

INGEZIM BLV COMPAC 2.0

1.2.BLV.K.3

Kit Elisa imunoenzimatic de blocare pentru detectia specifica a anticorpilor virusului leucozei bovine (BLV) in seruri de bovine si lapte

ULTIMA REVIZUIRE: 30-05-14
INREGISTRARE MAPA NO. 0808-RD

Produs in Spania de:

INMUNOLOGIA Y GENETICA APLICADA, S.A.
C/ Pinar, Garcia Nolans, 39
28037- MADRID (SPAIN)
Tel: +34 91366.05.01/04
Fax: +34 91 408.75.95
E-mail: ingenize@ingeniza.es
www.ingeniza.es



INGENIZA S.A. C.I.F. 28037001
CALLE PINAR, 39 28037 MADRID (ESPAÑA)

Distribuit in Romania de:

GROUP OF COMPANIES
S.C. NOACK ROMANIA S.R.L.
Str. Ion Urdareanu, Nr. 34, Sector 5, Bucuresti
Tel/Fax: (021)- 3.17.66.70 / 3.16.66.58
E-mail: office@noack.ro
www.noackgroup.com

NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Urdareanu 34, Sect. 5
Bucuresti
Tel: +40 21 / 317 66 70
Fax: +40 21 / 316 66 58
www.noackgroup.com

COMPOZITIA KITULUI

Descrierea componentelor	PREZENTARE 2 Placi (cu stripuri)		PREZENTARE 5 Placi (cu stripuri)		PREZENTARE 10 Placi (cu stripuri)	
	Unitate	Volum	Unitate	Volum	Unitate	Volum
Placi de microtitrare cu 96 de godeuri	-	-	-	-	-	-
Placa 96 de godeuri divizate in 12 stripuri a cate 8 godeuri	2	-	5	-	10	-
Fiola ce contine ser control pozitiv	1	1,5 ml	2	1,5 ml	2	1,5ml
Fiola ce contine ser control negativ	1	1,5 ml	2	1,5 ml	2	1,5ml
Fiola cu conjugat peroxidaza (100 x concentrat)	1	700 µl	1	700 µl	2	700 µl
Flacon cu solutie de spalare (25 x concentrat)	1	125 ml	1	125 ml	2	125 ml
Flacon cu diluent (DE04-01) gata preparat	1	125 ml	1	125 ml	2	125 ml
Flacon cu substrat (TMB) gata preparat	1	30 ml	1	60 ml	1	125 ml
Flacon cu solutia de stopare.	1	60 ml	1	60 ml	1	125 ml

Alte materiale si reactivi necesari ce nu sunt furnizati cu kitul de diagnostic:

Apa distilata sau deionizata.
 Micropipete cu volum de la 5 -200 µl.
 Varfuri de micropipeta de unica folosinta.
 Aparat pentru spalarea placilor
 Tuburi de la 50 la 250 ml
 Cititor ELISA (cu filtru de 450 nm)

NOACK ROMANIA S.R.L.
 Ion Udreanu 34, Sect. 5
 Bucuresti
 Tel. +40 21 / 317 66 70
 Fax +40 21 / 318 66 58
 www.noackgroup.com

VIII.- CITIREA SI INTERPRETAREA REZULTATELOR:

Citirea trebuie sa fie facuta cu un spectofotometru unde:
la 450 nm.

NC = media valorilor DO a serului control negativ
PC = media valorilor DO a serului control pozitiv.

A. VALIDAREA REZULTATELOR:

Testul este considerat valid:

- Daca valoarea DO a serului de control negativ este mai mare decat de 5 ori valoarea DO a serului control pozitiv:

DO (Ser Control Negativ) > 5

DO (Ser Control Pozitiv)

- Valoarea DO a serului de control negativ trebuie sa fie mai mare decat 1.

B. INTERPRETAREA REZULTATELOR:

1. Calcularea valorii de Cut-Off

- Cut-Off Negativ = $NC - [(NC - PC) \times 0,4]$
- Cut-Off Pozitiv = $NC - [(NC - PC) \times 0,5]$

EXEMPLU PRACTIC:

Media valorilor DO:

- Control Pozitiv (PC) => 0,154
- Control Negativ (NC) => 1,750
- Proba 1 => 0,170
- Proba 2 => 1,684

1. Validarea testului:

NC/PC = 11,3 > 5
NC = 1,750 > 1

2. Interpretarea rezultatelor

Daca doriti lucrarea probelor in duplicat, valorile DO vor fi calculate pentru fiecare proba ca media aritmetica a ambelor valori.

- Toate probele de ser cu DO mai mare sau egala cu valoarea Cut Off negativ, vor fi considerate negative.
- Toate probele de ser cu DO mai mica sau egala cu valoarea Cut Off Pozitiv, vor fi considerate pozitive.
- Pentru probele de ser cu DO cuprinse intre cele doua valori de Cut Off vor fi considerate ca dubioase (incerte). Pentru aceasta se recomanda efectuarea unui nou test cu probe prelevate dupa trei saptamani.

