

Mono Blocking

KIT PENTRU DETECȚIA ANTICORPILOR ANTI-gp 51 AI VIRUSULUI LEUCOZEI BOVINE ÎN PROBE DE SER (INDIVIDUALE ȘI POOL-uri)

TEHNICĂ IMUNOENZIMATICĂ DE BLOCARE

384 godeuri cu o singură reacție

I. PRINCIPIUL TESTULUI

Kitul "SERELISA[®] BLV Ab Mono Blocking" utilizează o metodă imunoenzimatică de blocare ce permite detecția anticorpilor anti-glicoproteinei structurale (gp 51) în probe de ser. Kitul permite detectarea unei probe de ser pozitiv într-un pool (amestec) de 10 seruri, conform cu reglementările Uniunii Europene. Reacția este compusă din trei pași:

1. Fiecare probă de ser este plasată în godeul sensibilizat cu glicoproteina structurală (gp 51) a virusului LEB. Anticorpul anti gp 51 prezenți în probă se vor cupla cu antigenul glicoproteinei ce căptușește godeul.

2. După o etapă de spălare se adaugă un conjugat anticorp monoclonal (Acm) anti-gp 51 cuplat cu peroxidază. Se fixează la siturile libere ale gp 51 formând un complex: (Ag gp 51) - (Anti Acm gp 51 / peroxidază)

3. Conjugatul în exces este eliminat printr-o etapă de spălare. Enzima cuplată la conjugat este evidențiată prin adăugarea unui substrat, ce se transformă într-un produs colorat. Densitățile optice corespunzătoare sunt măsurate și interpretate în funcție de valorile de cut-off obținute la martorii de control.

- În absența anticorpilor din probă se va vedea o reacție de culoare intensă, datorită transformării conjugatului enzimatic legat la siturile libere ale gp 51, fixate de faza solidă.

- În prezența anticorpilor anti gp 51 din probă, mai puțin conjugat enzimatic se va lega de siturile gp 51 fixate de faza solidă și de aceea intensitatea reacției de culoare va fi diminuată.

II. COMPOZIȚIA ȘI CONSERVAREA KITULUI

NATURA REAGENTULUI	RECONSTITUIRE ȘI CONSERVARE
4 microplăci ce conțin 6 stripuri de 2 x 8 godeuri sensibilizate cu proteina gp 51 a virusului LEB	A se utiliza în maxim 4 săptămâni după deschiderea ambalajului, care trebuie să fie închis după utilizare.
Conjugat (CJ) Anticorpi monoclonali anti-gp51 / peroxidază (concentrat 100X)	Diluati de 100 ori în diluantul de conjugat și utilizați în max. 2 ore după diluție.
Substrat tamponat cu peroxidază (SP)	Gata de utilizare.
Control negativ (N)	Gata de utilizare.
Control pozitiv (P)	Gata de utilizare.
Diluant pentru probe (DP)	Gata de utilizare.
Soluție de spălare (W) (concentrată de 10X)	Diluati de 10 ori în apă distilată sau demineralizată. Utilizați în 5 zile după diluție.
Diluant pentru conjugat (DC)	Gata de utilizare.
Soluție de stopare (S)	Gata de utilizare.
Folii adezive	12 folii

Notă: Păstrați reagenții diluați la +5°C ± 3°C și utilizați-i conform procedurii menționate mai sus.

III. MĂSURAREA DE PRECIZIE A REZULTATULUI ÎN FUNCȚIE DE VOLUMUL DE PROBĂ

- Apă distilată sau demineralizată.
- Pipete ajustabile sau fixe pentru a măsura și doza între 0 și 1000 μl.
- Deviația măsurătorii trebuie să fie ≤ 10% pentru volume ≤ 10 μl și ≤ 5% pentru toate celelalte volume.
- Cilindrii gradăți (100 ml și 1000 ml)

- Spălător manual, automat sau semi-automat pentru plăcile de microtitrare.
- Cititor de microplăci, cu filtre pentru citiri bicromatice la 450 și 630 nm. Se poate utiliza și un cititor monocromatic cu filtru de 450 nm.
- Incubator la +37°C ± 3°C.

IV. PRECAUȚII PENTRU UTILIZARE

Ca toate reagenții, acest kit trebuie să fie utilizat în condiții de siguranță și în practică de laborator și trebuie să se respecte următoarele:

1. Nu amestecați sau asociați reagenții din loturi cu numere diferite.
2. Nu utilizați reagenții după data expirării.
3. Plasați reagenții la temperatura laboratorului cu cel puțin o oră înainte de utilizare.
4. Manipulați toți reagenții și probele ca materiale cu risc biologic.
5. Țineți toți reagenții departe de piele și ochi. Dacă apare expunerea, spălați imediat suprafețele afectate cu apă rece.
6. Nu pipetați niciodată cu gura.
7. Evitați contaminarea între probe în timpul recoltării, depozitării sau transportului probelor. Utilizați vârfuri de pipetă de unică folosință, separate pentru fiecare probă.
8. Evitați contaminarea soluției substrat cu ioni metalici, agenți de oxidare sau detergenți. Asigurați-vă că toți recipientii sunt curați. Nu utilizați același recipient sau același vârf de pipetă pentru conjugat și substrat.
9. Se recomandă ca eliminarea reagenților și a materialului contaminat să se facă în funcție de reglementările în vigoare. Fișele cu datele de securitate ale produsului sunt disponibile la cerere.

