## 9. CRITERII DE VALIDARE

- Valoarea DO (media) martorului negativ: mai mica de 0,300;
- Valoarea DO (media) martorului pozitiv: mai mare de 0,800.

## 10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Se calculeaza valoarea S/P pentru fiecare proba conform formulei:

$$S/P = (DO_{proba} - DO_{martor\ negativ}) / (DO_{martor\ pozitiv} - DO_{martor\ negativ})$$

a) probele pentru care valorile **S/P > 0,25** sunt considerate **pozitive**;

b) probele pentru care valorile **S/P ≤ 0,15** sunt considerate **negative**;

c) probele pentru care **0,15< S/P ≤ 0,25** sunt considerate dubioase si animalele de la care provin trebuie retestate dupa 30 zile.

## 11. NORME DE PROTECTIA MUNCII

Componentele trusei si probele de examinat se manipuleaza cu atentie, evitandu-se contactul cu pielea si mucoasele.

## 12. VALABILITATE

12 luni de la data fabricatiei.

Producator: S.N. "Institutul Pasteur" S.A
*Calea Giulesti 333, sect 6*
060269 Bucuresti

# *ELI-Tox-P*

trusa de diagnostic al toxoplasmozei la porcine

## Instructiuni de folosire

## 1. SCOPUL UTILIZARII:

ELI-Tox–P este o trusa de diagnostic, bazata pe tehnica ELISA, varianta indirecta, utilizata la detectarea anticorpilor de tip IgG anti- *Toxoplasma gondii* din seruri de porcine.

## 2. INFORMATII GENERALE:

Toxoplasmoza este o zoonoza care afecteaza omul si numeroase specii de animale homeoterme si pasari, fiind raspandita pe tot globul. Rezervorul de infestare are doua componente si anume: abiotica- unde se dezvolta oochisturile si biotica- reprezentata de toate speciile de mamifere din genul *Felix si Lynx*- gazde definitive ale parazitului *Toxoplasma gondii*. Gazdele intermediare sunt reprezentate de om si alte homeoterme care se pot manifesta si pot fi si surse de infestare cu *Toxoplasma gondii*. Toxoplasmoza poate fi considerata ca fiind una dintre cele mai importante zoonoze, prin impactul social deosebit pe care-l are, contaminarea femeii gravide soldandu-se cu avortul sau moartea fatului.

Prin detectarea serologica a toxoplasmozei la porcine se reduc prevalenta infestatiei parazitare la acestea, pierderile economice reprezentate de avorturi, fatari de produsi neviabili, dar scad si sursele de infestare pentru om.

Anticorpii specifici anti-*Toxoplasma gondii* din serurile recoltate de la porcine recunosc antigenul *Toxoplasma gondii* utilizat la captusirea microplacilor.

## 3. PRINCIPIUL METODEI

Anticorpii anti- *Toxoplasma gondii*, de tip IgG, din ser sunt detectati prin tehnica ELISA, varianta indirecta. In test, anticorpii reactioneaza specific cu antigenul *Toxoplasma gondii* fixat pe imunosorbent (microplaca) si apoi cu conjugatul anti- IgG de pore marcat cu peroxidaza. Complexul antigen – anticorp specific - anti-anticorp – peroxidaza format este evidentiat prin actiunea enzimei asupra substratului specific ($H_2O_2$), cu modificarea culorii unui cromogen (ABTS) care se oxideaza, intensitatea culorii fiind determinata fotometric la 405 nm. Reactia se interpreteaza in raport cu valorile densitatilor optice ale martorilor pozitiv si negativ.

## 4. COMPONENTELE TRUSEI

Trusa ELI-Tox-P cuprinde urmatoarele componente, ambalate individual, in cantitati corespunzatoare necesarului de lucru:

| Nr. crt | Component | U/M | Cantitate pentru 92 probe | Cantitate pentru 184 probe | Cantitate pentru 460 probe |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. | Microplaca ELISA peliculizata cu antigen *Toxoplasma gondii* | buc. | 1 | 2 | 5 |
| 2. | Martor pozitiv 10X | ml | 0,1 | 0,2 | 0,5 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 3. | Martor negativ 10X | ml | 0.1 | 0.2 | 0.5 |
| 4. | Conjugat anti-IgG pore marcat cu peroxidaza | ml | 0,125 | 0,250 | 0,600 |
| 5. | Substrat de perhidrol in tampon citrat | ml | 11 | 22 | 55 |
| 6. | Cromogen (solutie ABTS) | ml | 0.6 | 1.2 | 3 |
| 7. | Diluant pentru seruri si conjugat | ml | 100 | 120 | 240 |
| 8. | Solutie de spalare 10 X | ml | 50 | 60 | 120 |
| 9. | Reactiv de stopare – NaF | g | 0.09 | 0.18 | 0.45 |
| 10. | Instructiuni de folosire a trusei | buc. | 1 | 1 | 1 |

Fiecare component al trusei este ambalat individual si etichetat / inscriptionat individual.

## 5. PRECAUTII

Toate componentele utilizate in testul ELI-Tox – P trebuie pastrate la 2 - 8 °C si aduse la temperatura camerei (20 – 25 °C) inainte de utilizare. Odata inceput, lucrul trebuie continuat fara intreruperi. Agitarea placilor trebuie sa evite contaminarea reciproca a godeurilor. Dupa spalare, placile trebuie sa fie bine golite de lichid (prin scuturare cu fata in jos pe hartie absorbanta). Dupa adaugarea substratului, placa trebuie plasata obligatoriu la intunerie. Tipsurile (varfurile) se schimba la fiecare ser/ reagent pentru a se evita contaminarea intre acestia.

## 6. CONDITII DE PASTRARE

Trusa ELI-Tox-P se pastreaza la 2 – 8 °C, in ambalajul original.

## 7. PROBE DE EXAMINAT

Probe de seruri prelevate dupa coagularea sangelui recoltat de la porcine. Tuburile cu probe de testat trebuie sa fie inchise ermetic pentru a se evita impurificarile de orice fel. Pana la utilizare in test, probele se pastreaza la congelator la – 20°C.

## 8. MODUL DE LUCRU

### 8.1. Materiale necesare in dotarea laboratorului:

- apa distilata/ deionizata; pipete mono- si multicanal, reglabile, 2-1000 µl; pipete sticla 10 ml;
- eprubete/ tuburi polietilena 1-2 ml si sticla 10-20 ml; hartie absorbanta (filtru/sugativa);
- alcool sanitar; incubator prevazut cu agitare pentru placi ELISA;
- aparat de spalare automata pentru placi ELISA;
- fotometru multicanal (uv/vis) cu cititor de placi ELISA la 405 nm si imprimanta.

### 8.2. Executarea testului

Prepararea reagentilor - *Echilibrarea termica a reagentilor:*

Componentele trusei, cu exceptia conjugatului 100X se aduc la temperatura camerei cu cel putin 30 minute inainte de lucru. Dupa echilibrare termica se agita usor pentru omogenizare. **Se vor efectua dilutii conform celor de mai jos pentru fiecare placa din trusele ELI-Tox-P.**

*Diluarea martorilor de reactie:*

Martorii de reactie, pozitiv si negativ se dilueaza 1/10 in diluantul pentru ser si conjugat in modul urmator: 25 µl martor pozitiv 10X + 225 µl diluant

25 µl martor negativ 10X + 225 µl diluant

*Diluarea probelor de testat:* Probele de testat (seruri prelevate dupa coagularea sangelui recoltat de la porcine) se dilueaza 1/400 in diluant pentru ser si conjugat in doua etape in modul urmator:

a) dilutie 1/20: 10 µl proba + 190 µl diluant pentru ser si conjugat.

b) dilutie 1/20: 10 µl proba diluata 1/20 + 190 µl diluant pentru ser si conjugat.

*Diluarea conjugatului anti - IgG pore marcat cu peroxidaza:*

Conjugatul anti – IgG de pore marcat cu peroxidaza se dilueaza 1/100 in diluant pentru ser si conjugat in modul urmator: 100 µl conjugat + 9,9 ml diluant pentru ser si conjugat.

*Diluarea solutiei de spalare 10X:*

Solutia de spalare se dilueaza 1/10 cu apa distilata in modul urmator:

30 ml solutie de spalare 10X + 270 ml apa distilata.

**Modul de executare a testului:**

*Reactia cu serul:*

Martorii de reactie (pozitiv si negativ) diluati se distribuie in dublet, cate 100 µl/godeu.

Probele de testat (diluate conform instructiunilor de mai sus) se distribuie fiecare in cate un godeu, cate 100 µl/godeu (92 probe/placa). Se incubeaza placa 60 minute la 37 °C, cu agitare.

Se spala placa de trei ori cu 250 µl lichid de spalare diluat/godeu. Se agita usor. Dupa ultima spalare, placa se usuca bine prin scuturare pe o hartie de filtru.

