



# 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: 07-06-12  
INREGISTRARE MAPA NO. 0808-RD

Prodotus in Spania de:

INNOVACION Y SERVICIOS APLICADOS S.A.  
C/ MIRA DE LA NUBIA, 35  
28037 MADRID (ESPAÑA)  
TEL: +34 91 564 00 00  
FAX: +34 91 564 00 05  
E-mail: [info@innovacion.com](mailto:info@innovacion.com)  
[www.innovacion.com](http://www.innovacion.com)

INNOVACION Y SERVICIOS APLICADOS S.A.

Distribuit in Romania de:

GROUP OF COMPANIES

**S.C. NOACK ROMANIA S.R.L.**

B-dul Unirii 74 BI J3B Ap3, Sector 3 ,Bucuresti  
Cont 2405728, Raiffeisen Bank Ag. Decebal  
C.U.I.: 5019365, Capital social : 38.000 USD  
Tel/Fax: (021)- 3.17.66.70 / 3.16.66.58

E-mail : [info@noack.ro](mailto:info@noack.ro)

NOACK

NOACK ROMANIA S.R.L.  
Ion Urdeleanu 24, Sect. 1  
Bucuresti  
Tel: +40 / 21 / 317 66 70  
Fax: +40 / 21 / 316 66 58  
[www.noackromania.com](http://www.noackromania.com)



**INGEZIM BLV COMPAC 2.0  
1.2.BLV.K.3**

**VIII. CITIREA SI INTERPRETAREA REZULTATELOR:**

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

**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:

$$\frac{DO (\text{Ser Control Negativ})}{DO (\text{Ser Control Pozitiv})} > 5$$

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:**

$$NC/PC = 11,3 > 5$$

$$NC = 1,750 > 1$$

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

**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**

$$\text{Cut Off (-)} = 1,750 - [(1,750-0,154) \times 0,4] = 1,111$$

$$\text{Cut Off (+)} = 1,750 - [(1,750-0,154) \times 0,5] = 0,952$$

**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 captusete 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 anticorpului monoclonal (Mab) marcat cu peroxidaza la antigen, 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:**

1. Cititi instructiunile de folosire cu atentie.
2. Aduceti toti reagentii la temperatura camerei (20°- 25°C), inainte de utilizare.
3. Nu amestecati instructiunile sau reactivii de la kituri diferite.
4. Evitati orice contaminare a reactivilor din kit.
5. Nu folositi componentele kitului dupa expirarea acestora si nu amestecati componentele ce apartin unor kituri sau loturi diferite.
6. Nu mancati, nu beti si nu fumati in locul in care manipulati probele sau reagentii kitului.
7. Nu pipetati cu gura.
8. Folositi un varf nou pentru fiecare proba de ser.
9. 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.
10. La fiecare utilizare a kitului, serurile de control (pozitiv si negativ), trebuie testate in mod sistematic.
11. Substratul trebuie manipulat cu grija, este foarte sensibil la lumina si contaminare.

### III - DEPOZITAREA COMPONENTELOR KITULUI:

Toti reactivii si toate placile trebuie pastrate la +2°C si +8°C. Odata deschise, serurile de control sunt stabile timp de o luna. In cazul in care nu le utilizati in aceasta perioada, se recomanda pastrarea lor la -20°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 brusca 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, adaugari 50µl/godeu. Acestea sunt stabile timp de o luna, la +2°C si +8°C. Pentru stocari indelungate, divizati-le in cantitati mai mici si pastrati-le la -20°C.

#### • 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 8 godeuri este de 10 µl de conjugat in 1ml diluant.

Agitati foarte bine solutia inaintea 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 degreseze inaintea de analiza.

### VII.- PROCEDURA DE LUCRU:

1. Toti reagentii (cu exceptia conjugatului) trebuie lasati sa ajunga la temperatura camerei inaintea de utilizare. conform instructiunilor anterioare) in fiecare godeu. **Incubati placa 30 minute la +37°C.**
2. Adaugati 50 µl de diluant 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. Astfei veti realiza dilutiile probelor intr-o proportie de 1/2. Agitati placa cu grija pentru o mai buna omogenizare a dilutiilor. Recomandam testarea serurilor de control (marilor) 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
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 intineric.
7. Adaugati 100 µl din solutia de stopare in fiecare godeu, in aceeasi ordine in care substratul a fost adaugat.
8. Cititi densitatea optica (DO) a fiecarui godeu cu un spectrofotometru la 450 nm.

<b>INGEZIM BLV COMPAC 2.0</b> <b>PLACA CAPTUSITA cu</b> <b>Antigen BLV</b>  Pastrare la + 4 °C Ref: 1.2. BLV. K3	<b>CONJUGAT</b> Cojugat cu peroxidaza marcat cu Mab antigen BLV monoclonal Pastrare la + 4 °C Ref: 1.2. BLV. K3	<b>SER DE CONTROL</b> <b>NEGATIV</b>  Pastrare la + 4 °C Ref: 1.2. BLV. K3	<b>SER DE CONTROL</b> <b>POZITIV</b>  Pastrare la + 4 °C Ref: 1.2. BLV. K3
---	--	--	--

<p style="text-align: center;"><b>INGEZIM BLV COMPAC 2.0</b> <b>1.2.BLV.K.3</b></p> <p style="text-align: center;">Pastrare la + 4 °C</p> <p style="text-align: center;"><b>PREZENTARE</b></p> <p style="text-align: center;">KIT cu 2 placi      KIT cu 5 placi      KIT cu 10 placi</p> <p style="text-align: center;"><b>COMPOZITIA KIT-ului</b></p> <p style="text-align: center;">Placi captusite (8x12 godeuri)  Cojugat cu peroxidaza  Ser de control pozitiv  Ser de control negativ  Diluent (DE04-01)  Solutie de stopare  Substrat (TMB)  Solutie de spalare 25 x concentrat</p>	<b>SOLUTIE DE SPALARE</b> 25X Concentrat Inainte de folosire se face dilutie cu apa distilata Pastrare la + 4 °C Ref: WB01-25
	<b>DILUENT 04</b> Diluent gata preparat Pastrare la + 4 °C Ref: DE04-01
	<b>SUBSTRAT TMB</b> Substrat gata preparat Pastrare la + 4 °C Ref: SU01-01
<b>SOLUTIE DE STOPARE</b> Pt. Substrat TMB (Acid Sulfuric) Pastrare la + 4 °C Ref: SF01-01	

Eticheta cutie INGEZIM BLV COMPAC 2.0 limba română

Depozitare la o temperatură cuprinsă între +2°C și +8°C la destinație. A nu se congela.

Poate fi transportat la rece sau la temperatura camerei pentru o perioadă de maxim 7 zile.

# INGENASA

C/Hermanos García Noblejas, 39

28037 -MADRID (SPAIN)

Tlf.: (+34) 913.68.05.01

Fax: (+34) 914.08.75.98

E-mail: [ingenasa@ingenasa.com](mailto:ingenasa@ingenasa.com)

Página web: [www.ingenasa.es](http://www.ingenasa.es)