



**Antigen brucelic pentru Testul de  
fixare a complementului**

Pourquier\* CFT Brucellosis Ag

Test with confidence\*

**IDEXX**



# Antigen Brucelic pentru Testul de fixare a complementului

De uz veterinar exclusiv

## Denumire și utilizare

Pourquier\* CFT Brucellosis Ag este Antigenul Brucelic al firmei IDEXX pentru diagnosticul brucelozei prin reacția de fixare a complementului.

## Descriere și principiu

Pourquier\* CFT Brucellosis Ag utilizează principiul tehnicii reacției de fixare a complementului. Antigenul pentru reacția de fixare a complementului este o suspensie concentrată de *Brucella abortus* (tulpina S99-Weybridge) inactivată prin încălzire și fenol. Reacția de fixare a complementului este una din cele mai sensibile metode de diagnostic a Brucelozei. Se utilizează o metodă de fixare la rece a tipului dezvoltat de Kolmer. Acest antigen permite diagnosticul serologic al brucelozelor (*Brucella melitensis, abortus, suis*). Acest antigen este standardizat să dea 50% fixare cu o diluție finală de 1:200 a serului standard internațional *Brucella abortus* (OIEISS).

Pourquier\* CFT Brucellosis Ag a fost dezvoltat în concordanță cu standardul francez AFNOR U47-004 (detecția anticorpilor anti-bruceloze prin reacția de fixare a complementului, apr. 2009) și cu aplicarea regulamentelor OIE și Europene.

Reagenți	Volum
Antigen brucelic pentru reacția de fixare a complementului (concentrat)	100ml

**Notă** : vezi tabelul de la sfârșitul prospectului pentru descrierea simbolurilor utilizate în prospectul și tabelele din acest kit.

## Depozitare

Depozitați toți reagenții protejați de lumină la 2-8°C. **Nu congelați.** Reagenții sunt stabili până la data de expirare cu asigurarea condițiilor adecvate de depozitare.

## Materiale necesare dar nefurnizate

- Tampon Veronal (disponibil de la IDEXX)
- Control pozitiv (disponibil de la IDEXX)
- Complement liofilizat
- Hematii de oaie la 50%
- Ser hemolitic standardizat
- Plăci pentru dispensarea reagenților și probelor
- Micropipete de precizie mono și multicanal
- Vârfuri de micropipete
- Agitator de plăci
- Incubator capabil să mențină temperatura de +37°C (± 3°C)
- Baie de apă

## Precauții și avertismente

- Manipulați toate materialele biologice ca potențial infecțioase



- Purtați mănuși de protecție/ haine de protecție/ protecție pentru față sau ochi când manipulați probele și reagenții.
- Consultați Fișa Tehnică de Securitate pentru informații aditionale

#### Practica de laborator

- Rezultate optime vor fi obținute prin respectarea strictă a acestui protocol. Pipetați cu grijă, cronometrați și spălați astfel încât să mențineți acuratețea și precizia.
- Toate deșeurile trebuie decontaminate corespunzător înainte de eliminare. Eliminați conținutul conform legislației locale, regionale și naționale.
- Evitați contaminarea componentelor kitului și nu puneți reagenții nefolosiți înapoi în flacon
- Nu utilizați componentele după data lor de expirare

#### Prepararea reagenților

##### Diluarea complementului

Reconstituiți complementul liofilizat cu solventul așa cum este indicat. Diluați la 1:100 cu tampon Veronal.

##### Diluția tamponului Veronal

Tamponul Veronal trebuie diluat 1:5 cu apă distilată

##### Antigenul brucelic pentru Reacția de fixare a complementului

Antigenul brucelic concentrat trebuie diluat chiar înainte de utilizare în ser fiziologic (8,5g/l), sau mai bine cu tampon Veronal diluat, conform concentrației indicate pe flaconul de antigen.

##### Titrarea complementului (în tuburi)

Pipetați complement reconstituit „C” diluat 1:100 (vezi mai jos), tamponul Veronal diluat („Vb”), antigenul brucelic diluat („Ag”) și cuplul hemolitic („Hc”), conform cu tabelul următor:

Tub ID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	H0	H100
C(ml)	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,10	0,11	0,12	0,13	0,14	0,15	0,16	0	0,40
Vb(ml)	0,36	0,35	0,34	0,33	0,32	0,31	0,30	0,29	0,28	0,27	0,26	0,25	0,24	0,40	0
Ag(ml)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Agitați tuburile - puneți-le într-o baie de apă la 37°C (± 3°C) timp de 30 min. (±2min)															
Hc(ml)	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Agitați tuburile - puneți-le într-o baie de apă la 37°C (± 3°C) timp de 30 min. (±2min)															

##### Hematii de oaie 2,5%

Amestecați 0,5ml hematii de oaie 50% cu 9,5ml tampon Veronal diluat.

##### Cuplul hemolitic

Titrarea complementului și testul de fixare a complementului trebuie neapărat realizate cu aceleași elemente ale cuplului hemolitic.

Preparați un volum suficient de produse pentru aceste 2 utilizări.

Păstrați-le separat între utilizări.

- Amestecați în proporții egale hematiile preparate la 2,5% (vezi mai sus) și serul hemolitic standard conținând 2UI/UICFT (diluat conform titrului indicat).
- Amestecați cantitățile necesare pentru fixarea complementului 20 minute (± 2 min) înainte de utilizare și lăsați-le la 18-26°C (vezi tabelul de mai jos pentru cantitățile necesare). Produsele rămase trebuie păstrate separat la 2-8°C până a doua zi.
- Scoateți tuburile din baia de apă și centrifugați-le imediat timp de 10 minute (± 2 min.) la 500-1000g.

### Controlul hemolitic H50

Preparați controlul H50: amestecați 0,50ml supernatant din controlul hemolitic H0 cu 0,50ml supernatant din controlul hemolitic H100. Primul tub cu supernatant care prezintă aceeași culoare cu controlul H50 va fi numit unitatea H50.

Cantitatea de complement necesară pentru reacție:

Exemplu: numărul de godeuri=100<sup>(1)</sup>

$$\frac{80 \times 6 \times 100 \times 25}{100 \times 200} = 60\mu\text{l complement trebuie diluat cu 2440ml tampon Veronal}$$

25μl complement diluat se pipetează în fiecare godeu:

25μl x 100=2,5ml (volumul total de complement ce trebuie preparat)

200μl este volumul de Complement pentru titrarea H50

Unitatea H50 a fost găsită pentru tubul nr.5 (80μl Complement 1:100).

Testul utilizează 6 unități H50.

Testul se realizează fie în tuburi (macrometoda) sau în microplăci (micrometoda)

### Prepararea probelor

Inactivați serurile de titrat într-o baie de apă la 59°C (±1°C) timp de 30 minute (±2min).  
Diluati-le cu tampon Veronal diluat („Vb”)

#### Testul realizat în tuburi

Diluția	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
Proba (μl)	500	500	500	500	500	500	500	500	500
Vb (μl)	500	500	500	500	500	500	500	500	500

#### Testul realizat în microplăci

Diluția	TS	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
Proba (μl)	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Vb (μl)	75	/	25	25	25	25	25	25	25

→ Se aruncă 25μl

### Procedul de testare

1. Repartizați probele diluate („S”), Antigenul Brucelic diluat („Ag”), complementul diluat („C”) și tamponul veronal („Vb”), conform tabelelor următoare :

#### Testul realizat în tuburi

Diluție	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	T Ag	T C'	T GR	T\$
S(μl)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	/	/	/	25
Ag (μl)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	/	/	/
C (μl)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	/	25
Vb (μl)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	25	50	75	25

### Testul realizat în microplăci

Diluție	T S	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	T Ag	T C	T GR
S (μl)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	/	/	/
Ag (μl)	/	25	25	25	25	25	25	25	25	25	/	/
C (μl)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	/
Vb (μl)	25	/	/	/	/	/	/	/	/	25	50	75

T Ag=Control Antigen/T C=Control Complement/T GR= Control hematii/ T S= Control Ser

