

**Brucella ovis Antibody Test kit**  
**Test imunoenzimatic pentru detectie anticorpi anti Brucella ovis**

**Descrierea produsului**

Testul imunoenzimatic IDEXX *Brucella ovis* furnizeaza o metoda rapidă, simplă, specifică pentru detectia anticorpilor anti *Brucella ovis* (*B.ovis*) în probe de ser sau plasmă de la ovine.

**Descriere și principii**

Plăcile de microtitrare sunt căptușite cu antigen inactivat. Se incubează diluții ale probelor de testat în godeuri. Anticorpii specifici anti *B.ovis* se leagă la antigenul din godeuri, formând un complex antigen-anticorp pe suprafața plăcii. Materialul nelegat este îndepărtat prin spălare. Se adaugă un conjugat IgG anti rumegătoare cuplat cu peroxidază, care se leagă la anticorpii de oale anti *B.ovis* imobilizați în complexele antigen-anticorp. Conjugatul nelegat este îndepărtat prin spălare și apoi se adaugă substratul cromogen TMB. Intensitatea culorii dezvoltate (densitatea optică măsurată la 450 nm) este direct proporțională cu concentrația anticorpilor anti *B.ovis*. Rezultatele se interpretează prin compararea densităților optice (DO) ale probelor cu DO a controlului pozitiv.

**Reagenți:****Cantități**

1. Plăci căptușite cu antigen <i>B. Ovis</i>	2
2. Control pozitiv	1x0,4 ml
3. Control negativ	1x0,4 ml
4. Conjugat	1x24 ml
A. Soluție substrat TMB N.12	1x20 ml
B. Soluție de stopare N.3	1x20 ml
C. Concentrat spălare (10X)	2 x 100 ml
Alte componente: pungi cu sistem de închidere	1

**Notă:** consultați simbolurile de la sfârșitul prospectului pentru descrierea acestora.

**Conservare**

Reagenții se păstrează la 2-8°C. Reagenții sunt stabili până la data de expirare dacă sunt stocați corespunzător.

**Materiale necesare dar nefurnizate**

- Pipete automate mono și multicanal
- Vârfuri de unică folosință
- Cilindru gradat pentru soluția de spălare
- Cititor de microplăci cu 96 godeuri (echipat cu filtru de 450nm)
- Spălător de microplăci (manual, semi-automat sau automat)
- Folosiți doar apă distilată sau deionizată pentru prepararea reagenților utilizați în test
- Vortex sau echivalent
- Folii pentru microplăci (capace, folie de aluminiu sau folie adezivă și/sau cameră umedă)
- Incubator capabil să mențină temperatura la 37° C (±3°C)

**Precauții și avertizări pentru utilizatori**

- Manipulați materialele biologice ca și cum ar putea transmite boala.
- Purtați mănuși/haine protectoare/ochelari sau mască de protecție când manipulați probele și reagenții.
- Consultați fișa de securitate a produsului pentru informații suplimentare
- Consultați sfârșitul acestui protocol pentru avetisme și precauții.

## Bune Practici de laborator

- Rezultate optime se obțin în condițiile respectării stricte a instrucțiunilor de lucru. În scop asigurării preciziei și a acurateții este necesar să se pipeteze cu grijă, să se respecte timpii de incubare și de spălare. Utilizați vârfuri separate pentru fiecare probă și control.
- Nu expuneți soluția TMB la lumină puternică sau la agenți oxidanți. Manipulați soluția TMB flacoane curate din plastic sau sticlă.
- Toate reziduurile trebuie decontaminate corespunzător înainte de a fi aruncate. Aruncă conținutul în conformitate cu regulile locale, regionale și naționale.
- Trebuie să se evite contaminarea componenților kit-ului. Nu puneți reagenții neutilizați înapoi în flacon.
- Nu utilizați kitul după data de expirare.

