

**INGEZIM BLV COMPAC 2.0**

Prod Ref: 12.BLV.K3

**Test imunoenzimatic de blocare pentru detectia anticorpilor specifici virusului
Leucozei Bovine (BLV) in seruri sau lapte de bovine**

Ultima versiune: 19-09-22 (versiune Spaniola 21-04-15)

Nr. Inregistrare in Spania: 0808- RD

COMPONENTA KITULUI:

Reagent	Kit x 2 placi (2x8x12 godeuri)		Kit x 5 placi (5x8x12 godeuri)		Kit x 10 placi (10x8x12 godeuri)	
	Uni.	Vol.	Uni.	Vol.	Uni.	Vol.
Placi de microtitrare cu 96 godeuri, captusite (divizate in 12 stripuri x 8 godeuri fiecare)	2	-	5	-	10	-
Fiascoane cu ser de control pozitiv	1	1,5 ml	2	1,5 ml	2	1,5 ml
Fiascoane cu ser de control negativ	1	1,5 ml	2	1,5 ml	2	1,5 ml
Fiascoane cu Conjugat peroxidaza (100x concentrat)	1	700 µl	1	700 µl	2	700 µl
Sticle cu Solutie de spalare (25x concentrat)	1	125 ml	1	125 ml	2	125 ml
Sticle cu Diluent (DE04-01) gata de utilizare	1	125 ml	1	125 ml	2	125 ml
Sticle cu Substrat (TMB) gata de utilizare	1	30 ml	1	60 ml	1	125 ml
Sticle cu Solutie de stopare	1	60 ml	1	60 ml	1	125 ml

ALTE MATERIALE SI REAGENTI NECESARI CE NU SUNT FURNIZATI IN KIT:

Apa distilata sau deionizata.

Micropipeta cu volum variabil 5 - 200 µl.

Varfuri de pipeta de unica folosinta.

Aparat pentru spalarea placilor.

Tuburi de testare 50 - 250 ml

Cititor ELISA (cu filtru 450 nm)

NOACK ROMANIA S.R.L.
Calea Van 23 Cluj Napoca
Str. 3 Bucuresti
Tel: 0361 240317 99 70
Fax: 0361 240317 318 66 68

I. BAZA TEHNICA

Acest kit se bazează pe un test imunoenzimatic de blocare (ELISA de blocare) care utilizează anticorpi monoclonali specifici față de glicoproteina virală gp 51. Acest test permite detectia anticorpilor anti-BLV în seruri sau lapte de bovine (individuale sau în amestec). Facem în cele ce urmează, o scurtă prezentare a tehnicii:

Faza solidă este reprezentată de plăcile captusite cu antigen BLV gp51 legat la placă. După adăugarea probei în godeu, dacă aceasta conține anticorpi specifici împotriva virusului, ei se vor lega de antigenul adsorbit pe placă, iar dacă serul nu conține anticorpi specifici, aceștia nu se vor lega la antigen. Dacă adăugăm un anticorp monoclonal specific față de antigenul viral ce captusește placă (conjugat cu peroxidază), el va intra în competiție cu anticorpii din ser. Dacă probele de ser conțin anticorpi specifici, ei nu vor permite legarea la antigen a anticorpului monoclonal (Mab) marcat cu peroxidază, iar dacă serul nu conține anticorpi specifici, anticorpii monoclonali (Mab) se vor lega de antigenul de pe placă. După spălarea plăcii pentru a elimina toate materialele nelegate, putem detecta prezența sau absența anticorpilor monoclonali (Mab) marcați, prin adăugarea substratului (TMB), care în prezența peroxidazei va dezvolta o reacție colorimetrică.