2. Agitați plăcile sau tuburile folosind un agitator adecvat
3. Când folosiți plăci, acoperiți plăcile
4. Incubați 16-20 de ore la 2-8°C
5. Puneți cuplul hemolitic (preparat cu o zi înainte – vezi prepararea reagenților) la 18-26°C timp de 10 minute (±2 min.)
6. În paralel:
  - a. Puneți plăcile sau tuburile în incubator la +37°C (±3°C) timp de 10 minute (±2 min.) (fie una peste alta sau una lângă alta când se utilizează plăci).
  - b. Mențineți cuplul hemolitic la 18-26°C pentru încă 10 minute (±2 min.).
7. Adăugați 50μl de cuplu hemolitic în fiecare godeu sau tub
8. Agitați plăcile sau tuburile și apoi acoperiți-le când utilizați plăci.
9. Puneți plăcile sau tuburile în incubator la 37°C (± 3°C) timp de 30 minute (±2 min.).
10. Centrifugați plăcile sau tuburile (500-1000g) la 2-8°C timp de 10 minute (±2 min.) sau lăsați-le la 2-8°C timp de 60 minute (±5 min.).
11. Calcule:  
 Controale  
 Evaluați supernatantul conform controalelor preparate după cum urmează:

	0	+	++	+++	++++
Tampon Veronal (μl)	0	25	50	75	100
Godeu hemoliză totală (μl) = Control Complement	100	75	50	25	0

Gradul de hemoliză a hematiilor sensibilizate se notează după cum urmează:

- a. ++++ = inhibarea totală a hemolizei
- b. +++ = inhibare a hemolizei de 75% (=25% hemoliză)
- c. ++ = inhibare a hemolizei de 50% (=50% hemoliză)
- d. + = inhibare a hemolizei de 25% (=75% hemoliză)
- e. 0 = hemoliză completă

Criterii de validare

Testul este validat pentru următoarele rezultate ale controalelor :

- Control Antigen (T Ag) : hemoliză 100%
- Control Complement (T C) : hemoliză 100%
- Control hematii (T GR) : hemoliză 0%
- Control Ser Negativ : hemoliză 100%
- Control Ser Pozitiv este evidențiat la titrul stabilit (± 1 diluție)

12. Interpretarea rezultatelor

Negativ	Pozitiv
< 50% inhibare a hemolizei la 1/4= negativ	≥ 50% inhibare a hemolizei la 1/4 = pozitiv

Corespondența dintre diluția serului și unitățile internaționale ale complementului fixat per mililitru (limita de pozitivitate =20UI/ml(UICFT/ml).

Diluția probei	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
UI (UICFT/ml)	10	20	40	80	160

**Pentru asistența tehnică:**

IDEXX SUA Tel: + 1 800 548 9997 sau +1 207 556 4895

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Contactați managerul local IDEXX sau distribuitorul sau vizitați [idexx.com/contactlpd](http://idexx.com/contactlpd)

Eticheta limba engleza

**REF P00120**

**Pourqueler \***  
**CFT Brucellosis Ag**

100ml

For veterinary use only.  
Réservé à l'usage vétérinaire.  
Für Tiere

IVD

CE

2°C - 8°C

ZUL.-Nr.:  
BFAV-B 371



LOT SN

**IDEXX**



IDEXX Montpellier SAS, 326 rue de la Galéra, 34090 Montpellier, FR  
Tel: +33 4 99 23 24 25



IDEXX Europe B.V., P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, NL  
Tel: +800 727 43399

Eticheta limba romana

**REF P00120**

**Pourqueler \***  
**CFT Brucellosis Ag**

100ml

De uz veterinar exclusiv.

IVD

CE

2°C - 8°C

ZUL.-Nr.:  
BFAV-B 371



LOT SN

**IDEXX**



IDEXX Montpellier SAS, 326 rue de la Galéra, 34090 Montpellier, France  
Tel: +33 4 99 23 24 25



IDEXX Europe B.V., P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda  
Tel: +800 727 43399

...

~~TS~~