



INGEZIM BLV CONFIRMATION

Prod Ref: 12.BLV.K1

Kit pentru pentru detectarea de anticorpi împotriva
virusului leucemiei enzootice bovine (BLV) în ser bovin
prin metoda imunoenzimatică indirectă

Ultima reviziune: 01-14



COMPONENȚA KITULUI

REAGENȚI

	Unități	Volum
Plăci de microtitrare cu 96 de godeuri împărțite în benzi (12 x 8) acoperite cu antigen viral pozitiv.	5	
Plăci de microtitrare cu 96 de godeuri împărțite în benzi de culoare roșie (12 x 8) acoperit cu antigen negativ	5	
Flacon cu Ser de control pozitiv, gata de utilizare	1	8 ml
Flacon cu Ser de control negativ, gata de utilizare	1	8 ml
Flacon cu Conjugat 100x concentrat (MAb anti-IgG bovin peroxidază conjugată)	1	1,3 ml
Sticlă cu Soluția de spălare 25x concentrată	1	250 ml
Sticlă cu Diluent (DE14-01)	2	250 ml
Sticlă cu Soluția Substrat (TMB) gata de utilizare	1	120 ml
Sticlă cu Soluția de stopare (acid sulfuric)	1	120 ml

ALTE MATERIALE SI REAGENTI NECESARI CE NU SUNT FURNIZATI IN KIT

Apa distilata sau deionizata
Micropipeta cu volum variabil 5-200
Varfuri de pipeta de unica folosinta
Aparat pentru spalarea placilor
Tuburi de testare 50 – 250 ml
Cititor ELISA (cu filtru 450 nm)



I. BAZA TEHNICĂ

Acest kit se bazează pe o imunoanaliză enzimatică indirectă (ELISA indirectă). Tehnica este descrisă pe scurt mai jos:

Fixăm antigeni pozitivi și negativi pe diferite plăci. Când o probă de ser conține anticorpi specifici împotriva virusului, aceștia se vor lega de antigenul viral adsorbit pe placă. După o etapă de spălare pentru a elimina tot materialul ne fixat din proba de ser, prezența imunoglobulinelor bovine poate fi

detectat folosind o peroxidază conjugată specifică. După adăugarea substratului va apărea o reacție colorimetrică care poate fi măsurată de un cititor ELISA.

Astfel, diferența dintre DO obținută cu antigenul pozitiv și negativ va determina prezența sau absența anticorpilor specifici împotriva virusului în serul bovin.

II. PRECAUȚII ȘI AVERTISMENTE PENTRU UTILIZATORI:

1. Citiți cu atenție instrucțiunile de utilizare.
2. Aduceți toți reactivii la temperatura camerei (20°-25°C) înainte de utilizare.
3. Nu amestecați reactivi și nu folosiți instrucțiuni din diferite kituri.
4. Evitați orice contaminare a reactivilor kitului.
5. Nu utilizați componente după date de expirare și nu amestecați componente din loturi diferite.
6. Nu trebuie să se mănânce, să bea sau să fumeze în timpul manipulării reactivilor sau probelor.
7. Nu pipetați cu gura.
8. Folosiți un varf nou pentru fiecare probă de ser.
9. Includeți în mod sistematic un control pozitiv și un ser negativ la fiecare testare.
10. Substratul trebuie manipulat cu grijă, deoarece este foarte sensibil la lumină și contaminare.
11. Soluția de stopare este o soluție acidă puternică și, prin urmare, trebuie manipulată cu grijă. În caz de contact accidental cu pielea, spălați ușor cu apă.

III. Condițiile de păstrare

Toți reactivii și plăcile trebuie păstrate între + 2 ° C și + 8 ° C

IV. INFORMAȚII DESPRE PROCEDURA DE SPĂLARE

Etapale de spălare se pot face folosind o mașină de spălare automată sau un dispozitiv de pipetare multicanal adecvat pentru distribuirea a 300 μl pe fiecare godeu.

După perioadele de incubație, etapele de spălare trebuie făcute urmând instrucțiunile următoare:

- Aruncați conținutul plăcii printr-o răscuire bruscă a plăcii pentru a evita posibilul 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 plăcuța brusc pentru a goli godeurile.
- Repetați procesul de câte ori este indicat în instrucțiunile kitului.
- 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 timp decât este strict necesar.
- După ultima etapă de spălare, răsturnați placa rotită peste o hârtie de filtru absorbantă și loviți-o ușor.

V. PREGATIREA PROBELOR:

Diluati probele la 1/50 într-o placă goală (adică 5 μl de ser în 245 μl de diluant este suficient pentru a rula o probă într-un godeu cu antigen viral și într-un alt godeu cu antigen de control).



VI. PREGĂTIREA REAGENȚILOR

Soluția de spălare:

Diluati o parte din soluția de spălare concentrată furnizată în kit cu 24 de părți de apă distilată sau apă deionizată (40 ml soluție concentrată și 960 ml apă). Odată pregătită această soluție rămâne stabilă atunci când se păstrează la + 4°C

Conjugat:

Se diluează 1/100 în diluant conjugatul prevăzut în kit (110 µL de conjugat concentrat în 11 ml de diluent, ce este suficient pentru o singură placă).

Ser de control (+) și (-):

Controalele sunt gata pentru utilizare și nu se diluiază.

VII. PROCEDURA DE TESTARE

- Înainte de începerea testului, aduceți toți reactivii la temperatura camerei (22-25 °C).
- Adăugați 100 µl din probele de ser diluate așa cum s-a descris anterior pe antigenele pozitive și negative. Sigilați bine placa și incubați timp de **30 de minute la 37°C**.
- Se spală de 3 ori urmând procedura descrisă anterior.
- Adăugați 100 µL de conjugat la diluarea indicată, în fiecare godeu.
- Sigilați placa și incubați timp de **30 de minute la 37°C**.
- Se spală de 6 ori urmând procedura descrisă.
- Adăugați 100 µL din soluția de substrat. Păstrați placa timp de 10 minute la temperatura camerei. Începeți sincronizarea după ce ați adăugat-o în primul godeu.
- Adăugați 100 µL din soluția stop, la fiecare godeu în aceeași ordine în care s-a adăugat substratul.
- Citiți absorbanta fiecărei godeuri cu un spectrofotometru la **450 nm** în următoarele 5 minute după adăugarea soluției stop.

VIII. CITIREA ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

Citirea trebuie făcută cu un spectrofotometru la **450 nm**.

DO obținută cu antigenul negativ trebuie scăzută din DO obținută cu antigenul pozitiv (proba și controalele)

A. Creterile de Validare:

Testul se consideră valid în caz de:

Control Pozitiv: DO POZ Ag – DO NEG Ag > 0,3

Control Negativ: DO POZ Ag – DO NEG Ag < 0,2

B. Interpretarea Rezultatelor:

• Probele Pozitive și Negative

Probele se consideră Pozitive la BLV când:

DO POZ Ag – DO NEG Ag > 0,3

Probele se consideră Negative la LEB când:

DO POZ Ag – DO NEG Ag < 0,25

• Probele Suspicioase:

Probele care prezintă valori cuprinse între 0,30 și 0,25 („Zona gri”) ar trebui considerate suspicioase și reevaluate. Dacă rezultatul rămâne același, vă recomandăm să testați o nouă extracție obținută la 15 zile după prima.

Dezvoltat și fabricat în Spania de:

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.com



Distributed in
Republic of Moldova

by