II. PRECAUTII SI AVERTIZARI PENTRU UTILIZATORI:

1. Citiți cu atenție instrucțiunile de folosire.
2. Aduceți toți reagenții la temperatura camerei (20°- 25°C), înainte de utilizare.
3. Nu amestecați instrucțiunile sau reagenții de la kituri diferite.
4. Evitați orice contaminare a reagenților din kit.
5. Nu folosiți componentele kitului după expirarea acestora și nu amestecați componentele ce aparțin unor kituri sau loturi diferite.
6. Nu mâncați, nu beți și nu fumați în locul în care manipulați probele sau reagenții kitului.
7. Nu pipetați cu gura.
8. Folosiți un vârf nou pentru fiecare probă de ser.
9. Soluția de stopare este un acid puternic și trebuie manipulat cu grijă. În cazul unui contact accidental cu pielea, spălați cu apă zona afectată.
10. La fiecare utilizare a kitului, serurile de control pozitiv și negativ trebuie testate în mod sistematic.
11. Substratul trebuie manipulat cu grijă deoarece este foarte sensibil la lumina și contaminare.

III. DEPOZITAREA COMPONENTELOR KITULUI

Toți reagenții și plăcile trebuie păstrate între +2°C și +8°C.

Transportul se efectuează în condiții de temperatură și umiditate ambientală până la 7 zile pentru fiecare etapă de transport.

IV. INFORMATII DESPRE ETAPELE DE SPALARE

Etapile de spălare pot fi realizate folosind un spălator automat sau o pipeta multicanal potrivită pentru distribuirea a 300 μl în fiecare godeu.

După perioadele de incubare, trebuie să se efectueze etapele de spălare urmând instrucțiunile următoare:

- Aruncați conținutul godeurilor printr-o mișcare bruscă de rasturnare a plăcii, pentru a evita o posibilă amestecare a conținutului unui godeu cu a celorlalte godeuri.
- Distribuiți un volum de 300 μl de soluție de spălare în fiecare godeu.
- Agitați ușor placă, evitând contaminarea între godeuri.
- Rasturnați brusc placă pentru golirea godeurilor.
- Repetați procesul de câte ori este indicat în instrucțiunile kitului.

NOACK

NOACK ROMANIA S.R.L.
Chiași V. nr. 23 C. 61416
1525000 Curtea
Tel. +40 / 21 1317 66 70
Fax. +40 / 21 1316 66 58
www.noack.ro

- Anterior golirii continutului ultimei etape de spalare, verificati ca urmatorul reagent ce trebuie adaugat in placa sa fie gata de utilizare. Nu lasati placa sa se usuce mai mult timp decat este necesar.
- Dupa ultima etapa de spalare rasturnati placa pe o hartie absorbanta si loviti-o usor.

V. PREPARAREA REAGENTILOR

• Solutia de spalare:

Diluati o parte din solutia de spalare concentrata furnizata de kit, cu 24 parti de apa distilata sau deionizata (ex. 40 ml de sol. concentrata si 960 ml de apa). Cand este gata, aceasta ramane stabila pentru maxim 3 luni, depozitata intre +2°C si +8°C, atata timp cat sunt mentinute conditiile adecvate.

• 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 in kit in proportie de 1/100 cu diluent:

=> Cantitatea necesara si suficienta de conjugat pentru o placa completa este de 110 µl de conjugat in 11 ml diluent.

=> Cantitatea necesara si suficienta de conjugat pentru un strip cu opt godeuri este de 10 µl de conjugat in 1 ml de diluent

Agitati foarte bine solutia inainte de folosire.

Preparati numai cantitatea necesara pentru fiecare folosire, deoarece volumul ramas trebuie aruncat.

VI. PREPARAREA PROBELOR

• Probe de ser:

Probele pot fi testate individual sau in amestec/pool (pana la 10 probe de seruri).

• Probe de lapte:

Probele pot fi testate numai individual. Se recomanda ca acestea sa se degreseze inainte de testare.

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 DE04-01 in fiecare godeu. Adaugati 50 µl de Control Pozitiv, Control Negativ si Serurile de testat in godeurile placii. Astfel veti realiza dilutiile probelor in placa, intr-o proportie de 1/2. Agitati placa cu grija pentru o mai buna omogenizare a dilutiilor. Recomandam testarea serurilor de control in duplicat folosind 2 godeuri pentru fiecare. Pentru a evita efectul de "frontiera" detectat atunci cand sunt utilizate incubatoare, este recomandabil sa nu puneti controale pe marginea godeurilor. 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. Pastrati placa timp de 10 min. la temperatura camerei la intuneric.
7. Adaugati 100 µl din solutia de stopare in fiecare godeu, in aceeaasi 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.
 Calea Vilan 23, Cluj Napoca
 Cluj Napoca
 Tel: +40 21 317 56 70
 Fax: +40 21 317 06 58
 www.noackromania.ro

VIII. CITIREA SI INTERPRETAREA REZULTATELOR

Citirea trebuie facuta cu un spectofotometru la 450 nm.

