

Trusa de diagnostic pentru identificarea anticorpilor anti - IBR gB

De uz veterinar

Denumire si scopul utilizarii

Kitul de diagnostic IDEXX IBR gB X3 este un test imunoenzimatic ce utilizeaza anticorpii monoclonali specifici anti IBR-gB pentru detectia anticorpilor specifici anti-virusul Rinotraheitei Bovine (BHV-1) in probe individuale de ser, plasma sau lapte de la bovine.

Informatie generala

Rinotraheita infectioasa bovina este o boala infectioasa, foarte contagioasa produsa de Herpesvirusul Bovin 1(BHV-1). In afara de bolile respiratorii, acest virus mai poate determina conjuctivite, vulvovaginite, avorturi, encefalite cat si infectii sistemice. Chiar daca simptomele clinice pot sugera rinotraheita infectioasa, tulburarile respiratorii nu sunt patognomonice pentru aceasta boala. De aceea, este necesara confirmarea de laborator pentru a identifica definitiv infectia cu BHV-1. Confirmarea expunerii la infectie naturala cu BHV-1 este facilitata prin masurarea anticorpilor in probele de ser sau lapte.

S-a evideniat ca testul imunoenzimatic (ELISA) pentru detectia anticorpilor anti-BHV-1 la bovine se coreleaza cu testul de neutralizare virală, primul fiind mai sensibil.

Descriere si Principii

IDEXX IBR gB X3 este un test imunoenzimatic pentru detectia prezentei anticorpilor anti-IBR/IPV in probe individuale de ser, plasma sau lapte de la bovine. Mai mult, raspunsul anticorpilor indus de vaccinuri care contin glicoproteina B (gB) a BHV1 este detectat prin metoda ELISA. Din aceste considerente, un format de placa de microtitrare captusita cu antigene virale a fost creat in acest scop.

Dupa incubarea probelor in godeurile captusite cu antigen, anticorpii specifici pentru IBR formeaza un complex cu antigenele virale ce captuseaza placa. Dupa indepartarea prin spalarea placii a materialelor nelegate in godeuri, se adauga conjugatul specific anticorp monoclonal anti IBR gB marcat cu peroxidaza care nu se va lega la antigenul BHV-1 in cazul in care determinantii antigenici recunoscuti de anticorpul monoclonal au fost ocupati (blockati) de anticorpii din proba de testat.

In etapa urmatoare, conjugatul nelegat este eliminat prin spalare si este adaugata solutia Substrat. In prezenta enzimelor, substratul este convertit intr-un produs care reageaza cu cromogenul pentru a genera o culoare albastra. Dupa adaugarea solutiei de stopare, este generata o culoare galbena. Absorbanta la o singura lungime de unda de 450 nm (A450) sau la doua lungimi de unda, de 450 nm respectiv 650 nm (A450 sau A650) este masurata cu ajutorul spectrofotometrului. Procentajul de blocare al probelor de testat este calculat folosind absorbanta (A450 sau A450/650) obtinuta cu proba de testat si controlul negativ care nu contine anticorpi specifici.

IDEXX IBR gB X3
06-41299-01



Reagenti	Volum
1. Placi captusite cu antigen BHV-1	5 placi
3. Control pozitiv	1 x 2 ml
4. Control negativ	1 x 2 ml
5. Conjugat	1 x 60 ml
A. Solutie substrat TMB Nr. 12	1 x 60 ml
B. Solutie de stopare N.3	1 x 60 ml
B. Solutie Concentratata de spalare (10X)	1 x 480 ml
Alte componente: Punga Zip Lock	1
	30 placi 1 x 6,5 ml 1 x 6,5 ml 1 x 350 ml 1 x 400 ml 1 x 400 ml 3 x 480 ml

Nota: Vedeti la sfarsitul prospectului pentru descrierea simbolurilor internationale utilizate pentru acest kit.

Pastrare

Pastrati reagentii la 2-8°C. Reagentii sunt stabili pana la data de expirare, cu conditia ca acestia sa fie pastrati in conditiile specificate.

