



Kit pentru detecția anticorpilor anti virusul Leucozei Enzootice Bovine

Set pentru detecția anticorpilor anti virusul Leucozei Enzootice Bovine**De uz veterinar exclusiv****Denumire și utilizare**

IDEXX Leucoză enzootică bovină este o tehnică imunologică enzimatică pentru detecția anticorpilor anti-virusul leucozei enzootice bovine (BLV) în probe de ser individual sau plasmă de bovine și amestecuri de seruri de bovine (maxim 10).

Informații generale

Leucoza enzootică bovină este o boală infecțioasă limfoproliferativă a bovinelor răspândită în întreaga lume. Boala este cauzată de un delta-retrovirus exogen, virusul leucozei bovine care induce o infecție persistentă a unei sub-populații de limfocite B prin integrarea ADN-ului viral în mai multe zone ale ADN-ului celular. Majoritatea bovinelor infectate rămân sănătoase chiar dacă 30% dezvoltă limfocitoză persistentă și o parte mică (până la 10%) dezvoltă tumori limfoide. Boala afectează mai ales fermele de lapte și se răspândește predominant pe cale orizontală prin sânge sau secreții ce conțin limfocite infectate. Deoarece nu există nici un tratament sau vaccin, programele de eradicare sunt bazate pe identificarea și eliminarea animalelor infectate, care se realizează mai ales prin detectarea anticorpilor anti virali. Bovinele infectate aduc anticorpi specifici față de proteinele virale majore chiar în stadiile precoce ale infecției. Inițial, s-a folosit testul de imunodifuzie în gel de agar (IDGA). Cu toate acestea, sensibilitatea testului IDGA s-a dovedit a fi redusă și s-au raportat cazuri de animale infectate ai căror anticorpi nu au furnizat un răspuns al anticorpilor detectabil. Din aceste motive, metoda ELISA, care este simplă, rapidă și mai ales sensibilă, este utilizată pentru supravegherea cirezilor.

Descriere și principiu

Microplăcile sunt căptușite cu antigen BLV. Probele de testat sunt diluate și incubate în godeuri. În timpul incubării probelor în godeurile căptușite, anticorpii specifici BLV formează complexe imune cu antigenele BLV. După spălarea materialului nelegat, se adaugă conjugatul enzimatic, un anticorp anti-bovine, care se leagă la orice complex imun anticorp-antigen. 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 direct proporțională cu cantitatea de anticorpi BLV prezenți în proba de testat.

Rezultatul este obținut prin compararea densității optice a probei cu media densității optice a controlului pozitiv.

Reagenți

Reagenți		Volume	
		5	10
1	Plăci căptușite cu antigen BLV		
2	Control pozitiv	1x1ml	1x1ml
3	Control negativ	1x1ml	1x1ml
4a	Conjugat concentrat (100x)	1x1,5ml	1x1,5ml
4b	Tampon de diluție N.1	1x120ml	1x120ml
5	Tampon de diluție N.2	1x120ml	2x120ml
A	Substrat TMB N.13	1x60ml	1x120ml
B	Soluție de stopare N.3	1x60ml	1x120ml
C	Soluție de spălare concentrată (10x) N.2	2x100ml	4x100ml
Alte componente : pungă cu fermoar			

Notă : vezi tabelul de la sfârșit pentru descrierea simbolurilor internaționale utilizate pe etichetele setului.

Condiții de păstrare

Păstrați toți reagenții la 2-8°C. Reagenții sunt stabili până la data expirării, stocați corespunzător.

Materiale necesare dar nefurnizate

- Micropipete de precizie sau micropipete multicanal
- Vârfuri de micropipete uzaj zilnic
- Cilindru gradat pentru soluția de spălare
- Cititor de microplăci cu 96 de godeuri (echipat cu filtru de 450nm)
- Spălător de microplăci (sistem manual, semi-automat sau automat)
- Utilizați doar apă distilată sau deionizată pentru prepararea reagenților utilizați în test
- Vortex sau echivalent
- Capace de microplăci (folie de aluminiu sau folie adezivă)
- Incubator capabil să mențină o temperatură de +37°C (±3°C)
- Agitator de microplăci
- Microplăci necăptușite sau tuburi pentru prepararea probelor

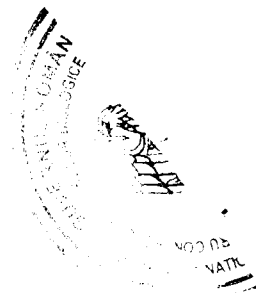
Precauții și avertizări

- Manipulați toate materialele biologice ca potențial infecțioase
- Purtați mănuși de protecție/echipament de protecție/ochelari de protecție/mască atunci când manipulați probele și reagenții
- Urmăriți fișele tehnice de producție pentru informații suplimentare
- Citiți până la sfârșit acest prospect pentru precauții și atenționări

Practici de laborator

- Rezultate optime vor fi obținute prin respectarea strictă a acestui protocol. Pipetarea cu grijă, respectarea timpului și a metodei de spălare în timpul procedurii sunt necesare pentru menținerea preciziei și a acurateții. Utilizați vârfuri de micropipete separate pentru fiecare probă și ser martor.
- Nu expuneți soluția TMB la lumină puternică sau orice agent oxidant. Utilizați sticlărie curată sau recipiente din plastic la manevrarea TMB-ului.
- Toate deșeurile vor fi decontaminate corespunzător înainte de distrugere. Eliminarea deșeurilor să se facă în concordanță cu legislația locală, regională și națională.
- Lucrați cu grijă pentru a preveni contaminarea componentelor kitului. Nu puneți reagenții neutilizați înapoi în flacoane.