2. Calcularea valorii de cut-off

Cut Off (-) = $1,750 - [(1,750 - 0,154) \times 0,4] = 1,111$
Cut Off (+) = $1,750 - [(1,750 - 0,154) \times 0,5] = 0,952$.

3. Interpretarea rezultatelor:

Proba 1 » Pozitiva pentru anticorpi BLV

Proba 2 » Negativa pentru anticorpi BLV

I.- BAZA TEHNICA:

Acest kit se bazeaza pe un test imunoenzimatic de blocare (ELISA de blocare) care utilizeaza doi anticorpi monoclonali specifici fata de glicoproteina virala gp 51. Acest test permite detectia anticorpilor anti-BLV in serurile bovine sau in lapte (individuale sau in amestec). Facem, in cele ce urmeaza, o scurta prezentare a tehnicii:

Faza solida este reprezentata de placile captusite cu antigen BLV gp51, fixat de placa prin intermediul a doi anticorpi monoclonali specifici fata de proteina gp51 a virusului. Dupa adaugarea probei in godeu, daca aceasta contine anticorpi specifici, antivirali, ei se vor lega de antigenul adsorbit pe placa, iar daca serul nu contine anticorpi specifici, acestia nu se vor lega la antigen.

Daca adaugam un anticorp monoclonal specific fata de antigenul viral ce captuseste placa (conjugat cu peroxidaza), el va intra in competitie cu anticorpii din ser. Daca probele de ser contin anticorpi specifici, ei nu vor permite legarea la antigen a anticorpului monoclonal (Mab) marcat cu peroxidaza, iar daca serul nu contine anticorpi specifici, anticorpii monoclonali (Mab) se vor lega de antigenul de pe placa.

Dupa spalarea placii pentru a elimina toate materialele nelegate, putem detecta prezenta sau absenta anticorpilor monoclonali (Mab) marcati, prin adaugarea substratului (TMB), care in prezenta peroxidazei va dezvolta o reactie colorimetrica.

II.- PRECAUTII SI AVERTIZARI PENTRU UTILIZATORI:

- Cititi instructiunile de folosire cu atentie.
- Aduceti toti reagentii la temperatura camerei (20°- 25°C), inainte de utilizare.
- Nu amestecati instructiunile sau reactivii de la kituri diferite.
- Evitati orice contaminare a reactivilor din kit.
- Nu folositi componentele kitului dupa expirarea acestora si nu amestecati componentele ce apartin unor kituri sau loturi diferite.
- Nu mancati, nu beti si nu fumati in locul in care manipulati probele sau reagentii kitului.
- Nu pipetati cu gura.
- Folositi un varf nou pentru fiecare proba de ser.
- Solutia de stopare (un acid puternic) trebuie manipulata cu precautie. In cazul in care aceasta vine in contact cu pielea, spalati cu apa zona afectata.
- La fiecare utilizare a kitului, serurile de control (pozitiv si negativ), trebuie testate in mod sistematic.
- Substratul trebuie manipulat cu grija; este foarte sensibil la lumina si contaminare.

NOACK

NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Urzareanu 34, Sect. 5

Bucuresti

Tel. +40 21 317 66 70

Fax +40 21 316 66 58

www.noackgroup.com

III.- DEPOZITAREA COMPONENTELOR KITULUI:

Toti reactivii si toate placile trebuiesc pastrate la +2°C si +8°C.

IV.- INFORMATII DESPRE ETAPELE DE SPALARE:

- Etapele de spalare pot fi realizate folosind un spalator automat sau o pipeta multicanal potrivita pentru distribuirea a 300 µl in fiecare godeu.
- Dupa perioadele de incubare, trebuie sa se efectueze etapele de spalare urmand instructiunile de mai jos:
- Aruncati continutul godeurilor printr-o miscare brusca de rasturnare a placii, pentru a evita o posibila amestecare a continutului unui godeu cu a celorlalte godeuri.
 - Distribuiti un volum de 300 µl de solutie de spalare in fiecare godeu.
 - Agitati usor placa, evitand contaminarea intre godeuri.
 - Rasturnati brusc placa pentru golirea godeurilor.
 - Repetati procesul de cate ori este indicat in instructiunile kitului.
 - Anterior golirii continutului ultimei etape de spalare, verificati ca urmatorul reactiv, ce trebuie adaugat in placa, sa fie gata de utilizare. Nu lasati placa sa se usuce.
 - Dupa ultima etapa de spalare, rasturnati placa pe o hartie de filtru absorbanta si loviti-o usor.