Materiale necesare dar nefurnizate

1. Pipete automate de 10 µl pana la 1000 µl. Volumele de reagenti listate in Protocolul de lucru necesita o precizie mai mica sau egala cu 5%;
2. Varfuri de pipeta de unica folosinta;
3. Cilindru gradat pentru solutia de spalare;
4. Cititor de microplaci cu 96 godeuri (echipat cu un singur filtru de lungime de unda de 450 nm sau cu doua lungimi de unda de 450 nm si 650 nm);
5. Spalator de microplaci (manual, semiautomat sau spalator automat de placi);
6. Folositi doar apa distilata sau deionizata pentru prepararea reagentilor utilizati in test;
7. Capace pentru microplaci (capac, folie de aluminiu sau folie adeziva);
8. Vortex pentru mixare;
9. Centrifuga cu tuburi, capacitate 2000 x g.

Precautii

1. Manipulati toate materialele biologice ca si potential infectioase.
2. Solutia TMB poate fi irritanta pentru ochi, sistem respirator si piele. Evitati contactul cu pielea si ochii.
3. Purtati manusi de protectie/ haine de protectie/ protectie pentru fata sau ochi cand manipulati probele si reagentii.
4. Consultati Fisa tehnica de Securitate pentru informatii aditionale;

Practici de laborator

- Pot fi obtinute rezultate optime prin urmarirea cu atentie a acestui protocol. O pipetare si o spalare atenta si respectarea timpilor sunt necesare pentru a mentine precizia si acuratetea.
- Nu expuneti solutia TMB la lumina puternica sau la oricare dintre agentii oxidanti. Manipulati Solutia TMB cu sticlarie curata sau cu articole din material plastic.
- Toate reziduurile trebuie decontaminate inainte de a fi inlaturate. Eliminati continutul in concordanta cu reglementarile locale, regionale sau nationale.
- O atentie deosebita trebuie data prevenirii contaminarii componentelor kitului. Nu turnati reagentii nefolositi inapoi in recipiente.
- Nu utilizati kituri trecute de perioada de valabilitate si nu amestecati componente din kituri cu loturi diferite.

Prepararea probelor

Prepararea solutiei de spalare

Solutia de spalare concentrata (10x) trebuie adusa la 18-26°C si omogenizata pentru a se asigura dizolvarea eventualelor saruri precipitate. Solutia concentrata trebuie diluata 1:10 in apa distilata/deionizata inainte de utilizare. (Exemplu : 30 ml solutie concentrata de spalare cu 270 ml apa distilata per placă) Solutia de spalare diluata poate fi pastrata la frigider la temperatura de 2-8°C timp de pana la o saptamana.

Prepararea probelor

Se pot testa probe de ser sau plasma proaspete, racite sau congelate in prealabil.
Probele de lapte integral se utilizeaza dupa centrifugare 15 minute la 2000xg sau dupa ce au fost lasate la rece (2-8°C) peste noapte.
Pentru laptele degresat nu este necesar un tratament prealabil.

Procedura de lucru

Totii reagentii trebuie adusi la temperatura camerei 18-26°C inainte de utilizare. Reagentii se amesteca prin rotire usoara sau pe vortex.

Probe de ser sau plasma

1. Scoateti placile captusite cu antigen si inregistriati pozitia probelor pe foaia de lucru. Daca folositi placile partial, eliminati stripurile pe care nu le folositi si pastrati suficiente stripuri pentru probele ce urmeaza a fi testate. Plasati stripurile, alaturi de desicant, in punga tip Zip Lock (cu fermoar) si pastrati-le la 2-8°C.
2. Adaugati 50 µl Solutie de Spalare reconstituita in fiecare godeu.
3. Adaugati 50 µl Control negativ in godeuri duplicate.
4. Adaugati 50 µl Control pozitiv in godeuri duplicate.
5. Adaugati 50 µl de proba de ser/plasma in restul godeurilor. Folositi varfuri de pipete separate pentru fiecare proba.
6. Amestecati continutul godeurilor batand usor placă sau folositi un agitator pentru microplaci.
7. Incubati placă acoperita pentru 2 ore (± 5 min) la 37°C sau alternativ, peste noapte (12-18 ore) la 2-8°C. Pentru oricare dintre optiuni, placile trebuie sigilate sau protejate cu capac plat pentru a evita evaporarea.

Continuati cu etapa 8.