## Prepararea Reagenților

### Soluția de spălare

Soluția de spălare concentrată (10X) trebuie adusă la temperatura camerei 18-26°C pentru echilibrare termică și omogenizată astfel încât depozitele de săruri să fie dizolvate. Diluați concentratul de soluție de spălare de 10 ori cu apă distilată (de exemplu 30 ml concentrat cu 270 ml apă distilată). Dacă este preparată în condiții sterile, soluția diluată poate fi păstrată timp de săptămână 2°C- 8°C.

### Prepararea probelor și controalelor

Pre-diluați fiecare probă și control 1:200 într-un tub de diluție utilizând soluția de spălare.

### Procedura de Testare

Toți reagenții trebuie aduși la 18-26°C înainte de utilizare. Reagenții trebuie omogenizați printr-o rotire sau agitare.

1. Se scoate placa de testare din pungă și se înregistrează poziția fiecărei probe. Dacă utilizați doar o parte din placă, se va păstra numai numărul de godeuri necesar pentru testare. Rest godeurilor se vor păstra împreună cu desicantul, în punga cu sistem de închidere din kit, la 8°C.
2. Pipetați 100 µl de control pozitiv (CP) DILUAT în duplicat.
3. Pipetați 100 µl de control negativ (CN) DILUAT în duplicat.
4. Pipetați 100 µl de probă DILUATĂ în godeurile respective.
5. Acoperiți placa și incubați timp de 1 oră ( $\pm 10$  min.) la 37°C. Plăcile trebuie sigilate foarte bine sau incubate în cameră umedă folosind capace de plăci pentru a evita evaporarea.
6. Îndepărtați conținutul godeurilor și spălați fiecare godeu cu aproximativ 300 µl soluție de spălare de trei ori. Evitați uscarea plăcii între spălări și adăugarea următorului reagent. După ultim spălare, bateți placa pe un material absorbant pentru a îndepărta orice fluid rezidual.
7. Pipetați 100 µl conjugat în fiecare godeu.
8. Acoperiți placa și incubați 1 oră ( $\pm 10$  min.) la 37°C ( $\pm 3^{\circ}\text{C}$ ). Plăcile trebuie sigilate foarte bine sau incubate în cameră umedă folosind capace de plăci pentru a evita evaporarea.
9. Repetați pasul 6.
10. Pipetați 100 µl substrat TMB N.12 în fiecare godeu
11. Incubați 15 minute ( $\pm 1\text{min}$ ) la 18-26°C.
12. Pipetați 100 µl soluție de stopare N.3 în fiecare godeu.
13. Citiți rezultatele la lungimea de undă de 450 nm.
14. Calcule:

Controalele

$$\text{CNx} = \frac{\text{CN}_1 A(450) + \text{CN}_2 A(450)}{2} \quad \text{CPx} = \frac{\text{CP}_1 A(450) + \text{CP}_2 A(450)}{2}$$

Criterii de validare

$$\text{CNx} < 0.500 \quad \text{CPx} < 2.500 \quad \text{CPx} - \text{CNx} \geq 0.300$$

Citiți plăcile în decurs de 2 ore după adăugarea soluției de stopare. Pentru încercările invalidă tehnica poate fi suspectă și încercarea trebuie repetată urmărind instrucțiunile de lucru din kit.

$$S/P\% = 100 \times \frac{ProbaA(450) - CNx}{CPx - CNx}$$

Dacă o probă rămâne dubioasă după repetarea testării atunci trebuie colectată o nouă probă de sânge de la animalul respectiv și reanalizată. Dacă proba continuă să fie dubioasă trebuie luată în considerare și situația epidemiologică.

#### 15. Interpretare:

##### **În efective libere de B.ovis<sup>1</sup>**

Doar rezultatele negative la testelete obișnuite și toate suspiciunile clinice infirmate la testare.

