



INGEZIM West Nile COMPAC

Prod Ref: 10.WNV.K3

Ensayo inmunoenzimático de bloqueo para la detección de anticuerpos específicos del West Nile Virus.

Blocking immunoenzymatic assay for the specific detection of antibodies to West Nile Virus

Última revisión / Last revisión: **11-06-10**
Registrado por el MAAMA nº 1815 RD

KIT COMPOSITION

REAGENTI	2 Plates	
	Unit	vol
96 well microtitration plates. Placi de microtitrare cu 96 de godeuri	2	-
Vials containing Positive Control for WNV ready to use Flacon Control Pozitiv WNV gata pentru utilizare	1	1.25 ml
Vials containing Negative Control for WNV ready to use Flacon Control Negativ WNV gata pentru utilizare	1	1.25 ml
Vials containing Conjugate specific ready to use Falcon Conjugat specific gata pentru utilizare	1	15 ml
Bottles with washing solution 25x concentrated Sticla Solutie Spalare 25X concentratie	1	125 ml
Bottles containing diluent (DE10-01) Sticla diluant (DE10-01)	1	125 ml
Bottles containig substrate (TMB) ready to use Sticla substrat (TMB) gata pentru utilizare	1	30 ml
Bottles containing stoping solution Sticla Solutie Stop	1	60 ml

ALTE MATERIALE NECESARE DAR UN SUNT FURNIZARE IN KIT:

Apa distilata si deionizata
Micropipete de la 5 la 200 µl.
Varfuri de unica folosinta pentru micropipete
Dispozitiv pentru spalarea placilor.
Eprubete 50-250ml
Cititor ELISA (450 nm)

Distilled or deionised water.
Micropipettes from 5 to 200 µl. Disposable micropipette tips. Washing plates device.
Test tubes from 50 to 250 ml ELISA Reader (450 nm filter)



I. BAZA TEHNICA

Kit-ul a fost conceput pentru a detecta anticorpi specifici pentru virusul West Nile. Kit-ul este capabil să detecteze un titru foarte scăzut de anticorpi în serurile diferitelor specii de animale infectate (păsări, cai, oameni etc.).

Kit-ul INGEZIM West Nile COMPAC se bazează pe metoda imunoenzimă de blocare descrisa mai jos:

Plăcile sunt acoperite cu antigen viral inactivat. După adăugarea probei în godeu, dacă aceasta conține anticorpi specifici împotriva WNV, aceștia se vor lega de antigenul absorbit pe placă, în timp ce, dacă proba nu conține anticorpi specifici, nu se vor lega de antigen.

Dacă adăugăm un anticorp monoclonal specific (conjugat cu peroxidază) împotriva ectodomeniului glicoproteinei E a WNV, acesta va concura cu anticorpii serului. Dacă probele de ser conțin anticorpi specifici, aceștia nu vor permite legarea Mab-ului marcat la antigen, în timp ce dacă nu conține anticorpi specifici, Mab se va lega de antigenul de pe placă. După spălarea plăcii pentru a elimina tot materialul nefixat, putem detecta prezența sau absența Mab marcat prin adăugarea de substrat (TMB) care în prezența peroxidazei va dezvolta o reacție colorimetrică.

II. PRECAUȚII ȘI AVERTIZĂRI PENTRU UTILIZATORI:

1. Citiți atent instrucțiunea de lucru.
2. Aduceți reagenții la temperatură camerei (20°-25°C) înainte de lucru.
3. Nu amestecați instrucțiuni sau reactivi din diferite kituri.
4. Evitați orice contaminare a reactivilor kitului.
5. Nu utilizați componente după datele de expirare și nu amestecați componente din loturi diferite.
6. Nu ar trebui să se mănânce, să se bea sau să se fumeze acolo unde se manipulează specișenele sau reactivii trusa
7. Nu pipetați pe gura.
8. Folosiți un varf nou pentru fiecare probă de ser.
9. Soluția de stopare este o soluție acidă puternică care trebuie utilizată cu precauție. În caz de contact accidental cu pielea, spălați ușor cu apă.
10. Pentru fiecare utilizare a kitului, serul de control pozitiv și negativ trebuie testat într-un mod sistematic.
11. Substratul trebuie să fie manipulat cu grijă, este foarte sensibil la lumină și contaminare.

III. CONDIȚIILE DE PASTRARE

Toti reagenții și plăcile trebuie păstrate la +2°C +8°C.