Probe de lapte

1. Scoateti placile captusite cu antigen si inregistriati pozitia probelor pe foaia de lucru. Daca folositi placile partial, eliminati stripurile pe care nu le folositi si pastrati suficiente stripuri pentru probele ce urmeaza a fi testate. Plasati stripurile, alaturi de desicant, in punga tip Zip Lock si pastrati-le la 2-8°C.
2. Adaugati 100 µl Control negativ in godeuri duplicate.
3. Adaugati 100 µl Control pozitiv in godeuri duplicate.
4. Adaugati 100 µl de proba de lapte degresat (de sub stratul de grasime) in restul godeurilor in duplicat sau individual. Folositi varfuri de pipete separate pentru fiecare proba.
5. Incubati placă acoperita peste noapte (12-18 ore) la 2-8°C. Placile trebuie sigilate sau protejate cu capac plat pentru a evita evaporarea. Continuati cu etapa 8.

Procedura comună pentru probe de ser, plasma sau lapte

IDEXX IBR gB X3
06-41299-01



8. Eliminati sau aspirati continutul godeurilor si spalati fiecare godeu cu aproximativ 300 μ l de solutie de spalare de 5 ori. Goliti lichidul din godeuri dupa fiecare spalare. Dupa ultima eliminare a lichidului, bateti ferm fiecare placa pe un material absorbant pentru a elimina orice urma de fluid rezidual. Evitati uscarea placilor intre spalari si inainte de a adauga urmatorul reagent.
9. Adaugati 100 μ l de Conjugat in fiecare godeu.
10. Incubati 1 ora (± 5 min.) la temperatura de 18-26°C.
11. Repetati pasul 8.
12. Adaugati 100 μ l de Substrat TMB Nr. 12 in fiecare godeu.
13. Incubati 10 minute (± 1 minut) la 18-26°C ferite de lumina directa. Incepeti cronometrarea dupa ce umpleti primul godeu.
14. Adaugati 100 μ l de Solutie Stop Nr. 3 in fiecare godeu pentru a opri reactia. Adaugati Solutia de Stopare in aceeasi ordine ca si Substratul adaugat la pasul 12.
15. Faceti Blank pe aer.
16. Masurati si inregistrați absorbanta probelor si a controalelor la 450 nm sau folosind două lungimi de undă de 450 nm si 650 nm.
17. Calculati rezultatele.

Rezultate

Pentru ca testul sa fie valid, Media Densitatilor Optice ale Controlului Negativ trebuie sa fie mai mare sau egala cu 0.500. In plus, procentul de blocare pentru Controlul Pozitiv sa fie mai mare de 80%. Pentru teste invalide, tehnica poate fi suspecta si tertul ar trebui repetat urmarind cu atentie prospectul kitului. Prezența sau absența anticorpilor anti IBR-gB este determinata de procentul de blocare pentru fiecare probă.

Nota: IDEXX detine instrumente si sisteme cu software,disponibile, care calculeaza media si procentul de blocare si furnizeaza rezumatele datelor.

Calcule

$$\text{Medie OD}_{\text{NEG}} = \frac{(\text{OD}_{\text{NEG1}} \text{ A450}) + (\text{OD}_{\text{NEG2}} \text{ A450})}{2}$$

$$\text{Medie OD}_{\text{POZ}} = \frac{(\text{OD}_{\text{POZ1}} \text{ A450}) + (\text{OD}_{\text{POZ2}} \text{ A450})}{2}$$

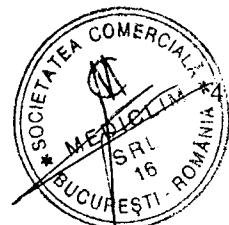
$$\text{Blocare\%} = \frac{\text{OD}_{\text{NEG A450}} - \text{OD}_{\text{PROBA A450}}}{\text{OD}_{\text{NEG A450}}} \times 100$$

Interpretarea rezultatelor

1. Probele de lapte sau ser/plasma avand procent de blocare mai mic decat 45% se considera **negative** pentru anticorpi IBR
2. Probele de lapte si ser/plasma avand procent de blocare mai mare sau egal cu 45% dar mai mic decat 55% se considera **suspecte** si trebuie retestate.
3. Probele de lapte sau ser/plasma avand procent de blocare 55% sau mai mare se considera **pozitive** pentru anticorpi IBR.

