

## **Kit de detectie a anticorpilor Diareei Virale Bovine (BVDV) la bovine**

### **IDEXX BVDV Total Ab (cod 99-44000)**

#### **Nume si Utilizare**

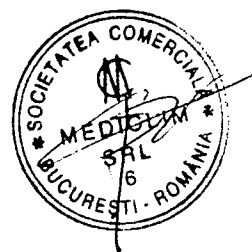
IDEXX BVDV Total Ab este un kit produs de IDEXX pentru detectia anticorpilor anti BVDV in probe de ser individual, plasma si lapte, dar si in amestec de probe de lapte bovin.

#### **Informatii Generale**

Virusul Diareei Virale Bovine, virusul Bolii Border (de Granita) si virusul Pestei Porcine Clasice sunt 3 membrii ai genului Pestivirus din familia Flaviviridae. BVDV este unul din cei mai importanti virusi patogeni pentru bovine cauzand pierderi considerabile in efectivele de taurine de lapte si carne, in toata lumea. Simptomele tipice pentru infectia cu BVDV sunt diareea, febra urmate de reducerea productiei de lapte. Efectul imunosupresant al virusului poate determina prin consecinta infectii secundare cu diversi agenti patogeni. Virusul traverseaza placenta inducand avorturi, fatate de produse neviabili sau produse ce mor de timpuriu. O parte din viteii ce supravietuiesc infectiei devin imunotoleranti si vor secreta o cantitate impresionanta de virus pentru toata viata. Este important sa se identifice aceste animale purtatoare pentru a „rupe„ ciclul viral din efectivele contaminate. Animalele purtatoare de cele mai multe ori mor in primii doi ani de viata datorita bolii mucoaselor. Ca urmare a infectarii in utero, BVDV este un contaminant frecvent al produselor biologice cum ar fi vaccinurile sau produse farmaceutice. Virusul Diareei Virale Bovine determina sindroame similare la ovine, in timp ce virusul Pestei Porcine Clasice determina pierderi importante in efectivele de suine fiind inalt patogen si implicit determinand mortalitate ridicata. Toate pestivirusurile se pot identifica la bovine.

#### **Descriere/Principiu**

IDEXX BVDV Total Ab este un kit bazat pe o metoda imunoenzimatica indirecta de detectie a anticorpilor anti BVDV (Ac) in probe de ser, plasma sau lapte provenite de la bovine. Un format de placa de microtitrare captusita cu antigen viral a fost conceput pentru detectia anticorpilor. Anticorpii prezenti in proba se vor lega de antigenul viral capturat pe placa. Dupa incubarea probei in godeu, anticorpii anti BVDV sunt detectati de catre conjugatul marcat cu peroxidaza. Conjugatul nelegat la complexul antigen-anticorp este indepartat in etapa de spalare dupa care este adaugata o solutie de substrat/cromogen. In prezenta enzimei, substratul este convertit intr-un compus ce reactioneaza cu cromogenul pentru a genera o culoare albastra. Dupa adaugarea solutiei de stopare culoarea devine galbena. Absorbanta culorii generate este masurata prin utilizarea unui spectrofotometru. Raportul Proba/ Control Pozitiv este calculat utilizand absorbantele probei si ale controlului pozitiv corectate pentru absorbanta controlului negativ. Culoarea dezvoltata indica prezenta anticorpilor BVDV in proba testata (rezultat pozitiv).



Reagenți		Volume
1	Placi captusite cu antigen BVDV	5
2	Control pozitiv	1 x 1.0ml
3	Control negativ	1 x 1.0ml
4	Conjugat	1 x 60ml
5	Diluant pentru probe	1 x 60ml
A	Substrat TMB N.12	1 x 60ml
B	Solutie de stopare N.3	1 x 60ml
C	Solutie de spalare concentrata (10X)	1 x 480ml
Alte componente: pungi cu sistem de inchidere		1

Nota: vezi tabelul de la sfarsitul prospectului pentru descrierea simbolurilor utilizate in instructiuni si pe etichetele din acest kit.

### **Pastrare**

Pastrati reagentii la 2-8<sup>0</sup>C. Reagentii sunt stabili pana la data expirarii, daca au fost stocati corespunzator.

### **Materiale necesare dar nefurnizate in kit**

- Micropipete de precizie sau micropipete multicanal
- Varfuri de pipeta de unica folosinta
- Cilindru gradat pentru solutia de spalare
- Cititor de placi cu 96 godeuri (echipat cu filtru de 450nm sau filtre de 450 si 650nm)
- Spalator de microplaci (manual, semi-automat sau automat)
- Utilizati doar apa distilata sau deionizata pentru prepararea reagentilor utilizati in test
- Acoperitoare de microplaci (capac, folie de aluminiu sau folie adeziva)
- Centrifuga (capacitate 2000xg)
- Agitator sau echivalent
- Agitator de microplaci

### **Precautii si Avertismente pentru utilizatori**

- Manipulati materialele avand in vedere potentialul contaminant
- Purtati manusi de protectie/haine de protectie/protectie pentru fata si ochi cand manipulati probele si reagentii
- Consultati Fisa tehnica de securitate a produsului pentru informatii suplimentare
- Uitati-va la sfarsitul instructiunilor de lucru pentru precautii si avertismente

### **Practici de laborator**

- Rezultate optime se obtin prin aplicarea stricta a protocolului de lucru. Pipetarea corecta, respectarea timpilor de incubare si a etapelor de spalare sunt mandatorii pentru a realiza un test corect. Utilizati varfuri de pipete separate pentru fiecare proba si control.
- Nu expuneti solutia TMB la lumina puternica sau agenti oxidanti. Manevrati solutia TMB utilizand recipienti curati de sticla sau plastic
- Toate reziduurile trebuie decontaminate inainte de aruncare. Aruncarea trebuie facuta conform regulamentelor locale, regionale si nationale.
- Trebuie avuta grija sa nu se contamineze componentele kitului. Nu puneti reagentii nefolositi inapoi in flacoane
- Nu utilizati kitul dupa data expirarii si nu utilizati reagenti din kituri cu numere de lot diferite



## Prepararea solutiei de spalare

Solutia de spalare concentrata (10X) se echilibreaza la 18-26<sup>0</sup>C si se agita pentru a se dizolva sarurile precipitate. Solutia concentrata se dilueaza 1 parte la 10 parti apa distilata/deionizata inainte de utilizare (ex. 30ml solutie concentrata cu 270ml de apa pentru o placa). Daca solutia 1X este preparata in conditii sterile aceasta poate fi pastrata o saptamana la 2-8<sup>0</sup>C.

## Prepararea probelor

Pot fi utilizate in acest test probe proaspete sau congelate de ser, plasma sau lapte. Probele integrale de lapte pot fi utilizate dupa centrifugare timp de 15 minute la 2000xg sau se vor lasa peste noapte la frigider ( 2-8<sup>0</sup> C). Probele de lapte degresat nu necesita nici o preparare prealabila.

## Protocol de testare

Toti reagentii se aduc la 18-26<sup>0</sup>C inainte de utilizare. Acestia se vor omogeniza prin miscari usoare sau pe vortex.

### Probele de ser sau plasma

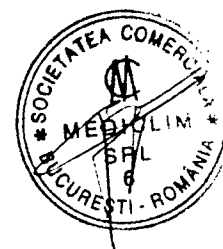
1. Se scoate o placa din folia protectoare, se marcheaza pe fisa de lucru pozitia probelor pe placa. Daca utilizati partial placile, scoateti doar acele godeuri necesare pentru probele de testat. Puneti godeurile ramase, impreuna cu desiccantul in punga cu inchidere furnizata in kit si readuceti-o la 2-8<sup>0</sup> C.
2. Se pun 100μl diluant de proba in fiecare godeu.
3. Se pipeteaza 25μl control negativ (CN) in 2 godeuri.
4. Se pipeteaza 25μl control pozitiv (CP) in 2 godeuri.
5. Se pipeteaza 25μl de proba in godeurile ramase. Se continua cu etapa 6.

### Probele de lapte

1. Se scoate o placa din folia protectoare, se marcheaza pe fisa de lucru pozitia probelor pe placa. Daca utilizati partial placile, scoateti doar acele godeuri necesare pentru probele de testat. Puneti godeurile ramase, impreuna cu desiccantul in punga cu inchidere furnizata in kit si readuceti-o la 2-8<sup>0</sup> C
2. Se pipeteaza 100μl de diluant de proba numai in godeurile pentru controlul negativ si pozitiv.
3. Se pipeteaza 25μl de control negativ (CN) in 2 godeuri
4. Se pipeteaza 25μl de control pozitiv (CP) in 2 godeuri
5. Se pipeteaza 100μl lapte **nediluat** (partea de sub stratul de grasime) in godeurile ramase. Se continua cu etapa 6.

### Procedura comuna de testare pentru probele de ser, plasma si lapte

6. Continutul godeurilor se omogenizeaza usor - se bate usor placa cu mana - sau pe vortex
7. Se incubeaza pentru 90 de minute (± 5min) la 18-26<sup>0</sup> C sau peste noapte (12-18 ore) la 2-8<sup>0</sup> C. Protocolul cu timpul de incubare peste noapte este recomandat pentru probele comasate de lapte. Indiferent de protocol, placa se va sigila si se va incuba in camera umeda.
8. Continutul godeurilor este aspirat si se spala fiecare godeu cu aproximativ 300μl de solutie de spalare, de 5 ori. Evitati uscarea placii intre etapele de spalare si inainte de adaugarea urmatorului reagent. Dupa ultima spalare, placa se scutura bine pe o hartie de filtru pentru a nu ramane nici o urma de lichid.
9. Adaugati 100μl de conjugat in fiecare godeu
10. Incubati pentru 30 de minute (± 2min) la 18-26<sup>0</sup> C.
11. Repetati etapa 8.
12. Adaugati 100μl solutie substrat TMB N.12 in fiecare godeu.



13. Incubati 10 minute ( $\pm 1$ min) la  $18-26^{\circ}\text{C}$ .
14. Adaugati 100 $\mu\text{l}$  de solutie de stopare N.3 in fiecare godeu.
15. Masurati si inregistrati absorbantele probelor si controalelor la 450nm sau la o lungime de unda duala de 450 nm respectiv 650nm.
16. Calculul:

**Controalele:**

$$CN_x = \frac{CN1A(450) + CN2A(450)}{2} \quad CP_x = \frac{CP1A(450) + CP2A(450)}{2}$$

Criterii de validare:

$$CN_x \leq 0.250$$

$$CP_x - CN_x \geq 0.150$$

In cadrul incercarilor invalide, tehnica poate fi considerata suspecta si incercarea trebuie repetata urmarind cu strictete protocolul de testare din kit.

**Probele :**

$$S/P = \frac{ProbaA(450) - CN_x}{CP_x - CN_x}$$

Prezenta sau absenta anticorpilor BVDV din proba este determinate din raportul S/P pentru fiecare proba.

17. Interpretarea:

Probe individuale de ser, plasma sau lapte

Negativ	Suspect	Pozitiv
$S/P < 0.20$	$0.20 \leq S/P < 0.30$	$S/P \geq 0.30$

**Probe comasate de lapte :**

Negativ

Pozitiv

$$S/P < 0.20$$

$$S/P \geq 0.20$$

**NOTA:** IDEXX Laboratories detine instrumentul si software-ul pentru a se calcula mediile cat si raportul Proba/ Control Pozitiv.

Pentru asistenta tehnica :

IDEXX USA Tel: +1 800 548 9997 or +1 207 556 4895  
 IDEXX Europe Tel: +800 727 43399

Pentru suport tehnic contactati distribuitorul IDEXX zonal sau vizitati site-ul nostru: [idexx.com/contactpd](http://idexx.com/contactpd).

\*IDEXX si test with Confidence sunt marci inregistrate ale IDEXX laboratories, Inc. Sau ale afiliatelor sale in Statele Unite si /sau alte state.  
 ©2014 IDEXX Laboratories, Inc. Toate drepturile rezervate.



Kit detectie anticorpi  
Anti Virusul Diareei  
Virale Bovine

IDEXX BVDV Total Ab  
5 x 96 godeni

REF

LOT SN

**IDEXX BVDV Total Ab**

A se utiliza cu ser, plasma sau lapte de la bovine  
Notă: Pentru uz veterinar exclusiv.

