



# INGEZIM BTV COMPAC 2.0

Prod. Ref: 12.BTV.K3

Kit Elisa imunoenzimatic de blocare pentru detectia anticorpilor specifici virusului Blue  
Tongue in seruri de bovine analizate individual

Produs in Spania de:

INMUNOLOGIA Y GENETICA APLICADA, S.A.  
C/ Hnos. García Noblejas, 39  
28037- MADRID (SPAIN)  
TF: +34 91366.05.01/04  
Fax: +34 91 408.75.08  
E-mail: [ingenasa@ingenasa.es](mailto:ingenasa@ingenasa.es)  
[www.ingenasa.es](http://www.ingenasa.es)

INGENASA S.A. - MADRID (SPAIN)  
Distribución en 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: 021.317.66.70 / 021.316.66.58

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

ULTIMA REVIZUIRE: 30-05-13  
INREGISTRARE MAPYA no. 1125 RD

**NOACK**  
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](http://www.noackgroup.com) ①

COMPOZITIA KITULUI

Reactiv	Placi (2x8x12 godeuri)		Placi (2x8x12 godeuri)	
	Unitate	Volum	Unitate	Volum
Microplaca cu 96 de godeuri (divizata fiecare in 12 stripuri a cate 8 godeuri)	2	-	5	-
Fiola cu ser control pozitiv pt BTV	1	600 µl	2	600 µl
Fiola cu ser control negativ pt BTV	1	600 µl	2	600 µl
Flacon cu Conjugat GATA DE UTILIZARE (Mab anti BTV-HRPO)	1	30 ml	2	30 ml
Flacon cu Solutie de Spalare 25 x concentrat	1	125 ml	1	125 ml
Flacon cu Diluent (DE01-01) gata de utilizare	1	125 ml	1	125 ml
Flacon cu Substrat (TMB) gata de utilizare	1	30 ml	1	60 ml
Flacon cu Solutie de Stopare.	1	60 ml	1	60 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 detestare de la 50 la 250 ml
- Cititor ELISA (cu filtru de 450 nm)

NOACK

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

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

**VIII.- CITIREA SI INTERPRETAREA REZULTATELOR:**

In cazul in care probele s-au lucrat in duplicat, se va lua in considerare media ambelor valori ale DO. In acelasi mod se face media celor doua valori DO ale godeurilor in care s-au distribuit serul de control pozitiv, respectiv negativ.

**1. VALIDAREA REZULTATELOR:**

Control Pozitiv / Control Negativ < 0,25.

**2. CALCULAREA VALORII DE CUT-OFF:**

Valoarea de Cut Off (-) = 0,65 x Control Negativ

Valoarea de Cut Off (+) = 0,6 x Control Negativ

**3. CALCULAREA % BLOCARE**

% Blocare proba =  $100 - \frac{DO\ proba \times 100}{DO\ control\ negativ}$

**4. INTERPRETAREA REZULTATELOR:**

Probele vor fi considerate **POZITIVE** (exista anticorpi specifici pentru BTV), cand valoarea DO la 450 nm a fost egala sau mai mica decat valoarea de cut off pozitiva (60% din controlul negativ).

Probele vor fi considerate **NEGATIVE** (nu exista anticorpi specifici pentru BTV in probe), cand valoarea DO la 450 nm a fost egala sau mai mare decat valoarea de cut off negativa (65% din controlul negativ).

Probele cu procentaje de legare intre cele doua valori de cut off trebuie considerate **INCERTE**. In aceasta situatie se recomanda ca o noua proba recoltata de la acelasi animal, sa fie analizata in doua saptamani.

**I.- BAZA TEHNICA:**

Kit-ul este destinat pentru detectarea anticorpilor specifici virusului BTV la ovine, caprine si bovine si este capabil sa detecteze titruri foarte scazute de anticorpi in ser si plasma de la animalele infectate. Baza tehnica a kitului este un proces de testare imunoenzimatic de blocare care este descris in continuare.

Placa cu godeuri este captusita cu proteina VP7 a BTV. Dupa adaugarea probelor in godeuri, daca acestea contin anticorpi specifici ai virusului, acestia vor lega la antigenul de pe placa, in timp ce daca probele nu contin anticorpi specifici acestia nu vor lega la antigen.

Daca adaugam un anticorp monoclonal specific pentru antigenul cu care este captusita placa (conjugat cu peroxidaza), acesta va intra in competitie cu anticorpii din proba. Daca proba contine anticorpi specifici acestia nu vor permite legarea la antigen a conjugatului Mab marcat, in timp ce daca nu contine anticorpi specifici conjugatul Mab marcat se va lega la antigenul de pe placa. Dupa spalarea placii pentru eliminarea intregului material nefixat, putem detecta prezenta sau absenta Mab marcat adaugand substratul (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 reagentii de la kituri diferite.
4. Evitati orice contaminare a reagentilor 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. La fiecare utilizare a kitului, serurile de control pozitiv si negativ trebuie testate in mod sistematic.
10. Solutia de stopare este un acid puternic si trebuie manipulat cu precautie. In cazul in care aceasta vine in contact cu pielea, spalati cu apa zona afectata.
11. Substratul trebuie manipulat cu grija; este foarte sensibil la lumina si contaminare.

**NOACK**  
NOACK ROMANIA S.R.L.  
Ion Urdasanu 34, Sect. 5  
Bucuresti  
Tel. +40 / RA / 317 66 70  
Fax +40 / RA / 316 66 58  
www.noackreup.com

III.- DEPOZITAREA COMPONENTELOR KITULUI:

Toti reagentii si toate placile trebuie sa fie depozitate la +2°C - +8°C. Odata deschise, serurile de control sunt stabile pentru 1 luna. In cazul in care urmeaza sa nu fie folosite in acesta perioada, recomandam depozitarea lor la -20°C.

IV.- INFORMATII DESPRE ETAPELE DE SPALARE:

Etapele de spalare pot fi realizate folosind un spalator automat si o pipeta multicanal potrivita pentru distribuirea a 300 µl in fiecare godeu.

Dupa perioadele de incubare, etapele de spalare trebuie sa se efectueze 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 (ex. 40 ml sol. concentrata si 960 ml apa). Cand este gata, aceasta ramane stabila daca este depozitata la +2°C - +8°C.

• Serurile de control pozitiv si negativ:

Serurile de control trebuie testate ca probele de ser, adaugand 50µl/godeu.

**ATENTIE:** Odata deschise, acestea sunt stabile timp de o luna la +2°C - +8°C. Pentru stocare indelungata divizati-le in cantitati mai mici si pastrati-le la -20°C.

• Prepararea conjugatului:

Este gata de utilizare si se foloseste adaugand 100 µl/godeu.

VI.- PREPARAREA PROBELOR:

• Probele de ser:

Trebuie testate in dilutie cu ½ diluent. Dilutia poate fi facuta direct pe placa de testare adaugand 50µl de diluent si 50 µl de proba in fiecare godeu.

VII.- PROCEDURA DE LUCRU:

1. Toti reagentii trebuie lasati sa ajunga la temperatura camerei inainte de utilizare.
2. Adaugarea probei:
  - Ser: Adaugati 50 µl de diluent in fiecare godeu. Adaugati 50 µl din fiecare proba.
  - Pentru controale adaugati 50 µl asa cum este indicat la pct. V.
  - Recomandam testarea serurilor de control in duplicat.
3. Sigilati placa si incubati peste noapte (18-24 ore) la temperatura camerei, sau 2,5 ore la 37°C.
4. Spalati de 6 ori respectand procedura descrisa.
5. Adaugati 100 µl de conjugat (gata de utilizare) in fiecare godeu. Sigilati placa si incubati timp de 30 min. la 37°C.
6. Spalati de 6 ori urmand procedura de spalare.
7. Adaugati 100 µl de substrat in fiecare godeu. Tineti placa timp de 10 min. la temperatura camerei.
8. Adaugati 100 µl de solutie de stopare in fiecare godeu.
9. Cititi densitatea optica (DO) a fiecarei godeu la 450 nm in interval de maxim 5 minute dupa ce ati adaugat Solutia de Stopare.

NOACK

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

ETICHETE

**INGENASA**

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

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

Lot:  
 Exp: Pastrare la + 2 la +8 °C

**PREZENTARE**

Kit cu 2 placi	Kit cu 5 placi
-------------------	-------------------

**COMPONENTELE KIT-ULUI**

Placi captusite (8x12 godeuri)  
 Conjugat cu peroxidaza  
 Ser de control pozitiv  
 Ser de control negativ  
 Ser de control pozitiv pt lapte  
 Ser de control negativ pt lapte  
 Diluent (DE01-01)  
 Solutie de stopare  
 Substrat (TMB)  
 Solutie de spalare 25 x concentrat

**DILUENT 01**  
 Diluent gata de utilizare  
 Pastrare la + 2 la +8 °C  
 Ref: DE01-01  
 Lot:  
 Exp:

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

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

Lot:  
 Exp: Pastrare la + 2 la +8 °C

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

**SUBSTRAT TMB**  
 Gata de utilizare  
 Pastrare la + 2 la +8 °C  
 Ref: S08-01  
 Lot:  
 Exp:

**NOACK**

NOACK ROMANIA S.R.L.  
 Ion Udreaanu 34, Sect. 5  
 Bucuresti  
 Tel: +40 21 2317 66 70  
 Fax: +40 21 2318 66 35  
 www.noack.ro