*Reactia cu conjugatul imunoenzimatic:*

Se adauga in toate godeurile cate 100 µl conjugat diluat (1/100 in diluant pentru ser si conjugat). Se incubeaza 60 minute la 37 °C, cu agitare. Se spala placa de trei ori cu 250 µl lichid de spalare diluat/ diluat/godeu. Se agita usor. Dupa ultima spalare, placa se usuca bine prin scuturare pe o hartie de filtru.

*Reactia cu substratul specific enzimei:*

Se prepara substratul: peste 11 ml substrat de perhidrol in tampon citrat se adauga 0,45 ml solutie ABTS si se agita usor pentru omogenizare. Se distribuie in fiecare godeu cate 100 µl.

Placa se lasa la intunerie, la temperatura camerei. Intre timp, se prepara reactivul de stopare: se dilueaza agentul de stopare (NaF) in 6 ml apa distilata.

Dupa 30 minute reactia se stopeaza imediat cu 50 µl/godeu din solutia de stopare si placa se citeste la fotometru multicanal la 405 nm

S. N. INSTITUTUL PASTEUR S.A.
Calea Giulesti, nr. 333, Sector 6, Cod 77826 Bucureşti, România
Tel: (4021)220.69.20, Fax: (4021)220.69.15, E-mail: pasteur@pasteur.ro Web: http://www.pasteur.ro

# ELI - Tox - P

TRUSĂ DE DIAGNOSTIC AL TOXOPLASMOZEI
LA PORCINE

92 probe

CONŢINUT

- Microplacă ELISA pelicularizată cu antigen T. gondii 1 buc.
- Martor pozitiv 10X 0,1 ml
- Martor negativ 10X 0,1 ml
- Conjugat anti IgG porc marcat cu peroxidaza 0,125 ml
- Substrat de perhidrol în tampon citrat 11 ml
- Cromogen (soluţie ABTS) 0.6 ml
- Diluant pentru seruri şi conjugat 100 ml
- Soluţie de spălare 10X 50 ml
- Reactiv de stopare - NaF 0,09 g

Seria:
Valabilitate:

Se va folosi conform instrucţiunilor ◊ Uz veterinar ◊ Păstrare la 2-8°C

ELI - Tox - P

TRUSĂ DE DIAGNOSTIC AL TOXOPLASMOZEI
LA PORCINE

92 probe

SOCIETATEA NAŢIONALĂ INSTITUTUL PASTEUR S.A.

S. N. INSTITUTUL PASTEUR S.A.
Calea Giulesti, nr. 333, Sector 6, Cod 77826 Bucureşti, România
Tel: (+021)220.69.20, Fax: (4021)220.69.15, E-mail: pasteur@pasteur.ro Web: http://www.pasteur.ro

# ELI - Tox - P

## TRUSĂ DE DIAGNOSTIC AL TOXOPLASMOZEI LA PORCINE

184 probe

Seria:
Valabilitate:

CONŢINUT

| | |
|---|---|
| ➢ Microplacă ELISA peliculizată cu antigen T. gondii | 2 buc. |
| ➢ Martor pozitiv 10X | 0,2 ml |
| ➢ Martor negativ 10X | 0,2 ml |
| ➢ Conjugat anti IgG porc marcat cu peroxidaza | 0,250 ml |
| ➢ Substrat de perhidrol în tampon citrat | 2 x 11 ml |
| ➢ Cromogen (soluţie ABTS) | 1,2 ml |
| ➢ Diluant pentru seruri şi conjugat | 2 x 60 ml |
| ➢ Soluţie de spălare 10X | 60 ml |
| ➢ Reactiv de stopare - NaF | 0,18 g |

Se va folosi conform instrucţiunilor ◊ Uz veterinar ◊ Păstrare la 2-8°C

ELI - Tox - P

TRUSĂ DE DIAGNOSTIC AL TOXOPLASMOZEI LA PORCINE

184 probe

S. N. INSTITUTUL PASTEUR S.A.
Calea Giulesti, nr. 333, Sector 6, Cod 77826 Bucureşti, România
Tel: (4021)220.69.20, Fax: (4021)220.69.15, E-mail: pasteur@pasteur.ro Web: http://www.pasteur.ro

# ELI - Tox - P

TRUSĂ DE DIAGNOSTIC AL TOXOPLASMOZEI
LA PORCINE

**460 probe**

Seria:
Valabilitate:

