și specifică BTv.

Acest kit este destinat detecției anticorpilor împotriva proteinei VP7 a virusului Bluetongue (BTv) în probe de ser individual și plasmă de bovine, ovine și caprine.

Descriere și principiu

Microplăcile sunt căptușite cu proteină recombinantă VP7. Probele de testat se diluează și se incubeză în godeuri. Imediat după incubarea probelor în godeurile căptușite, se adaugă anticorpi specifici VP7 și se formează un complex imun cu VP7. În prezența complexului imun anticorpi VP7, conjugatul este împiedicat să se lege la epitopii corespunzători de pe placă. În absența anticorpilor VP7 din probă, conjugatul este liber să se lege la epitopii corespunzători de pe placă. Conjugatul nelegat este spălat și se adaugă substratul enzimatic (TMB). În prezența enzimei, substratul este oxidat și dezvoltă un compus albastru care devine galben după blocare. Culoarea dezvoltată este invers proporțională cu cantitatea de anticorpi anti-VP7 din proba de testat (vezi „Calcule” și „Interpretarea rezultatelor”).

Relevanța diagnosticului rezultatului este obținută prin compararea densității optice a probei cu media densității optice a controlului negativ (vezi „Calcule” și „Interpretarea rezultatelor”).

Reagenți

Păstrați toți reagenții la 2-8°C.

Reagenți

		Volume	
1	Plăci căptușite cu proteina VP7-BTV	5	10
2	Control pozitiv	1ml	1ml
3	Control negativ	1ml	2 x 1ml
4	Conjugat concentrat (anti-VP7 HRPO)	4 ml	2 x 4ml
5	Tampon de diluție N.2	120ml	120ml
A	Substrat TMB N.12	60ml	120ml
B	Soluție de stopare N.3	60ml	120ml
C	Soluție de spălare concentrată (20X)	100ml	2x 100ml



Notă: vezi tabelul de la pag. 27 pentru descrierea simbolurilor internaționale utilizate pe etichete.

Materiale necesare dar nefurnizate

(centrifugă capacitate 200xg)

- Micropipete de precizie și micropipete multicanal (volumele reagentilor sunt listate în „Protocolul de testare” cu precizie de $\pm 5\%$)
- Vârfuri de micropipetă
- Agitator de plăci
- Apă distilată sau deionizată
- Spălător de plăci (manual, semi-automat sau sistem automat)
- Capace de plăci (folii adezive sau de aluminiu)
- Cititor de microplăci cu 96 de godeuri echipat cu filtru de 450nm

Precauții și avertismente pentru utilizator

- Nu pipetați cu gura
- Purtați mănuși de protecție/echipament de protecție/ochelari de protecție/mască de protecție
- Controalele, substratul TMB și soluția de spălare pot provoca iritația ochilor
- Soluția de stopare poate provoca arsuri severe ale pieii și ochilor
- Toate reziduurile trebuie decontaminate corespunzător înainte de evacuare. Evacuați conținutul în conformitate cu legislația locală, regională și națională

Prepararea reagentilor

Soluția de spălare

Soluția de spălare concentrată (20x) trebuie diluată 1:20 în apă distilată/deionizată înainte de utilizare (ex. 15 ml soluție de spălare concentrată (20x) în 285ml apă distilată). Această soluție va fi numită pe viitor „Soluție de spălare”.

Notă: Soluția de spălare concentrată (20x) trebuie adusă la 18-26°C și amestecată bine pentru dizolvarea oricărora săruri precipitate. Soluția de spălare este stabilă timp de 3 zile păstrată la 2-8°C.

Conjugatul

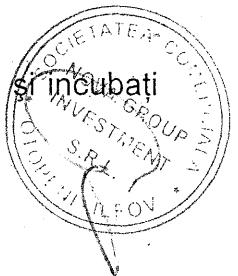
Conjugatul concentrat trebuie diluat 1:20 în soluția de spălare.

Notă: Soluția de conjugat diluat este stabilă timp de 8 ore la 18-26°C.

Procedura de testare

Toți reagenții trebuie aduși la 18-26°C înainte de utilizare. Reagenții trebuie agitați prin învărtire ușoară sau vortexare. Utilizați vârfuri diferite pentru fiecare probă. Controalele pot fi pipetate oriunde în placă. Pe placă căptușită înregistrați poziția fiecarei probe pe o foaie de lucru.