Nota: Testarea laptelui nu se aplica pentru programul de certificare IBR in Franta.

IDEXX IBR gB X3
06-41299-01



Cuprinsul Procedurii de Testare

PROTOCOL DE LUCRU IBR gB X3 PE SER/PLASMA sau LAPTE				
ETAPA	ACTIUNE			
1. PREGATIREA PROBELOR SI CONTROALELOR	<p>Probe de ser sau plasma</p> <p>Scoateti placa captusita cu antigen si inregistri pozitia probelor pe foaia de lucru.</p> <p>Adaugati 50 µl Solutie de Spalare reconstituita in fiecare godeu.</p> <p>Adaugati 50 µl Control negativ in godeuri duplicate.</p> <p>Adaugati 50 µl Control pozitiv in godeuri duplicate.</p> <p>Adaugati 50 µl de proba in restul godeurilor.</p> <p>Amestecati continutul godeurilor batand usor placa sau folositi un agitator pentru microplaci.</p> <p>Probe de Lapte</p> <p>Scoateti placile captusite cu antigen si inregistri pozitia probelor pe foaia de lucru.</p> <p>Adaugati 100 µl Control negativ in godeuri duplicate.</p> <p>Adaugati 100 µl Control pozitiv in godeuri duplicate.</p> <p>Adaugati 100 µl de proba de lapte degresat (de sub stratul de grasime) in restul godeurilor in duplicat sau individual. Folositi varfuri de pipete separate pentru fiecare proba.</p>			
2. INCUBAREA PROBELOR	<p>Probe de ser sau plasma</p> <p>Incubati placa acoperita pentru 2 ore (± 5 min) la 37°C sau alternativ, peste noapte (12-18 ore) la 2-8°C. Pentru oricare dintre optiuni, placile trebuie sigilate sau protejate cu capac plat pentru a evita evaporarea.</p> <p>Probe de lapte</p> <p>Incubati placa acoperita peste noapte (12-18 ore) la 2-8°C. Placile trebuie sigilate sau protejate cu capac plat pentru a evita evaporarea. Continuati cu pasul 8.</p>			
3. SPALAREA PLACII	<p>Eliminati sau aspirati continutul godeurilor si spalati fiecare godeu cu aproximativ 300 µl de solutie de spalare de 5 ori. Goliti lichidul din godeuri dupa fiecare spalare. Dupa ultima eliminare a lichidului, bateti ferm fiecare placa pe un material absorbant pentru a elimina orice urma de fluid rezidual. Evitati uscarea placilor intre spalari si inainte de a adauga urmatorul reagent.</p>			
4. DISTRIBUTIA CONJUGATULUI	Distribuiti 100 µl Conjugat in fiecare godeu.			
5. INCUBAREA CONJUGATULUI	Incubati 1 ora (± 5 min.) la 18-26°C.			
6. REPETATI PASUL 3	Repetati pasul 3.			
7. DISTRIBUIREA SUBSTRATULUI	Adaugati 100 µl Solutie Substrat TMB Nr. 12 in fiecare godeu.			
8. INCUBAREA SUBSTRATULUI	Incubati 10 minute (± 1 minut) la 18-26°C evitand lumina directa. Incepeti cronometrarea dupa ce ati umplut primul godeu.			
9. STOPAREA REACTIEI	<p>Adaugati 100 µl de Solutie Stop Nr. 3 in fiecare godeu pentru a opri reactia.</p> <p>Adaugati Solutia de Stopare in aceeasi ordine ca si Substratul adaugat la pasul 7.</p>			
10. CITIREA PLĂCII	<p>Faceti Blank pe aer.</p> <p>Masurati si inregistri absorbanta probelor si a controalelor la 450 nm sau folosind doua lungimi de unda de 450 nm si 650 nm.</p> <p>Calculati rezultatele.</p>			
11. INTERPRETAREA PROCENTULUI DE BLOCARE PENTRU PROBE DE SER/PLASMA SI LAPTE	Ser, Plasma, Lapte	<45% Negativ	≥45% to <55% Suspect	≥55% Pozitiv

INDEXX IBR gB X3
06-41299-01



SUPORT TEHNIC

Contactati distribuitorul local IDEXX sau vizitati WWW.IDEXX.COM/PRODUCTION/CONTACT
IDEXX TECHNICAL SUPPORT:00-800-727-43399

*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.