IV. INFORMATIA DESPRE ETAPELE DE SPALARE

Etapele de spălare ar putea fi efectuate folosind o mașină de spălat automată sau un dispozitiv de pipetare multicanal adecvat pentru distribuirea a 300 μl pe fiecare godeu.

După perioadele de incubație, etapele de spălare trebuie efectuate urmând următoarele instrucțiuni:

- Aruncați conținutul plăcii printr-o răsturnare bruscă a plăcii pentru a evita posibila amestec al conținutului dintr-un godeu în altul.
- Distribuți un volum de 300 μl de soluție de spălare pe fiecare godeu.
- Agitați delicat placa, evitând contaminarea dintre godeuri.
- Întoarceți brusc placa pentru a goli godeurile.
- Repetați procesul de câte ori este indicat în instrucțiunile trusei.
- Înainte de a goli conținutul ultimei etape de spălare, verificați dacă următorul reactiv care trebuie adăugat pe placă este gata de utilizare. Nu mențineți placa uscată mai mult decât este strict necesar.
- După ultima etapă de spălare se agită placa răsturnată peste o hârtie de filtru absorbantă.

V. PREPARAREA PROBELOR:

Probele de ser trebuie testate la 1/5 diluție. Această diluție ar putea fi făcută direct pe placa de analiză prin adăugarea a 40 μ l de diluant și 10 μ l de probă în fiecare godeu. Se agita ușor placa pentru a omogeniza diluția în godeu.

VI. PREPARAREA REAGENTILOR

• **SOLUȚIA DE SPALARE:**

- Se diluează o parte din soluția de spălare concentrată furnizată în kit cu 24 de părți de apă distilată sau deionizată (40 ml de soluție concentrată în 960 ml de apă distilată sau deionizată). Odată gata, această soluție rămâne stabilă între +2°C și +8°C.

- Serurile de control:** Sunt furnizate gata pentru utilizare.

NU DILUAȚI.

Pregătirea conjugatului: Conjugatul este gata pentru utilizare și se pipetează adăugând 50 μ l/godeu.

NU DILUAȚI.

VII. PROCEDURA DE TESTARE

- Toti reagentii se aduc la temperatura camerei înainte de utilizare.
- Adăugați probe așa cum este indicat la punctul V. Adăugați 50 μ l de controale în godeuri duplicate. Amestecați ușor conținutul godeurilor, sigilați placa și **incubați peste noapte (16 – 24 ore) la temperatura camerei (20-25°C)**.
- Sapalați de 3 ori urmând procedura de spălare.
- Adăugați 50 μ l de conjugat în fiecare godeu. Sigilați placa și incubați timp de **1 ora la temperatura camerei (20-25°C)**.
- Sapalați de 5 ori urmând procedura de spălare.
- Adăugați 50 μ l de substrat în fiecare godeu. Lasați placa timp de **15 min la temperatura camerei**.
- Adăugați 50 μ l soluție stop în fiecare godeu.
- Citiți valoarea OD a fiecărui godeu la 450 nm în 5 min după adăugarea soluției stop.

VIII. CITIREA ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

În cazul în care probele au fost lucrate în paralel, trebuie considerat media ambelor valori OD. În același mod, trebuie să faceți media valorilor obținute în cele două godeuri de control pozitiv și cele două godeuri de control negativ.

A. VALIDAREA REZULTATELOR

- Valoarea OD în godeurile cu control Negativ (NC) trebuie să fie mai mare de 0.8.
- Valoarea OD în godeurile cu control Pozitiv (PC) trebuie să fie mai mică de 0.35.

B. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Calculați procentul de inhibiție (IP) pentru fiecare proba precum este dat:

IP mostrei: $100 - [(proba\ OD / NC\ OD) \times 100]$

Probele sunt considerate **POZITIVE** (conțin anticorpi specifici WNW), când IP este $\geq 40\%$

Probele sunt considerate **NEGATIVE** (nu conțin anticorpi specifici WNW) când IP este $\leq 30\%$

Probele cu IP între 30 și 40% trebuie considerate **SUSPECTE și retestate prin seroneutralizare (SN)**.

INMUNOLOGIA Y GENETICA APLICADA, S.A.
C/ Hnos. García Noblejas, 39
28037- MADRID (SPAIN)
Tlf: +34 91368.05.01/04
Fax: +34 91 408.75.98
E-mail: ingenasa@ingenasa.com
www.ingenasa.es



IT-73840 ISO 14001:2004 ISO 9001:2008
IT-73780 9191.INGE 9175.ING2

Distributed in

by: