

PROSPECTUL PRODUSULUI

LEBCONTROL

Set de diagnostic serologic al leucozei enzootice bovine
prin testul de imunodifuzie în gel de agar

1. NUMELE ȘI ADRESA DEȚINĂTORULUI AUTORIZAȚIEI DE COMERCIALIZARE ȘI A DEȚINĂTORULUI AUTORIZAȚIEI DE FABRICARE, RESPONSABIL PENTRU ELIBERAREA SERIILOR DE PRODUS

ROMVAC COMPANY S.A.

Sos. Centurii nr. 7, 077190 Voluntari, Jud. Ilfov

E-mail: romvac@romvac.ro;

Telefon: 021.350 31 06; 021.350 31 07;

21.350 09; 021.352 00 70;

Fax: 021.350 31 10; 021.352 75 84;

Fax Livrări: 021.350 31 11

Website: www.romvac.ro

2. DENUMIREA COMERCIALĂ A SETULUI DE DIAGNOSTIC

LEBCONTROL - Set de diagnostic serologic al leucozei enzootice bovine prin testul de imunodifuzie în gel de agar.

3. INDICAȚII

Setul LEBCONTROL se folosește doar *in vitro*, fiind destinat Laboratoarelor Sanitare-Veterinare pentru diagnosticului de laborator al infecției cu virusul leucozei enzootice bovine (VLEB) prin testul de imunodifuzie în gel de agar.

LEBCONTROL este un produs constituit din reagenți specifici -antigen (AG-LEB), ser pozitiv (SP-LEB) și diluant, în volum corespunzător dozajului.

4. CONTRAINDICAȚII

Nu este cazul.

5. FIECARE SET DE DIAGNOSTIC CONȚINE:

- **Antigen LEB** (glicoproteină virală internă - 51, obținută prin prelucrarea culturii celulare NBL-12 ce conține VLEB) – liofilizat, standardizat la serul de referință OIE-E05.

- **Ser pozitiv LEB** (ser ce conține anticorpi precipitanți față de virusul LEB)- liofiliozat

În flacoanele de liofilizare se repartizează 1,0-3,0 ml antigen (AG- LEB), 2,6-7,2 ml ser pozitiv (SP-LEB).

- **Diluantul** - reprezentat de apă deionizată sau bidistilată sterilă, cu pH 6,0-8,0.

Flacoanele cu diluant conțin 4,0-11,0 ml, corespunzător dozajului componentelor liofilizate.

6. FORMA DE PREZENTARE

- Ag-LEB - peletă liofilizată compactă sau ușor poroasă, de culoare alb-gălbuie.

- SP-LEB - peletă liofilizată compactă de culoare brun-roșietică.

- Diluantul - lichid incolor, transparent.

Setul LEBCONTROL conține: 100, 150, 200, 250 și 300 de doze.

7. MATERIALE SUPLIMENTARE NECESARE UTILIZĂRII SETULUI

- Plăci Petri din plastic cu diametrul 85 mm

- Matriță ce decupează godeul central cu diametrul de 6 mm și cele șase godeuri periferice, cu diametru de 6 mm

- Baie Marie (56°C)

- Micropipete cu vârful (20-100 µl)

- Cilindru gradat



8. PRINCIPIUL METODEI:

Setul LEBCONTROL este utilizat în laboratoarele specializate pentru diagnosticul leucozei enzootice bovine prin reacția de imunodifuzie în gel de agar. Principiul metodei se bazează pe reacția de precipitare (linie de precipitare în gel de agar) între virusul leucozei bovine conținut în antigenul LEB și anticorpii precipitanți prezenți în serul pozitiv sau în serul de testat provenit de la bovine suspecionate de leucoză enzootică bovină.

9. MODUL DE A UTILIZARE AL SETULUI „LEBCONTROL” ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

MODUL DE UTILIZARE A SETULUI „LEBCONTROL”

Prepararea gelului de agar

Prepararea gelului de agar în care se execută reacția de imunodifuzie se efectuează în tampon TRIS, după următoarea rețetă:

Prepararea tamponului TRIS: la 6,057 g TRIS se adaugă apă distilată până la 250 ml. La soluția obținută se adaugă 44,2 ml HCl 1N și apoi 85 g NaCl, după care se aduce la 1 litru cu apă distilată. Tamponul TRIS preparat va avea $\text{pH} = 7,2$. La 1 litru tampon preparat se adaugă 9 g agar Noble, după care se fierbe amestecul la baie Marie până la completa dizolvare a agarului. Agarul astfel preparat se repartizează în flacoane prevăzute cu dopuri și capse etanșe, se sterilizează și poate fi conservat la 4°C maximum 30 de zile.

Pregătirea plăcilor cu agar

Testul de imunodifuzie se execută în plăci Petri cu diametrul de 85 mm, în care se repartizează, după fluidifiere la cald, 15 ml agar preparat în tampon TRIS. Plăcile se lasă cu capacul întredeschis, pe o suprafață orizontală, aproximativ o oră pentru solidificare. Stratul de agar are o grosime de 2,6 mm. În agarul solidificat se decupează godeuri cu ajutorul matriței care execută godeuri de 6 mm, cu distanța între godeuri de 3 mm. Godeul central va avea 6 mm.

Se îndepărtează rondelele de agar din fiecare godeu cu ajutorul unei pipete Pasteur racordată la o pompă de vid. După scoaterea rondelelor, plăcile se lasă la temperatura camerei cel puțin 30 minute și apoi se aspiră lichidul de condens format în godeuri. Plăcile pregătite cu godeuri vor fi folosite în aceeași zi în care au fost prelucrate.

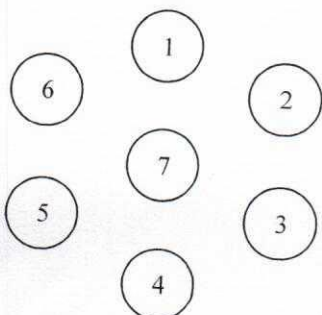
Modul de executare al testului de imunodifuzie în gel de agar (conf. O.I.E. Manual de Diagnostic Tests Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees), Fifth Edition, 2008).

Antigenul este plasat în godeul central și serul pozitiv, alternativ, în godeurile 1 și 4 periferice. Probele de ser de testat sunt plasate în celelalte 4 godeuri (fig. 1). Volumul reagenților este de $40\ \mu\text{l}$ /godeul central (antigen) și de $40\ \mu\text{l}$ godeurile periferice.

Plăcile sunt menținute la temperatura camerei ($20\text{--}25^{\circ}\text{C}$) în atmosferă umedă.

După 24–48 ore reacțiile de precipitare sunt examinate sub un fascicul îngust, intens oblic de lumină, contra unui fond negru. Liniile de referință trebuie să fie clar vizibile la 24 ore și orice ser de testat care este puternic pozitiv trebuie să formeze linii de identitate ca cele între reagenții standard. O reacție slab pozitivă apare după 48 ore și este indicată printr-o ușoară curbare a liniei de precipitare, între godeul cu antigen și cel cu ser de testat. Serurile cu un titru înalt de anticorpi precipitanți pot forma linii de precipitare mai largi care tind să fie difuze. Aceste reacții pot fi confirmate ca specifice pentru LEB prin diluarea serurilor, $1/2$ sau $1/4$ înaintea retestării; acestea vor da o linie de precipitare mai distinctă. Serurile lipsite de anticorpi contra virusului LEB nu vor forma linii de precipitare și nu vor avea nici un efect asupra liniilor de reacție a reagenților standard.

FIG. 1



1, 4 – Sp-LEB
2, 3, 5, 6 – Seruri de testat
7 – Ag-LEB

INTERPRETAREA TESTULUI DE IMUNODIFUZIUNE ÎN GEL DE AGAR (fig. 2)

Citirea reacției se face la 24 de ore și la 48 de ore, iar interpretarea la 72 ore de la executare.

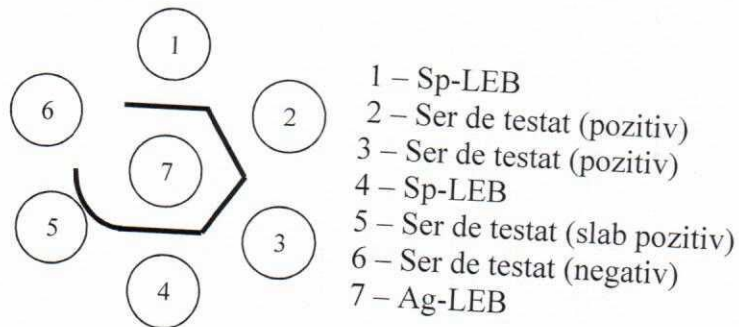
Se recomandă citirea reacției la o sursă de lumină laterală și pe un fond întunecat.

Se consideră reacție pozitivă (fig.2) când între godeul cu antigen LEB și godeul cu ser de testat apare o linie de precipitare clară la jumătatea distanței dintre godeuri, linie ce se unește cu linia de precipitare a serului pozitiv LEB (godeul nr. 2 și nr. 3).

Se consideră reacție slab pozitivă (fig.2) când între godeul cu antigen LEB și godeul cu ser de testat apare o linie de precipitare tangentă la godeul cu ser de testat, unindu-se cu linia de precipitare a serului pozitiv LEB (godeul nr. 5).

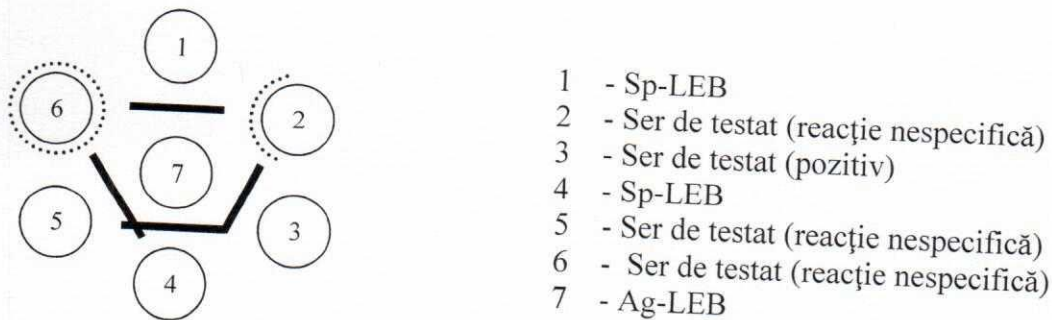
Se consideră reacție negativă (fig. 2) atunci când între godeul cu antigen LEB și godeul cu ser de testat nu apar linii de precipitare (godeul nr. 6).

FIG. 2



Se consideră reacție nespecifică (fig. 3), când între godeul cu antigen și godeul cu ser de testat apare o linie de precipitare care se întretaie cu linia de precipitare a serului pozitiv LEB (godeul nr. 5) sau când apar linii de precipitare difuze, scurte (godeul nr. 2) sau cu halouri (godeul nr. 6), care nu se unesc cu liniile de precipitare date de serul pozitiv LEB.

FIG. 3



10. PRECAUȚII SPECIALE PENTRU DEPOZITARE

Componentele liofilizate (Ag-LEB, Sp-LEB) și diluantul se conservă la 2-8°C, ferit de lumină, atât la beneficiar, cât și pe timpul transportului (lăzi izoterme sau mașini frigorifice).

După rehidratare, componentele setului LEBCONTROL se păstrează la 2-8°C, timp de 7 zile.

A nu se congela.

A nu se utiliza după data de expirare inscripționată pe etichetă.

11. ATENȚIONĂRI SPECIALE

LEBCONTROL se utilizează cu respectarea măsurilor de protecție a persoanei și a mediului.

Nu se folosesc reagenți expirați sau componente ale altor seturi.

12. PRECAUȚII SPECIALE PENTRU ELIMINAREA PRODUSULUI NEUTILIZAT SAU DEȘEURILOR

Pentru protecția mediului, flacoanele cu produs rămas neutilizat, flacoanele goale sau alte deșeuri sunt tratate cu un dezinfectant adecvat, neutralizate prin fierbere sau ardere și nu trebuie aruncate în ape reziduale sau la resturi menajere, ci în locuri special amenajate.

13. MOD DE PREZENTARE

Setul LEBCONTROL utilizat în testul ID, conține:

PRODUS	ID	
	ml	doze
ANTIGEN LEB	1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0	100, 150, 200, 250, 300
SER POZITIV LEB	2,4; 3,6; 4,8; 6,0; 7,2.	
DILUANT	4,0; 7,0; 8,0; 9,0; 11,0	

14. VALABILITATE

Setul LEBCONTROL are o valabilitate de 24 luni de la data condiționării.

15. ULTIMA REVIZIE A PROSPECTULUI

Ianuarie 2012.

16. ALTE INFORMAȚII

Pentru orice informații referitoare la acest produs veterinar, imunologic, de diagnostic, vă rugăm să contactați reprezentantul local al deținătorului autorizației de comercializare.

Rugăm a însoți orice reclamație cu numărul de serie înscris pe flacon sau pe etichetă.