Fraze de risc:

R35: Cauzează arsuri grave.

S26: În cazul contactului cu ochii clătiți imediat cu apă din abundență și solicitați sfatul medicului.

S30: Niciodată nu adăugați apă peste produs.

S45: În caz de accident sau dacă nu vă simțiți bine, solicitați imediat sfatul medicului.

V. PROBE

Testul poate fi utilizat pe probe decantate sau pool-uri (amestecuri) de seruri (amestec cu până la 10 probe de ser).

VI. PROCEDURĂ

Respectați cu strictețe procedura descrisă mai jos. Utilizați martorii de control negativ și pozitiv în duplicat pentru fiecare testare, pentru fiecare placă.

A. ETAPE PRELIMINARE

1 - Acordați atenție la distribuirea și identificarea martorilor și probelor.

2 - Preparați probele ce vor fi testate: se poate utiliza diluția 1:10 fie înainte în tuburi de hemoliză, microplăci blank, fie direct în godeurile de testare.

B. PROCEDURA DE TESTARE

I - DISTRIBUIREA MARTORILOR DE CONTROL ȘI A PROBELOR

1. Distribuirea martorilor de control:

Martorii de control sunt gata de utilizare.

După agitarea flacoanelor, adăugați 100 μl de martor de control negativ (N) în godeurile A1 și A2 și 100 μl de martor de control pozitiv (P) în godeurile B1 și B2.

2. Distribuirea probelor:

Plasați 100 μl de probe de ser diluat în prealabil (de zece ori) în fiecare godeu.

Pentru diluția direct în godeu, pipetați 90 μl de diluant de probă 10 μl de probă, în godeu și amestecați bine.

Probele pot fi testate individual sau în duplicat.

- Stripurile trebuie plasate întotdeauna pe rama plăcii astfel încât ambele direcții de spălare să fie utilizate și să poată fi utilizate.

- După pipetarea și amestecarea, se recomandă să se agite placa în poziție verticală.

- Amestecați manual placa prin scuturare ușoară sau utilizând un agitator de placă.

3. Incubarea plăcii

Incubați placa peste noapte (14-18 ore) la +5°C ± 3°C.

SPĂLAREA:

Soluția tampon de spălare: diluați soluția concentrată de spălare (W) 1:10 în apă distilată sau demineralizată.
Îndepărtați cu atenție folia adezivă și spălați de 4 ori.

II – ADĂUGAREA CONJUGATULUI

1. Prepararea conjugatului:

Pregătiți soluția de conjugat prin diluarea conjugatului concentrat (C) 1:100 în apă de curățenie.
Adăugați 20 μl de Cula 196 în fiecare DO

2. Distribuirea conjugatului:

Adăugați 100 μl conjugat diluat în toate godeurile și acoperiți-le cu o nouă bucată de folie adezivă.

3. Incubarea conjugatului:

Incubați fie timp de 1 oră ± 5 min la + 5°C ± 3°C, fie pentru 30 min ± 5 min la + 37°C ± 3°C.

SPĂLARE:

Îndepărtați cu atenție folia adezivă și spălați de 4 ori.

III – DEZVOLTAREA CULORII

1. Adăugarea substratului:

Adăugați 100 μl de substrat tamponat cu peroxidază (SP) în fiecare godeu. Nu acoperiți cu folia adezivă în această etapă. Amestecați manual placa prin scuturare ușoară sau utilizând un agitator de placă pentru a asigura o corectă omogenizare.

2. Incubarea substratului:

30 min. ± 5 min. la temperatura din laborator (+23°C ± 5°C), protejat de lumină.

3. Adăugarea soluției de stopare:

Adăugați 50 μl soluție de stopare (S) în fiecare godeu. Agitați manual placa prin scuturare ușoară sau utilizând un agitator de placă. Asigurați-vă ca nu apar bule în godeuri.

4. Măsurarea densității optice:

Măsurați densitatea optică (DO) bicromatic la 450 și 630 nm sau monocromatic la 450 nm (în banda galbenă).
Este recomandată citirea bicromatică. Dacă va fi utilizat un cititor monocromatic, asigurați-vă de curățenia fundului fiecărui godeu înainte de citire.

