

SYNBIOTICS EUROPE SAS  
2, rue Alexander Fleming  
F- 69367 Lyon, Cedex 07

## SERELISA® BLV Ab Mono Indirect

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

TEHNICĂ IMUNOENZIMATICĂ INDIRECTĂ

384 godeuri cu o singură reacție

### I. PRINCIPIUL TESTULUI

Kitul indirect "SERELISA® BLV Ab Mono Indirect" utilizează o metodă imunoenzimatică indirectă ce permite detecția anticorpilor anti - glicoproteinei structurale (gp 51) a virusului leucozei bovine în probe de ser. Utilizat ca și instrument inițial de diagnostic, kitul permite un screening al pool-urilor de probe de ser. Toate rezultatele pozitive trebuie confirmate prin testare cu un kit cu godeuri duble (SERELISA® BLV Ab Bi Indirect de la Synbiotics: ASBLV2).  
Reacția este compusă din trei pași:

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

2. După o etapă de spălare se adaugă un conjugat peroxidază cu anticorpi monoclonali anti-gp 51. Se fixează la imunoglobulinele bovine (anticorpi) captați mai devreme, formând un complex:  
(Ag gp 51) - (Ac anti-gp 51) - (MAc anti-bovine IgG / 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. După stoparea reacției, se vor măsura densitățile optice. Densitățile optice corespunzătoare sunt măsurate și interpretate în funcție de valorile de cut-off obținute la martorii de control.

### 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 10X)	Diluți 1/10 în diluantul de conjugat și utilizați în max 24 h după diluție.
Substrat tamponat cu peroxidază (SP)	Gata de utilizat.
Control negativ (N)	Gata de utilizat.
Control pozitiv (P)	Gata de utilizat.
Diluant pentru probe (DP)	Gata de utilizat.
Soluție de spălare (W) (concentrată de 10X)	Diluți 1/10 în apa distilată sau demineralizată. Utilizați în max 48 h după diluție.
Diluant pentru conjugat (DC)	Gata de utilizat.
Soluție de stopare (S)	Gata de utilizat.
Filme Adezive	12 filme

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

Reference : SBLV3.NA version n°8 - 24/01/07

Version n°7 → n°8 : modification of part IV

### III. MATERIALE ȘI REAGENȚI NECESARE (NU SUNT FURNIZAȚI)

- 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 gradați (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

Calitatea rezultatelor depinde de respectarea regulilor și procedurilor bune practice de laborator (vedeți paragraful VI).

1. Nu amestecați sau asociați reagenți 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 biohazard.
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 individuale sau pool-uri de seruri (până la 10 probe de ser) diluate 1 :10. Probele trebuie păstrate după cum urmează:

Probe	Refrigerat (+ 5°C)	Conge- lat (- 20°C)	Temperatura în lab. (20°C)
Seruri individuale sau pool	max. 7 zile	Da	Nu

### VI. PROCEDURĂ

Strict conform procedurilor indicate mai jos. Utilizați controalele negativ și pozitiv în duplicat pentru fiecare testare, pentru fiecare placă.

#### A. ETAPE PRELIMINARE

1 – Setați cu atenție distribuția și identificarea martorilor și probelor.

2 – Preparați probele de ser și pool-urile (până la 10 seruri): probele de ser și pool-urile sunt testate după diluția 1:10 în diluantul pentru probe (DP). Diluția se poate face fie înainte, în tuburi de hemorază, fie direct în godeurile de testare



## B. PROCEDURA DE TESTARE

### I - DISTRIBUIREA CONTROALELOR ȘI A PROBELOR

#### 1. Distribuirea controalelor:

Controalele sunt gata de utilizare.

După agitarea flacoanelor, adăugați 100  $\mu$ l de control negativ (N) în godeurile A1 și A2 și 100  $\mu$ l de control pozitiv (P) în godeurile B1 și B2.

#### 2. Distribuirea probelor:

Plasați 100  $\mu$ l de probe de ser diluat în prealabil în fiecare godeu. Pentru diluția direct în godeu, pipetați 90  $\mu$ l de diluant de probă și 10  $\mu$ l 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 dispozitive spălătorului și cititorul să poată fi utilizate.

- Acoperiți godeurile cu film adeziv tăiat conform numărului de godeuri utilizate.

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

#### 3. Incubarea plăcii

Incubați placa 1h  $\pm$  5 min. la +37°C  $\pm$  3°C.

#### SPĂLARE:

Soluție tampon de spălare: diluați soluția concentrată de spălare (W) 1:10 în apă distilată sau demineralizată.

Cu grijă scoateți filmul adeziv de pe godeuri și spălați de 4 ori.

### II – ADĂUGAREA CONJUGATULUI

#### 1. Prepararea conjugatului:

Pregătiți soluția de conjugat prin diluarea conjugatului concentrat (CJ) 1:10 în diluant de conjugat (DC). (2 ml sunt necesari pentru un strip, adică 200  $\mu$ l de CJ la 1.8 ml de DC).

#### 2. Distribuirea conjugatului:

Adăugați 100  $\mu$ l conjugat diluat în toate godeurile și acoperiți-le cu o nouă bucată de film adeziv.

#### 3. Incubarea conjugatului:

Incubați timp de 1 oră  $\pm$  5 min. la + 37°C  $\pm$  3°C.

#### SPĂLARE:

Cu grijă scoateți filmul adeziv de pe godeuri și spălați de 4 ori.

### III – DEZVOLTAREA CULORII

#### 1. Adăugarea substratului:

Adăugați 100  $\mu$ l de substrat tamponat cu peroxidază (SP) în fiecare godeu. Nu acoperiți cu film adeziv în această etapă. Amestecați manual placa prin agitare ușoară sau utilizând un agitator de placă pentru a asigura o corectă omogenizare.

#### 2. Incubarea substratului:

30 min.  $\pm$  5 min. la temperatura din laborator (+20°C  $\pm$  5°C), protejat de lumină.

#### 3. Adăugarea soluției de stopare:

Adăugați 50  $\mu$ l soluție de stopare (S) în fiecare godeu. Amestecați manual placa prin agitare ușoară sau utilizând un agitator de placă. Asigurați-vă că nu apar bule în godeuri.

#### 4. Măsurarea densității optice:

Măsurati densitatea optică (DO) bicromatic la 450 și 630 nm sau monocromatic la 450 nm (în banda galbenă).

Este foarte recomandată citirea bicromatică. Dacă va fi utilizat un cititor monocromatic, asigurați-vă de curățenia fundului la fiecare godeu înainte de citire.

## VII. VALIDAREA TESTULUI

Rezultatele fiecărui test efectuat sunt valide dacă:  
DO a controlului pozitiv (P) este  $\geq$  0.300 și

DO a controlului negativ (N) este  $<$  0.50 x DO P.

## VIII. EXPRIMAREA ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

Prezența anticorpilor anti gp 51 a virusului febrei tifoide este determinată de densitățile optice (DO). Aceste DO sunt comparate cu valorile de cut off.

Sunt posibile două metode de calcul și interpretare a rezultatelor:

#### Metoda 1: CALCULAREA INDEXULUI:

Calculați valorile cut off la index:

Pentru pool-uri de seruri: cut off: - 0.125 x (DO P)

Pentru seruri individuale: - valoare cut off pozitiv: 0

- valoare cut off negativ: -0.125 x (DO P)

Calculați indexul pentru fiecare probă testată după cum urmează:

Index probă = 0.5 x (DO Probă - DO P)

DO: media DO pentru probele testate în duplicat.

#### Pool-uri:

Orice pool de probe ce prezintă un index  $\geq$  -0.125 x DO P este considerată pozitivă.

Orice pool de probe ce prezintă un index  $<$  -0.125 x DO P este considerată negativă.

#### Seruri individuale:

Orice probă de ser ce prezintă un index  $\geq$  0 este considerată pozitivă.

Orice probă de ser ce prezintă un index  $<$  -0.125 x DO P este considerată negativă.

Orice probă de ser ce prezintă un index între -0.125 x DO P și 0 este considerată dubioasă.

#### Metoda 2: ANALIZA DENSITĂȚILOR OPTICE

Calculați valoarea cut off la DO corespunzătoare la:

0.75 x (DO P) [cut off pozitiv pentru pool-uri și cut off negativ pentru probe individuale] și (DO P) [valori cut off pozitiv pentru probe individuale].

Comparați fiecare DO la aceste valori de cut-off.

Notă: Recomandăm confirmarea rezultatelor pozitive utilizând SERELISA® BLV Ab Bi Indirect (Synbiotics Ref. : ASBLV2).

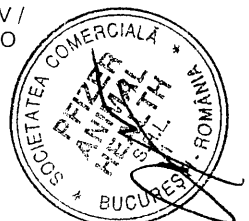
#### Interpretarea rezultatelor:

	$0.75 \times \overline{DO} P$	$\overline{DO} P$	DO probă
Seruri individuale	-	+/-	+

	$0.75 \times \overline{DO} P$	DO probă
Pool-uri de seruri	-	+

Dacă aveți întrebări, contactați vă rog :  
SYNBIOTICS EUROPE - 2 rue Alexander Fleming  
69367 LYON Cedex 07 – France  
Tel : +33 4.72.76.11.11 - Fax : +33 4.72.76.11.10  
www.synbiotics.fr info@synbiotics.fr

DE UZ VETERINAR EXCLUSIV /  
PENTRU UTILIZARE IN VITRO



A se depozita la +2°C/+8°C. A nu se congela.

Pentru diagnostic in-vitro. Pentru uz veterinar.

**Serelisa<sup>®</sup> BLV Ab Mono Indirect (ASBLV3)**

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

384 godeuri cu o singură reacție

Microplacă cu 6 stripuri de 16 godeuri sensibilizate cu proteina gp51 a Virusului Leucozei Bovine **4**

<b>W</b>	Soluție de spălare concentrație 10x	<b>1X200 ml</b>
<b>DP</b>	Diluant pentru probe	<b>1X 100 ml</b>
<b>N</b>	Martor de control negativ	<b>1X 5 ml</b>
<b>P</b>	Martor de control pozitiv	<b>1X 5 ml</b>
<b>DC</b>	Diluant pentru conjugat	<b>1X 50 ml</b>
<b>CJ</b>	Conjugat concentrat	<b>1X 5 ml</b>
<b>SP</b>	Substrat tamponat cu peroxidază	<b>1X 50 ml</b>
<b>S</b>	Soluție de stopare	<b>1X 25 ml</b>
	Filme adezive	<b>12</b>



## Etichete pentru componente



SERELISA<sup>®</sup> BLV

Ab Mono Indirect

Zul.-Nr.BGVV-B225

1 microplacă cu 6 strip-uri de 16 godeuri

A se depozita la +2°C/+8°C.

**Lot/:**

**Exp/**

Diag. in-vitro



Soluție de spălare concentrată X 10

Zul.Nr.K 020

Diag. in-vitro

**W**

200 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.

**Lot/:**

**Exp/**



Diluant pentru conjugat

Zul.Nr.K022

Diagn. in-vitro **DC** 50 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.

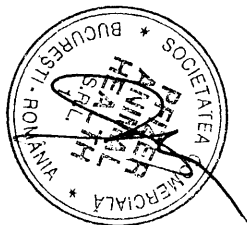


Diluant pentru probe

Zul.Nr.K025

Diagn. in-vitro **DP** 100ml

A se depozita la +2°C/+8°C.





SYNBOTICS

Substrat tamponat de peroxidază

Zul.Nr.K 028

Diagn. in-vitro **SP** 50 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.



SYNBOTICS

Soluție de stopare

Zul.Nr.K 021

R35 | Diagn. in-vitro **S** 25 ml

S26

S30

A se depozita la +2°C/+8°C.

MAI SIGUR, PENTRU SI PENTRU SIGUR



(-) Martor de control

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

Exp/  
Lot /

A se depozita la +2°C/+8°C.



SERELISA BLV  
Ab Mono Indirect

Conjugat

Diagn. in-vitro **CJ** 5 ml

Exp/  
Lot /

A se depozita la +2°C/+8°C.



(+) Martor de control

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

Exp/  
Lot/:

A se depozita la +2°C/+8°C.