A. Validarea testului:

Testul este considerat valid:

- Daca valoarea DO a serului de Control Negativ este mai mare de 5 ori decat valoarea DO a serului de Control Pozitiv:

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

- Valoarea DO a serului de Control Negativ trebuie sa fie mai mare decat 1.

B. Interpretarea Rezultatelor:

1. Calcularea valorii de Cut-Off:

$$\Sigma \text{ Cut-Off Negativ} = NC - [(NC-PC) \times 0,4]$$

$$\Sigma \text{ Cut-Off Pozitiv} = NC - [(NC-PC) \times 0,5]$$

Unde: NC = media valorilor DO a serului de Control Negativ
PC = media valorilor DO a serului de 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 acestea se recomanda efectuarea unui nou test cu probe prelevate dupa trei saptamani.

EXEMPLU:

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. 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

Dezvoltat și fabricat în Spania de:

EUROFINS INGENASA, S.A.
C/ Hermanos García Noblejas, 39 8ª planta
28037- MADRID (SPAIN)
Tel: +34 91368.05.01/04
Fax: +34 91 408.75.98
E-mail: ingenasa@ingenasa.com
www.ingenasa.es



Distribuit în ROMANIA de:

NOACK ROMANIA SRL
Calea Vitan nr. 23 C, Et.4, Sect.3
Bucuresti
Tel: +40 021.317.66.70
Fax: +40 021.316.66.58
E-mail: office@noack.ro
www.noackgroup.com

NOACK ROMANIA S.R.L.
Calea Vitan nr. 23 C, Et.4
Sect.3 Bucuresti
Tel: +40 021.317.66.70
Fax: +40 021.316.66.58

**GOLD
STANDARD
DIAGNOSTICS**

Eticheta de produs
Fisa 06/06/2023
FR-369

Produs: INgezim® BLV Compac 2.0

Ref.: 12.BLV.K.3

Eticheta de pe cutie

INgezim BLV Compac 2.0	
CONIUGAT	
cu peroxidaza marcat cu MAb Jent BLV (concentrat 100x)	
Pastrare +2 °C la +8 °C	
Ref: 12. BLV. K3	
Lot:	
Exp:	

INgezim BLV Compac 2.0	INgezim BLV Compac 2.0
CONTROL NEGATIV	CONTROL POZITIV
Pastrare +2 °C la +8 °C	Pastrare +2 °C la +8 °C
Ref: 12. BLV. K3	Ref: 12. BLV. K3
Lot:	Lot:
Exp:	Exp:

INgezim® BLV Compac 2.0	
1.2.BLV.K.3	
Lot:	Pastrare +2 °C la +8 °C
Exp:	
PREZENTARE	
Kit cu 2 placi	Kit cu 5 placi Kit cu 10 placi

INGEZIM BLV COMPAC 2.0	
PLACA CAPTUSITA cu Antigen BLV	
Pastrare +2 °C la +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	

DILUENT 04	
Diluent gata de utilizare	
Pastrare +2 °C la +8 °C	
Ref: DE04-01	
Lot:	
Exp:	

SOLUTIE DE SPALARE	
Solutie de spalare concentrata 25x.	
Inainte de folosire se dilueaza cu apa distilata.	
Pastrare +2 °C la +8 °C	
Ref: WS01-25	
Lot:	
Exp:	

SUBSTRAT TMB Gata de utilizare Pastrare +2 °C la +8 °C Ref: S06-02 Lot: Exp:	
--	---

INgezim® BLV Compac 2.0	
1.2.BLV.K.3	
No. Inregistrare:	0808 RD

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

NOACK ROMANIA S.R.L.
Calea Vahului 23 G. 55014
Sibiu, Romania
Tel. +400 21 / 317 80 70
Fax. +400 21 / 316 08 58
www.noackromania.ro