Reagenți	Cantitatea	LOT
1. Plăci căptușite cu antigen BVDV	5	
2. Control pozitiv	1 x 1 ml	
3. Control negativ	1 x 1 ml	
4. Conjugat	1 x 60 ml	
5. Diluant proba	1 x 60 ml	
A. Substrat TMB Nr. 12	1 x 60 ml	
B. Soluție de stopare Nr. 3	1 x 60 ml	
C. Soluție de spălare concentrată (10x)	1 x 480 ml	

04-04516-03

Nr. De Inregistrare : 0743-RD

Zul.-Nr. : BGW-B 233

**IDEXX**



IDEXX Elvetia Ag  
Strationsstrasse 12  
CH-3097 Liebefeld-Bern  
Elvetia  
Tel: +41 31 90706260

ICREP

IVD

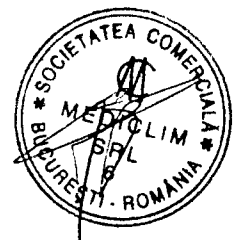


2°C 8°C



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

04-44000-03



<b>1</b>	<b>Placă căptușită cu Antigen BVDV</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX BVDV Total Ab		
1 x 96 godeuri		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IDEXX Elvetia Ag, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern 04-40407-01		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 49-40407

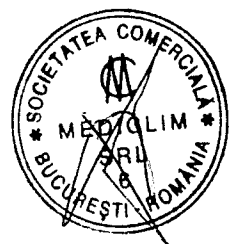
99-44000  
**IDEXX BVDV Total Ab**

<b>2</b>	<b>CONTROL +</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX BVDV Total Ab		
1,0 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar.		
IDEXX Elvetia Ag, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern 04-40409-01		ZUL-Nr.: BGVV-B 233 44-40409

<b>3</b>	<b>CONTROL -</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX BVDV Total Ab		
1,0 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar.		
IDEXX Elvetia Ag, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern 04-40410-01		ZUL-Nr.: BGVV-B 233 44-40410

<b>4</b>	<b>Conjugat</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX BVDV Total Ab		
60 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IDEXX Elvetia Ag, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern 04-40412-01		ZUL-Nr.: BGVV-B 233 42-40412

<b>5</b>	<b>Diluant Proba</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX BVDV Total Ab		
60 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IDEXX Elvetia Ag, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern 04-40411-01		ZUL-Nr.: BGVV-B 233 45-40411



<b>A</b>	<b>Substrat TMB Nr. 12</b>	<b>IDEXX</b>
60 ml		LOT ⌚
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	PC ZUL-Nr.: K 085/1
IDEXX Elvetia Ag. Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebfeld-Bern 04-42718-02		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 46-42718

<b>B</b>	<b>Soluție de stopare Nr. 3</b>	<b>IDEXX</b>
60 ml		LOT ⌚
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	PC ZUL-Nr.: K 084
IDEXX Elvetia Ag. Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebfeld-Bern 04-42722-01		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 46-42722

<b>C</b>	<b>Soluție de spălare concentrată (10x)</b>	<b>IDEXX</b>
480 ml		LOT ⌚
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	PC ZUL-Nr.: K 005/5
IDEXX Elvetia Ag. Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebfeld-Bern 04-40586-01		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 43-40586



Kit detectie anticorpi  
Anti Virusul Diareei  
Virale Bovine

IDEXX BVDV Total Ab  
5 x 96 godeuri

REF

LOT SN

**IDEXX BVDV Total Ab**

A se utiliza cu ser, plasma sau lapte de la bovine

**Notă:** Pentru uz veterinar exclusiv.

Reagenți	Cantitatea	LOT
1. Plăci căptușite cu antigen BVDV	5	
2. Control pozitiv	1 x 1 ml	
3. Control negativ	1 x 1 ml	
4. Conjugat	1 x 60 ml	
5. Diluant proba	1 x 60 ml	
A. Substrat TMB Nr. 12	1 x 60 ml	
B. Soluție de stopare Nr. 3	1 x 60 ml	
C. Soluție de spălare concentrată (10x)	1 x 480 ml	

04-04516-03

Nr. De Inregistrare : 0743-RD

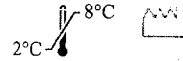
Zul-Nr. : BGVV-B 233

**IDEXX**

  
IDEXX Elvetia Ag  
Strationsstrasse 12  
CH-3097 Liebefeld-Bern  
Elvetia  
Tel: +41 31 90706260

EC REP

IVD



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

04-44000-03