IDEXX IBR gB X3
06-41299-01



99-41299

IDEXX IBR gB X3

Kit detecție anticorpi
anti virusul
Rinotraheitei bovine
(BHV-1) gB

Test de diagnostic in vitro pentru
detecția anticorpilor anti IBR gB
dirijati împotriva virusului
Rinotraheitei Infectioase Boyne
(BHV-1)

REF

LOT SN

IDEXX IBR gB X3
5 x 96 godeuri



IDEXX IBR gB X3

Pentru utilizarea cu probe de ser, plasma si lapte de la bovine
Notă: Pentru uz veterinar exclusiv.

Reagenți	Cantitatea	LOT
1. Plăci căptușite cu antigen BHV-1	5	
2. Control pozitiv	1 x 2,0ml	
3. Control negativ	1 x 2,0ml	
4. Conjugat	1 x 60ml	
A. Substrat TMB Nr. 12	1 x 60ml	
B. Soluție de stopare Nr. 3	1 x 60ml	
C. Soluție de spălare concentrată (10x)	1 x 480ml	

ECREP

IVD



8°C



2°C

04-41299-00



IDEXX Elvetia AG, Inc.
Stationsstrasse 12, CH-3097
Liebefeld-Bern
Tel: +41 31 9706260
Fax: +41 31 9706279

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



1 Placă căptușită cu antigen BHV-1

IDEXX IBR gB X3

1 x 96 godeuri

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD

LOT

ZUL-Nr.: BOVV-B
231

IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern
04-41290-00

IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
49-41290

2 CONTROL +

IDEXX IBR gB X3

2,0 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD

LOT

Nr.:
BOVV-B
231

IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-41291-00

44-41291

3 CONTROL -

IDEXX IBR gB X3

2,0 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD

LOT

Nr.:
BOVV-B
231

IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-41292-00

44-41292

4 Conjugat

IDEXX IBR gB X3

60 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD

LOT

Nr.:
BOVV-D
231

IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12 CH-3097 Liebefeld-Bern
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-41293-00

42-41293

A Substrat TMB Nr. 12

IDEXX

60 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD

LOT

Zul-Nr.: K 085/1

IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern
04-42718-02

IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
49-42718

B Soluție de stopare Nr.3

IDEXX

60 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

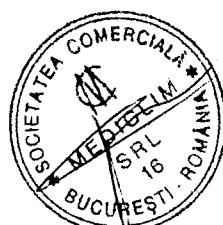
IVD

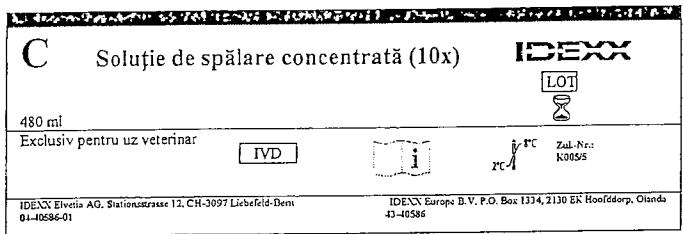
LOT

Zul-Nr.: K 084

IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern
04-42723-01

IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
49-42723





Kit detecție anticorpi
anti virusul
Rinotraheitei bovine
(BHV-1) gB

Test de diagnostic in vitro pentru
deteția anticorpilor anti IBR gB
dirijati împotriva virusului
Rinotraheitei. Infectioase Bovine
(BHV-1)

REF

LOT SN

IDEXX IBR gB X3
30 x 96 gădeuri



IDEXX IBR gB X3

Pentru utilizarea cu probe de ser, plasma si lapte de la bovine
Notă: Pentru uz veterinar exclusiv.

Reagenți	Cantitatea	LOT
1. Plăci căptușite cu antigen BHV-1	30	
2. Control pozitiv	1 x 6,5ml	
3. Control negativ	1 x 6,5ml	
4. Conjugat	1 x 350ml	
A. Substrat TMB Nr. 12	1 x 400ml	
B. Solutie de stopare Nr. 3	1 x 400ml	
C. Solutie de spălare concentrată (10x)	3 x 480ml	

ECREP

IVD



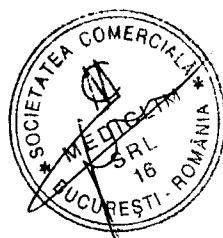
8°C
2°C

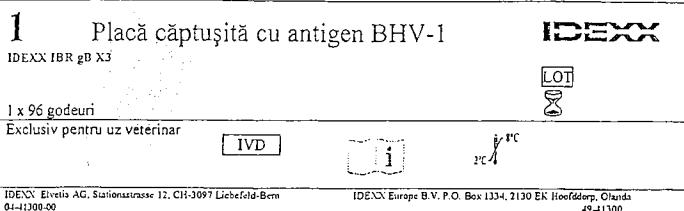


04-41309-00

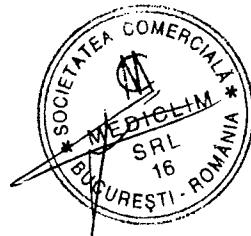
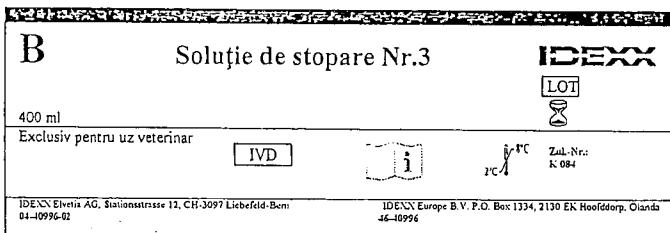
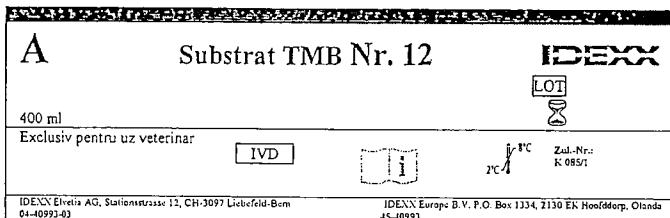
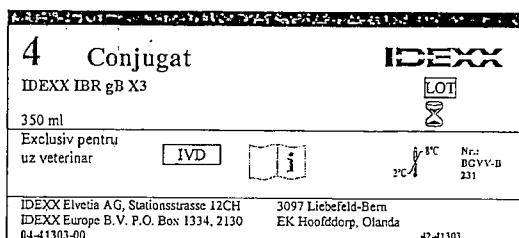
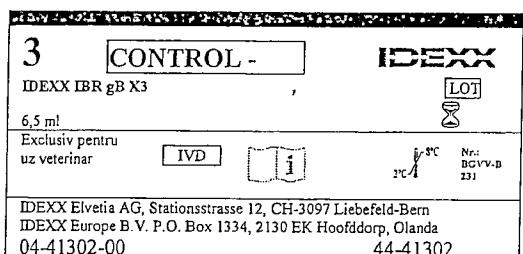
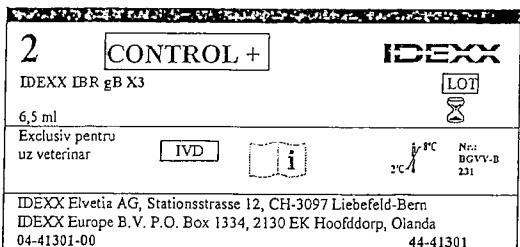
IDEXX Elvetia AG, Inc.
Stationsstrasse 12, CH-3097
Liebefeld-Bern
Tel: +41 31 9706260
Fax: +41 31 9706279

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





99-41309
IDEXX IBR gB 30 placi



1 Placă căptușită cu antigen BHV-1

IDEXX IBR gB X3

1 x 96 godeuri

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD   

IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-41300-00 44-41300

99-41309

IDEXX IBR gB 30 placi

2 CONTROL +

IDEXX IBR gB X3

6,5 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD   

IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-41301-00 44-41301

3 CONTROL -

IDEXX IBR gB X3

6,5 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD   

IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-41302-00 44-41302

4 Conjugat

IDEXX IBR gB X3

350 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD   

IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12CH 3097 Liebefeld-Bern
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-41303-00 44-41303

A Substrat TMB Nr. 12

IDEXX

400 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD    

IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-40993-03 44-40993

B Soluție de stopare Nr.3

IDEXX

400 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD    

IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-40996-02 44-40996