V.- PREPARAREA REACTIVILOR:

- **Solutia de spalare:**
Diluati o parte din solutia de spalare concentrata, furnizata de kit, cu 24 parti de apa distilata sau deionizata (40 ml sol. concentrata si 960 ml apa). Cand este gata, aceasta ramane stabila daca este depozitata la +2°C si +8°C.
 - **Serurile de control pozitiv si negativ:**
Serurile de control trebuie testate ca probele de ser, adaugand 50 µl/godeu.
 - **Prepararea conjugatului: se va face imediat inaintea utilizarii.**
Diluati cantitatea necesara de conjugat furnizat de kit in proportie de 1/100 cu diluant:
- Cantitatea necesara si suficienta de conjugat pentru o placa completa este de 110 µl de conjugat in 11 ml diluant.
 - Cantitatea necesara si suficienta de conjugat pentru un strip cu opt godeuri este de 10 µl de conjugat in 1ml diluant.
- Agitati foarte bine solutia inainte de folosire.
- Preparati numai cantitatea necesara pentru fiecare folosire, deoarece volumul ramas trebuie aruncat.

VI.- PREPARAREA PROBELOR:

Probele (seruri sau lapte) pot fi testate individual sau in amestec/pool (pana la 10 probe de seruri). Cand se folosesc probe de lapte se recomanda ca acestea sa se degrezeze inainte de analiza.

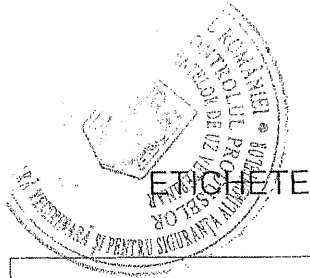
VII.- PROCEDURA DE LUCRU:

1. Toti reagentii (cu exceptia conjugatului) trebuie lasati sa ajunga la temperatura camerei inainte de utilizare.
2. Adaugati 50 µl de diluent de ser in fiecare godeu. Adaugati 50 µl din serul de control pozitiv, din serul de control negativ si din serurile de testat in godeurile placii. Astfel veti realiza dilutia probelor intr-o proportie de 1/2. Agitati placa cu grija pentru o mai buna omogenizare a dilutiilor. Recomandam testarea serurilor de control (martoriilor) in duplicat (in doua godeuri). **Incubati placa timp de 1 ora la 37°C.**
3. Spalati de 3 ori, respectand procedura descrisa.
4. Adaugati 100 µl de conjugat (preparat conform instructiunilor anterioare) in fiecare godeu. **Incubati placa 30 minute la +37°C.**
5. Spalati de 4 ori urmand procedura de spalare.
6. Adaugati 100 µl din solutia de substrat in fiecare godeu. Tineti placa timp de 10 min. la temperatura camerei la intuneric.
7. Adaugati 100 µl din solutia de stopare in fiecare godeu, in aceeasi ordine in care a fost adaugat substratul.
8. Cititi densitatea optica (DO) a fiecarui godeu cu un spectrofotometru la 450 nm in maxim 5 minute de la adaugarea solutiei de stopare.

NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Udreaanu 34, Sect. 5
Bucuresti

TEL: +40 21 317 66 70
FAX: +40 21 316 66 58

www.noackgroup.com



INGENASA

INGEZIM BLV COMPAC 2.0

PLACA CAPTUSITA cu Antigen BLV

Pastrare la + 2 - 8 °C
Ref: 12. BLV. K3
Lot:Exp:

INGEZIM BLV COMPAC 2.0 1.2.BLV.K.3

Lot:
Exp:

Pastrare la +2 - 8°C

PREZENTARE

Kit cu 2 placi

Kit cu 5 placi

Kit cu 10 placi

CONJUGAT

Conjugat cu peroxidaza marcat cu MAb antigen BLV monoclonal (concentrat 100x)
Pastrare la + 2 - 8 °C
Ref: 12. BLV. K3
Lot:
Exp:

SER DE CONTROL NEGATIV

Pastrare la + 2 - 8 °C
Ref: 12. BLV. K3
Lot:
Exp:

SER DE CONTROL POZITIV

Pastrare la + 2 - 8 °C
Ref: 12. BLV. K3
Lot:
Exp:

COMPONENTELE KIT-ULUI

Placi captusite (8x12 godeuri)
Conjugat cu peroxidaza
Ser de control pozitiv
Ser de control negativ
Diluent (DE04-01)
Solutie de stopare
Substrat (TMB)
Solutie de spalare 25 x concentrat

SOLUTIE DE STOPARE 01

Pentru substrat TMB
(Acid Sulfuric)
Pastrare la + 2 - 8 °C
Ref: SF01-01
Lot:
Exp:

DILUENT 04

Diluent gata de utilizare
Pastrare la + 2 - 8 °C
Ref: DE04-01
Lot:
Exp:

SUBSTRAT TMB

Gata de utilizare
Pastrare la + 2 - 8 °C
Ref: SU01-01
Lot:
Exp:

INGEZIM BLV COMPAC 2.0 1.2.BLV.K.3

Lot:
Exp:

Inregistrare 808 RD

SOLUTIE DE SPALARE

Solutie de spalare concentrata 25x.
Inainte de folosire se dilueaza cu apa distilata.
Pastrare la + 2 - 8 °C
Ref: WB01-25
Lot:
Exp:

NOACK

NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Ungureanu 34, Sect. 5
Bucuresti
Tel: +40 / 21 / 317 66 70
Fax: +40 / 21 / 318 66 88
www.noackromania.ro