1. Pipetați 80µl tampon de diluție N.2 în fiecare godeu.
2. Pipetați 20 µl control negativ nediluat în godeurile corespunzătoare
3. Pipetați 20 µl control pozitiv nediluat în godeurile corespunzătoare
4. Pipetați 20 µl probă nediluată per godeu
5. Omogenizați conținutul godeurilor utilizând un agitator de microplăci
6. Acoperiți microplaca (cu un capac, folie de aluminiu sau folie adezivă) și incubați 45 minute (± 3 min.) la 18-26°C.
7. Adăugați 100 µl conjugat diluat în fiecare godeu.
8. Acoperiți microplaca (cu un capac, folie de aluminiu sau folie adezivă) și incubați 45 minute (± 3 min.) la 18-26°C.



9. Spălați fiecare godeu de 3 ori cu aproximativ 300 µl soluție de spălare. Aspirați conținutul lichid din godeuri după fiecare spălare. După ultime spălare, ștergeți fiecare placă pe un material absorbant pentru a elimina rezidua. Evitați uscarea plăcii între spălări și înainte de adăugarea următorului reagent.
10. Adăugați 100 µl substrat TMB N.12 în fiecare godeu.
11. Incubați 10 minute (\pm 3 min.) la 18-26°C ferit de lumina directă.
12. Pipetați 100 µl soluție de stopare N.3 în fiecare godeu. Agitați placa prin bătaie ușoară. Ștergeți cu grijă fundul plăcii.
13. Citiți față de aer
14. Măsurați și înregistrați valorile absorbanțelor controalelor și probelor la 450nm.
15. Calculați rezultatele.

Notă: când utilizați robotică, incubarea microplăcilor în cameră umedă permite lucrul fără capac de placă. Utilizarea roboților este de asemenea compatibilă cu agitarea ușoară sau ștergerea plăcii. Plăcile pot fi ținute 1 oră la întuneric înainte de citire.

Rezultate

Pentru validarea încercării, media absorbanței controlului negativ trebuie să fie mai mare sau egală cu 0,700 și mai mică sau egală cu 0,300. În plus, procentajul S/N al controlului pozitiv trebuie să fie mai mic decât 20%.

Notă: IDEXX deține instrumentele și programele potrivite cu care calculează mediile și blocare% și furnizează datele.

Calcule

Calculul mediei controlului negativ

$(CN\bar{x})$

$$CN\bar{x} = \frac{CN1A_{450} + CN2A_{450}}{2}$$

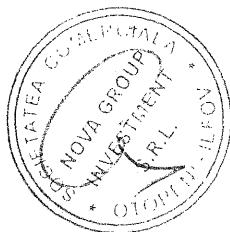
Calculul pentru proba de testat

Procentaj S/N(%)

$$S/N\% = 100 \times \frac{ProbaA_{450}}{CN\bar{x}}$$

Interpretarea rezultatelor

- Probele cu procentajul S/N mai mare sau egal cu 80% sunt considerate negative pentru prezența anticorpilor virusului Bluetongue
- Probele cu procentajul S/N mai mare decât 70% și mai mic decât 80% sunt considerate dubioase și trebuie retestate
- Probele cu procentajul S/N mai mic sau egal cu 70% trebuie să fie considerate pozitive Bluetongue



Sumarul procedurii de testare

IDEXX recomandă citirea cu atenție a instrucțiunilor înainte de utilizarea testului pentru primulă dată.

Etape	Acțiune
1. Prepararea reagentilor	Soluția de spălare concentrată (20X) trebuie diluată 1:20 cu apă distilată/deionizată înainte de utilizare. Conjugatul concentrat trebuie diluat 1:20 în soluția de spălare
2. Distribuirea probelor	Pipetați 80µl tampon de diluție N.2 în fiecare godeu. Pipetați 20 µl control negativ nediluat în godeurile corespunzătoare Pipetați 20 µl control pozitiv nediluat în godeurile corespunzătoare Pipetați 20 µl probă nediluată per godeu Omogenizați conținutul godeurilor utilizând un agitator de microplăci
3. Incubarea probelor	Acoperiți microplaca (cu un capac, folie de aluminiu sau folie adezivă) și incubați 45 minute (± 3 min.) la 18-26°C.
4. Distribuirea conjugatului	Adăugați 100 µl conjugat diluat în fiecare godeu
5. Incubarea conjugatului	Acoperiți microplaca (cu un capac, folie de aluminiu sau folie adezivă) și incubați 45 minute (± 3 min.) la 18-26°C.
6. Spălarea plăcii	Spălați fiecare godeu de 3 ori cu aproximativ 300 µl soluție de spălare
7. Distribuirea substratului	Adăugați 100 µl substrat TMB N.12 în fiecare godeu.
8. Incubarea substratului	Incubați 10 minute (± 3 min.) la 18-26°C ferit de lumina directă.
9. Stoparea reacției	Pipetați 100 µl soluție de stopare N.3 în fiecare godeu
10. Citirea plăcii	Citiți placa față de aer. Măsurăți și înregistrați valorile absorbanțelor controalelor și probelor la 450nm. Calculați rezultatele.
11. Interpretarea	Probele cu procentajul S/N mai mare sau egal cu 80% sunt considerate negative pentru prezența anticorpilor virusului Bluetongue Probele cu procentajul S/N mai mare decât 70% și mai mic decât 80% sunt considerate dubioase și trebuie retestate Probele cu procentajul S/N mai mic sau egal cu 70% trebuie să fie considerate pozitive Bluetongue

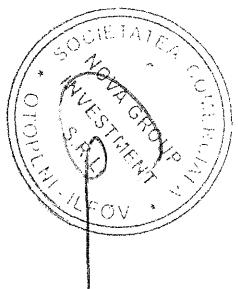
Produs de:

IDEXX Montpellier SAS
326 rue de la Galera – Parc Euromedicine
34090 Montpellier, Franța

Pentru asistență tehnică:

Contactați managerul sau distribuitorul IDEXX apropiat
sau vizitați: www.idexx.com/production/contact
Suport tehnic IDEXX: 00-800-727-43399

*IDEXX și Test with Confidence sunt marcă înregistrată a IDEXX Laboratories, Inc., sau a afiliatelor sale din Statele Unite și/sau alte țări.





P00450-5

IDEXX Bluetongue Competiție

Kit de detecție a
anticorpilor VP7 ai
virusului Bluetongue
(BTV)

REF:

LOT | SN

Kit de detecție a anticorpilor dirijați contra proteinei VP7 a virusului
Bolii Limbii Albastre (BTB)

IDEXX Bluetongue Competiție

Pentru utilizare cu seruri și plasmă de rumegătoare

Notă: Exclusiv de uz veterinar

Reagenți	Cantități
1. Plăci căptușite cu proteina VP7-BTV	5
2. Control pozitiv	1 x 1ml
3. Control negativ	1 x 1ml
4. Conjugat concentrat	1 x 4ml
5. Tampon de diluție N.2	1 x 120ml
A. Substrat TMB N.12	1 x 60ml
B. Soluție de stopare N.3	1 x 60ml
C. Soluție de spălare concentrată (20x)	1 x 100ml

IDEXX Bluetongue Competiție
5 x 96 wells

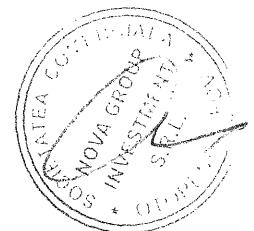
IDEXX Montpellier SAS
326 rue de la Galera, 34090
Montpellier, Franța
Tel. +33 (0)4 99 23 24 25
Fax +33 (0)4 67 04 20 25

ECRAN

IVD

8°C
2°C

04-57306-00



P00450-5
IDEXX BTV

1 Reagență cu proteina VP7-BTV		IDEXX
IDEXX Bluetongue Competitie		LOT
1 x 96 godeuri		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		i FC
IDEXX Montpellier SAS, 326 rue de la Galera, 34090 Montpellier, Franța 04-57504400 IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 49-53130-00		

2 CONTROL +		IDEXX
IDEXX Bluetongue Competitie		LOT
1,0 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		i FC
IDEXX Montpellier SAS, rue de la Galera, 34090, Montpellier, Franța IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 04-54130-00 44-54130-00		

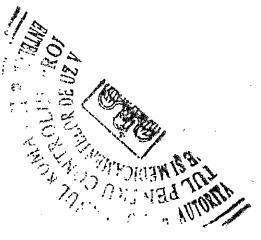
3 CONTROL -		IDEXX
IDEXX Bluetongue Competitie		LOT
1,0 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		i FC
IDEXX Montpellier SAS, rue de la Galera, 34090, Montpellier, Franța IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 04-53130-00 42-54130-00		

4a Conjugat concentrat		IDEXX
IDEXX Bluetongue Competitie		LOT
4,0 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		i FC
IDEXX Montpellier SAS, rue de la Galera, 34090, Montpellier, Franța IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 04-53130-00 42-53120-00		

5 Diluant probe N.2		IDEXX
IDEXX Bluetongue Competitie		LOT
120 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		i FC
IDEXX Montpellier SAS, 326 rue de la Galera, 34090 Montpellier, Franța 04-54021400 IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 45-54021-00		