- Nu utilizați setul după data de expirare.



Prepararea reagenților

Controalele și probele

Diluția probelor și a controalelor depinde de protocolul de incubare selectat și trebuie să se facă într-o microplacă de pre-diluție sau în tuburi:

- Protocolul scurt (1 oră (± 5 min) la 37°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$)): controalele și probele se pre-diluează 1:20 cu tampon de diluție N.2.
- Protocolul peste noapte (16-24 ore la $2-8^{\circ}\text{C}$): pre-diluați controalele negativ și pozitiv și probele 1:50 cu tampon de diluție N.2.

Soluția de spălare

Soluția de spălare concentrată N.2 (10x) trebuie să fie diluată 1:10 cu apă distilată /deionizată înainte de utilizare (ex. 30ml soluție de spălare concentrată N.2 (10x) în 270ml apă distilată). Această soluție este de acum numită „Soluție de spălare”.

Notă: Soluția de spălare concentrată (10x) N.2 trebuie adusă la $18-26^{\circ}\text{C}$ și agitată bine pentru dizolvarea oricăror săruri precipitate. Soluția de spălare este stabilă până la 3 zile păstrată la $2-8^{\circ}\text{C}$.

Conjugatul

Conjugatul concentrat (100x) trebuie diluat 1:100 în tampon de diluție N.1

Notă: Conjugatul diluat este stabil până la 8 ore la $18-26^{\circ}\text{C}$.

Protocolul de testare

Toți reagenții trebuie aduși la $18-26^{\circ}\text{C}$ înainte de utilizare. Reagenții trebuie agitați prin învârtire ușoară sau vortexare.

1. Luați microplăcile căptușite și înregistrați poziția fiecărei probe pe foaia de lucru. Dacă utilizați doar parțial plăcile, scoateți doar godeurile necesare pentru probele de testat. Puneți godeurile rămase, împreună cu desicantul în punga cu închidere furnizată în kit și aduceți la $2-8^{\circ}\text{C}$.

2. Distribuția probelor și a controalelor:

Protocolul scurt: 1 oră (± 5 min.) la 37°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$)

- Distribuți 100 μL control negativ DILUAT (CN) în 2 godeuri.
- Distribuți 100 μL control pozitiv DILUAT (CP) în două godeuri
- Distribuți 100 μL probe DILUATE în godeurile rămase
- Omogenizați conținutul godeurilor prin agitare ușoară sau prin utilizarea unui agitator de microplăci
- Acoperiți microplaca și incubați 1 oră (± 5 min.) la 37°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$)

Protocolul peste noapte: 16-24 ore la $2-8^{\circ}\text{C}$

- Distribuți 100 μL control negativ DILUAT în 2 godeuri
- Distribuți 100 μL control pozitiv DILUAT în două godeuri
- Distribuți 100 μL probe DILUATE în godeurile rămase
- Omogenizați conținutul godeurilor prin agitare ușoară sau prin utilizarea unui agitator de microplăci
- Acoperiți microplaca și incubați 16-24 ore la $2-8^{\circ}\text{C}$

3. Aruncați soluția și spălați fiecare godeu cu aproximativ 300 μL soluție de spălare de trei ori. Evitați uscarea plăcii între spălări și înainte de adăugarea următorului reagent. Bateți placa de fluidul rezidual din fiecare microplacă pe un material absorbant.

4. Distribuți 100 μL conjugat DILUAT în fiecare godeu.

5. Acoperiți microplaca și incubați timp de 30 minute (± 3 min.) la 37°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$).

6. Repetați pasul 3.

7. Distribuți 100 µL substrat N.13 în fiecare godeu.
8. Incubați 20 minute (± 3 min.) la 18-26°C ferit de lumina directă.
9. Distribuți 100 µL de soluție de stopare N.3 în fiecare godeu.
10. Măsurăți și înregistrați valorile densităților optice ale probelor și controalelor la 450nm

Notă: Când utilizați robotică, incubarea microplăcilor în camera umedă se poate face fără să acoperiți placa. Utilizarea roboților nu este compatibilă cu agitarea ușoară sau ștergerea plăcilor. Plăcile pot fi ținute până la 1 oră la întuneric înainte de citire.