VII. VALIDAREA TESTULUI

Rezultatele fiecărui test efectuat sunt valide dacă
- DO medie a matorului de control negativ (N) > 0,500 și
- procentul de competiție al matorului de control pozitiv (P) este > 80 %.
Acest procentaj poate fi calculat astfel:

$$\% \text{ Probă} = \frac{\overline{DO} N - \overline{DO} \text{ probă}}{\overline{DO} N} \times 100$$

VIII. EXPRIMAREA ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

Sunt posibile două metode de calcul și interpretare a rezultatelor:

PRIMA METODĂ: CALCULAREA PROCENTAJULUI DE COMPETITIE (% Probă)

Pentru fiecare probă:

$$\% \text{ Probă} = \frac{\overline{DO} N - \overline{DO} \text{ probă}}{\overline{DO} N - \overline{DO} P} \times 100$$

\overline{DO} : media DO pentru probele testate în duplicat

Fiecare probă un...
≥ 50 % este considerată ca fiind pozitivă
Fiecare probă de ser ce prezintă un procentaj de competiție (% Probă) < 30 % este considerată ca fiind negativă.

Fiecare pool de seruri ce prezintă un procentaj de competiție (% Probă) > 30 % este considerată ca fiind pozitivă

Fiecare pool de seruri ce prezintă un procentaj de competiție (% Probă) < 30 % este considerată ca fiind negativă.

Zona Dubioasă: Orice probă de ser individuală ce prezintă un procentaj de competiție situat în zona de la 30 până la 50 % este considerată dubioasă și trebuie retestată. Dacă o probă la re-testare este tot dubioasă, în zona gri, se recomandă re-testare pe o probă dubioasă de la același animal.

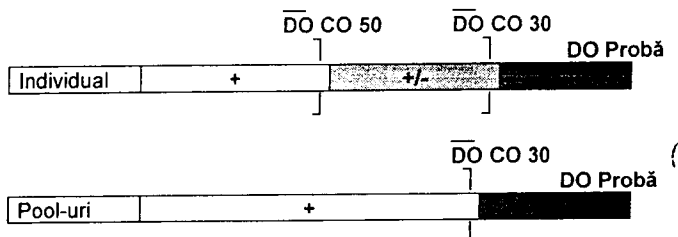
A DOUA METODA: ANALIZA DENSITĂȚILOR OPTICE

Calculați valoarea cut off a DO corespunzătoare la procentaj de competiție de 30 % și 50 % și comparați DO a fiecărei probe cu valoarea DO a cut off CO 30 și DO CO 50.

$$DO \text{ CO } 30 = 0.70 \overline{DO} N + 0.30 \overline{DO} P$$

$$DO \text{ CO } 50 = 0.50 \overline{DO} N + 0.50 \overline{DO} P$$

Interpretarea rezultatelor:



Dacă aveți întrebări, vă rugăm contactați:
ZOETIS FRANCE – Gerland Plaza –
23 rue Pierre Gilles de Gennes, 69007 LYON – France,
Tel : +33 4.72.76.11.11 - Fax : +33 4.72.76.11.10
www.zoetis.com/products-services/diagnostics

DiagnosicsTechSupport@zoetis.com

NUMAI PENTRU UZ VETERINAR/
NUMAI PENTRU UTILIZARE IN VITRO

Producător: DELPHARM BIOTECH,
2 rue Alexander Fleming,
69366, LYON Cedex 07
Franța



zoetis

Diluant pentru probe

Diagn. in-vitro

SP

Zul.Nr.K024
100 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.

zoetis

Diluant pentru conjugat

Diagn. in-vitro

DC

Zul.Nr.K070
50 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.

zoetis

(-) Control

Diag. in-vitro **N** 5 ml

Exp/:

Lot /

Zul.Nr.K 032

A se depozita la +2°C/+8°C.

zoetis

100 x Conc. Conjugat

Diag. in-vitro **CJ** 750 µl

Exp/

Lot /

Zul.-Nr.BGVV-B223

A se depozita la +2°C/+8°C.

zoetis

(+) Control

Diag. in-vitro **P** 5 ml

Exp/:

Lot/:

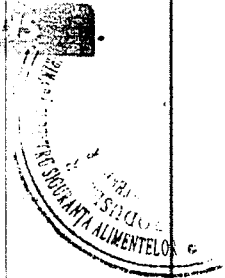
Zul.Nr.K 034

A se depozita la +2°C/+8°C.



Se depozitează la +2°C/+8°C. A nu se congela.
Pentru diagnostic in-vitro. Pentru uz veterinar.

ZOETIS



SERELISA® BLV Ab Mono Blocking (ASBLV1)

Kit pentru detecția anticorpilor anti-gp51 ai virusului leucozei bovine (BLV)
în probele de ser

384 godeuri cu o singură reacție

4

Microplacă cu 6 stripuri de 16 godeuri sensibilizate cu proteina gp51 a
Virusului Leucozei Bovine

1X200 ml

W Soluție de spălare concentrată 10x

1X100 ml

SD Diluant pentru probe

1X5 ml

N Control negativ

1X5 ml

P Control pozitiv

1X50 ml

CD Diluant pentru conjugat

1X750 µl

CJ Conjugat concentrat 100x

1X50 ml

PS Substrat tamponat cu peroxidază

1X 25 ml

S Soluție de stopare

12

Folii adezive

Lot:
Exp:

Zoetis France – Gerland Plaza – 23 rue Pierre Gilles de Gennes – 69007 LYON – FRANȚA