A Substrat TMB N. 12		IDEXX
60 ml		LOT
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		i FC Nr. KIRK
IDEXX Montpellier SAS, 326 rue de la Galera, 34090 Montpellier, Franța 04-56122-00 IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 45-56122-00		



**B****Soluție de stopare N.3****IDEXX**

LOT



Nr. K 084

60 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD



Nr. K 084

IDEXX Montpellier SAS, 326 rue de la Galera, 34090 Montpellier
France
04-57032-00IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
46-57032-00**C****Soluție de spălare concentrată (20x)****IDEXX**

LOT



Nr. K 077

100 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD



Nr. K 077

IDEXX Montpellier SAS, 326 rue de la Galera, 34090 Montpellier,
France
04-55011-00IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
43-58011-00



P00450-10

IDEXX Bluetongue Competiție

Kit de detecție a
anticorpilor VP7 ai
virusului Bluetongue
(BTV)

IDEXX Bluetongue Competiție
10 x 96 wells

REF:

LOT | SN

Kit de detecție a anticorpilor dirijați contra proteinei VP7 a virusului
Bolii Limbii Albastre (BTB)

IDEXX Bluetongue Competiție

Pentru utilizare cu seruri și plasmă de rumegătoare

Notă: Exclusiv de uz veterinar

Reagenți	Cantități
1. Plăci căptușite cu proteina VP7-BTV	10
2. Control pozitiv	1 x 1ml
3. Control negativ	2 x 1ml
4. Conjugat concentrat	2 x 4ml
5. Tampon de diluție N.2	1 x 120ml
A. Substrat TMB N.12	1 x 120ml
B. Soluție de stopare N.3	1 x 120ml
C. Soluție de spălare concentrată (20x)	2 x 100ml



IDEXX Montpellier SAS
326 rue de la Galéra, 34090
Montpellier, Franța
Tel. +33 (0)4 99 23 24 25
Fax +33 (0)4 67 04 20 25

EGSEPI

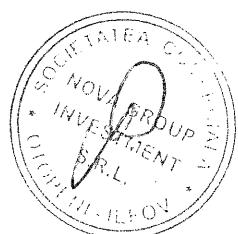
IVD

CE

8°C
2°C

IDEXX Europa B.V.
PO Box. 1334, 2130 EK
Hoofddorp, Olanda
Tel. 00800-727-43399
Fax 00800-433-99329

04-57306-00





P00450-10

IDEXX BTV

1	Placă căpușită cu proteina VP7-BTV	IDEXX
IDEXX Bluetongue Competitie		
1 x 96 godeuri		LOT
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		
IDEXX Montpellier SAS, 326 rue de la Galera, 34090 Montpellier, Franța 04-57504-00		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 FK Hoofddorp, Olanda 49-53130-00

2	CONTROL +	IDEXX
IDEXX Bluetongue Competitie		
1,0 ml		LOT
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		
IDEXX Montpellier SAS, rue de la Galera, 34090, Montpellier, Franța IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 04-54130-00		44-54130-00

3	CONTROL -	IDEXX
IDEXX Bluetongue Competitie		
1,0 ml		LOT
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		
IDEXX Montpellier SAS, rue de la Galera, 34090, Montpellier, Franța IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 04-53130-00		42-53130-00

4a	Conjugat concentrat	IDEXX
IDEXX Bluetongue Competitie		
4,0 ml		LOT
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		
IDEXX Montpellier SAS, rue de la Galera, 34090, Montpellier, Franța IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 04-53130-00		42-53130-00

5	Diluant probe N.2	IDEXX
IDEXX Bluetongue Competitie		
120 ml		LOT
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		
IDEXX Montpellier SAS, 326 rue de la Galera, 34090 Montpellier, Franța 04-54021-00		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 45-54021-00

A	Substrat TMB N. 12	IDEXX
120 ml		LOT
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		
IDEXX Montpellier SAS, 326 rue de la Galera, 34090 Montpellier, Franța 04-56122-00		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 45-56122-00





B Soluție de stopare N.3

120 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD

LOT
Nr. K 084

IDEXX Montpellier SAS, 326 rue de la Galera, 34090 Montpellier,
France 04-57032-00

IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
46-57032-00

C Soluție de spălare concentrată (20x)

100 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD

LOT
Nr. K 077

IDEXX Montpellier SAS, 326 rue de la Galera, 34090 Montpellier,
France 04-55011400

IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
43-58011-00