Negative	Pozitive
$S/P\% < 60$	$S/P\% \geq 60$

##### **Supraveghere<sup>1</sup>**

Efective cu istoric liber de B.ovis

Negative	Pozitive
$S/P\% < 45$	$S/P \geq 45$

##### **Eradicare<sup>1</sup>**

În zonele endemice de B.ovis

Negative	Pozitive
$S/P\% < 30$	$S/P \geq 30$

#### **Bibliografie**

1. Anne Praud, Jean-Luc Champion, Yannick Corde, Antoine Drapeau, Laurence Meyer și Bruno Garin-Bastuji. "Assessment of the diagnostic sensitivity and specificity of an indirect ELISA kit for the diagnosis of Brucella ovis infection in rams". BMC Veterinary Research, 2012, 8:68\*<http://www.biomedcentral.com/1746-6148/8/68>.

#### **Pentru asistență tehnică:**

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

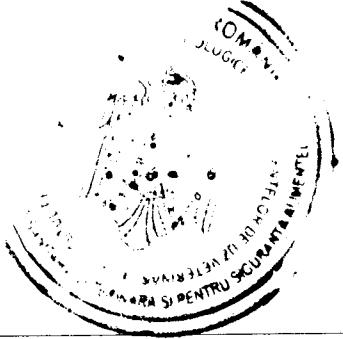
IDEXX Europa Tel : +800 727 43399

Contactați reprezentatul local IDEXX sau distribuitorul sau vizitați: [www.idexx.com/contactlpd](http://www.idexx.com/contactlpd)  
IDEXX și Test With Confidence sunt mărci înregistrate ale IDEXX Laboratories, Inc., sau ale afiliatelor sale în Statele Unite și/sau alte state.

©2016 IDEXX Laboratories, Inc. Toate drepturile rezervate.



L.F.T.



**BOT 1135T**  
**IDEXX Brucella Ovis**

Kit detecție anticorpi  
*Brucella Ovis*

REF

LOT SN

IDEXX *Brucella ovis*  
2 x 96 godeuri

**IDEXX *Brucella ovis***

Pentru utilizare cu seruri și plasmă de ovine.

LOT

Notă: Pentru uz veterinar exclusiv.

Reagenti	Cantitatea
1. Plăci căptușite cu antigen B.ovis	2
2. Control pozitiv	1 x 0,4ml
3. Control negativ	1 x 0,4ml
4. Conjugat	1 x 24ml
A. Substrat TMB N.12	1 x 20ml
B. Soluție de stopare N.3	1 x 20ml
C. Soluție de spălare concentrată (10x)	2 x 100ml



ECREP

IVD



8°C

2°C



04-40769-01

IDEXX Switzerland AG  
Stationsstrasse 12, CH  
3097, Liebefeld - Berna  
Tel. +41 31 970.62.60  
Fax +41.31.970.62.79

IDEXX Europa B.V.  
PO Box. 1334, 2130 EK  
Hoofddorp, Olanda  
Tel. 00800-727-43399  
Fax 00800-433-99329



**BOT1135T**  
**IDEXX Brucella ovis**

**1 Placă căpușită cu antigen *B. ovis***

IDEXX **Brucella ovis**

1 x 96 godeuri

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD

IDEXX Switzerland AG, Stationstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Berna  
04-40760-01

IDEXX Europe B.V., P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda  
49-BOT1135

**2 CONTROL +**

IDEXX **Brucella ovis**

0,4 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD

IDEXX Switzerland AG, Stationstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Berna  
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda  
04-40761-01

**3 CONTROL -**

IDEXX **Brucella ovis**

0,4 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD

IDEXX Switzerland AG, Stationstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Berna  
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda  
04-40762-01

**4 Conjugat**

IDEXX **Brucella ovis**

24 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD

IDEXX Switzerland AG, Stationstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Berna  
04-40763-01

IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda  
42-3075150

**A Substrat TMB N. 12**

IDEXX

20 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD

Nr K 084

IDEXX Switzerland AG, Stationstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Berna  
04-42501-02

IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda  
45-42501

**B Soluție de stopare N.3**

IDEXX

20 ml

Exclusiv pentru uz veterinar

IVD

Nr K 084

IDEXX Switzerland AG, Stationstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Berna  
04-42511-01

IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda  
46-42511