11. Calcule:

Controale

$$CP\bar{x} = \frac{CP1A_{450} + CP2A_{450}}{2}$$

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

Criterii de validare

$$CPx \geq 0,350$$

$$CP\bar{x} / CN\bar{x} \geq 3.00$$

Pentru încercări invalide, tehnica poate fi suspectă și încercarea trebuie repetată urmărind respectarea instrucțiunilor de lucru.

Probe

$$\%S/P = \frac{Pr oba(A450) - CN\bar{x}}{CP\bar{x} - CN\bar{x}} \times 100$$

13. Interpretarea rezultatelor

Seruri individuale și probe de plasmă

Negative
S/P% ≤ 60

Pozitive
S/P% > 60

Amestecuri de seruri

Negative
S/P% ≤ 40

Pozitive
S/P% > 40

Notă: IDEXX deține instrumentele și software potrivit pentru calcularea mediilor și furnizarea sumarului datelor.

Pentru asistența tehnică:

IDEXX SUA Tel: + 1 800 548 9997 sau +1 207 556 4895

IDEXX EuropaTel: +800 727 43399

Contactați managerul local IDEXX sau distribuitorul sau vizitați idexx.com/contact 

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

© 2019 IDEXX Laboratories, Inc. Toate drepturile rezervate.

Auexa ur. 2

A	Substrat TMB N. 13	IDEXX
120 ml	LOT	
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	
IDEXX Romania S.A. Strada din Gălbene, nr. 100, Cluj Napoca	IDEXX Europe B.V. Postbus 1001, 3720 BA Zierikzee, Olanda	
Produs		45.5433.00

B	Soluție de stopare N.3	IDEXX
120 ml	LOT	
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	
IDEXX Romania S.A. Strada din Gălbene, nr. 100, Cluj Napoca	IDEXX Europe B.V. Postbus 1001, 3720 BA Zierikzee, Olanda	
Produs		46.47631.00

C	Soluție de spălare concentrată (10x)	IDEXX
100 ml	LOT	
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	
IDEXX Romania S.A. Strada din Gălbene, nr. 100, Cluj Napoca	IDEXX Europe B.V. Postbus 1001, 3720 BA Zierikzee, Olanda	
Produs		43.81031.00

1 Placă câptușită cu antigen LEB **IDEXX**

IDEXX Leucoză Ser Screening

1 x 96 godote
Exclusiv pentru uz veterinar

LOT 753

IBEX, rue de la Galère 34490 Montpellier, France
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-54230400 44-54230400

IDEXX Leucoză Ser Screening

2 CONTROL + **IDEXX**

IDEXX Leucoză Ser Screening

1.0 ml
Exclusiv pentru uz veterinar

LOT 753

IDEXX, rue de la Galère 34490 Montpellier, France
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-54230400 44-54230400

3 CONTROL - **IDEXX**

IDEXX Leucoză Ser Screening

1.0 ml
Exclusiv pentru uz veterinar

LOT 753

IDEXX, rue de la Galère 34490 Montpellier, France
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-54230400 44-54230400

4a Conjugat concentrat **IDEXX**

IDEXX Leucoză Ser Screening

1.5 ml
Exclusiv pentru uz veterinar

LOT 753

IDEXX, rue de la Galère 34490 Montpellier, France
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-54230400 44-54230400

4b Tampon de diluție N.1 **IDEXX**

IDEXX Leucoză Ser Screening

120 ml
Exclusiv pentru uz veterinar

LOT 753

IDEXX, rue de la Galère 34490 Montpellier, France
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-54230400 44-54230400

5 Tampon de diluție N.2 **IDEXX**

IDEXX Leucoză Ser Screening

120 ml
Exclusiv pentru uz veterinar

LOT 753

IDEXX, rue de la Galère 34490 Montpellier, France
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-54230400 44-54230400

IDEXX Leukosis Serum Screening

Kit de detecție a
anticorpilor virusului
Leucozei Enzootice
Bovine (LEB)

IDEXX Leucova Ser Screening
10 x 96 godeuri

LOT 1501

Kit de detecție a anticorpilor direcți contra virusului Leucozei
Enzootice Bovine (LEB)

IDEXX Leucova Ser Screening
Pentru utilizare cu seruri și plasmă de bovine
Notă: Exclusiv de uz veterinar

Reagenți	Cantități
1. Plăci captusite cu antigen LEB	10
2. Control pozitiv	1 x 1ml
3. Control negativ	1 x 1ml
4a. Conjugat concentrat	1 x 1,5ml
4b. Tampon de diluție N 1	1 x 120ml
5. Tampon de diluție N 2	2 x 120ml
A. Substrat TMB N 15	1 x 120ml
B. Soluție de stopare N 3	1 x 120ml
C. Soluție de spălare concentrată Clus N 2	4 x 100ml

IDEXX Leucova Ser Screening
10 x 96 godeuri

IDEXX Leucova Ser Screening
10 x 96 godeuri

LOT 1501

LOT 1501

20°C - 8°C

LOT 1501

0457210-00