CONŢINUT

| | |
|---|---|
| ➢ Microplacă ELISA peliculizată cu antigen T. gondii | 5 buc. |
| ➢ Martor pozitiv 10X | 0,5 ml |
| ➢ Martor negativ 10X | 0,5 ml |
| ➢ Conjugat anti IgG porc marcat cu peroxidaza | 0,600 ml |
| ➢ Substrat de perhidrol în tampon citrat | 5 x 11 ml |
| ➢ Cromogen (soluţie ABTS) | 3 ml |
| ➢ Diluant pentru seruri şi conjugat | 4 x 60 ml |
| ➢ Soluţie de spălare 10X | 2 x 60 ml |
| ➢ Reactiv de stopare - NaF | 5 x 0.09 g |

Se va folosi conform instrucţiunilor ◆ Uz veterinar ◆ Păstrare la 2-8°C

ELI - Tox - P

TRUSĂ DE DIAGNOSTIC AL TOXOPLASMOZEI
LA PORCINE

460 probe

# Microplacă

ELISA peliculizată cu antigen
Toxoplasma gondiis

96 godeuri

S.N. INSTITUTUL PASTEUR S.A.

Seria:
Valabilitate:

Se păstrează la 2-8°C.

---

Soluție de spălare 10 X
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 60 ml
S.N. Institutul PASTEUR S.A. Seria: Valab.:

---

Soluție de spălare 10 X
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 60 ml
S.N. Institutul PASTEUR S.A. Seria:

---

Diluant pentru ser
și conjugat
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 60 ml
S.N. Institutul PASTEUR S.A. Seria: Valab.:

---

Diluant pentru ser
și conjugat
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 60 ml
S.N. Institutul PASTEUR S.A. Seria:

---

Diluant pentru ser
și conjugat
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 60 ml
S.N. Institutul PASTEUR S.A. Seria: Valab.:

---

Diluant pentru ser
și conjugat
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 60 ml
S.N. Institutul PASTEUR S.A. Seria:

---

Substrat de perhidrol în tampon citrat
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 11 ml
S.N. Institutul PASTEUR S.A. Seria: Valab.:

---

Reactiv de stopare
(NaF)
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 0,09 g
Seria: Valab.:

---

Conjugat anti-IgG pore
marcat cu peroxidază
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 0,600 ml
Seria: Valab.:

---

Cromogen (ABTS)
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 3 ml
Seria: Valab.:

---

Substrat de perhidrol în tampon citrat
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 11 ml
S.N. Institutul PASTEUR S.A. Seria: Valab.:

---

Reactiv de stopare
(NaF)
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 0,09 g
Seria: Valab.:

---

Reactiv de stopare
(NaF)
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 0,09 g
Seria: Valab.:

---

Reactiv de stopare
(NaF)
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 0,09 g
Seria: Valab.:

---

Substrat de perhidrol în tampon citrat
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 11 ml
S.N. Institutul PASTEUR S.A. Seria: Valab.:

---

Reactiv de stopare
(NaF)
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 0,09 g
Seria: Valab.:

---

Martor pozitiv 10X
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 0,5 ml
Seria: Valab.:

---

Martor negativ 10X
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 0,5 ml
Seria: Valab.:

---

Substrat de perhidrol în tampon citrat
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 11 ml
S.N. Institutul PASTEUR S.A. Seria: Valab.:

---

Substrat de perhidrol în tampon citrat
pentru ELI - Tox - P
Se păstrează la 2-8°C. 11 ml
S.N. Institutul PASTEUR S.A. Seria: Valab.:

---

GUVERNUL ROMÂNIEI • INSTITUTUL PENTRU CONTROLUL PRODUSELOR ALIMENTARE ȘI MEDICAMENTELOR • AUTOR

# Microplacă

ELISA peliculizată cu antigen
Toxoplasma gondii

96 godeuri

S.N. "INSTITUTUL PASTEUR" S.A.

Seria:
Valabilitate:

Se păstrează la 2-8°C.

---

## Soluție de spălare 10 X

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 60 ml

S.N. "INSTITUTUL PASTEUR" S.A. Seria: Valab.:

---

## Diluant pentru ser și conjugat

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 60 ml

S.N. "INSTITUTUL PASTEUR" S.A. Seria: Valab.:

---

## Diluant pentru ser și conjugat

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 60 ml

S.N. "INSTITUTUL PASTEUR" S.A. Seria: Valab.:

---

## Martor pozitiv 10X

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 0,2 ml

S.N. "INSTITUTUL PASTEUR" S.A. Seria: Valab.:

---

## Conjugat anti-IgG porc marcat cu peroxidază

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 0,250 ml

S.N. "INSTITUTUL PASTEUR" S.A. Seria: Valab.:

---

## Cromogen (ABTS)

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 1,2 ml

S.N. "INSTITUTUL PASTEUR" S.A. Seria: Valab.:

---

## Martor negativ 10X

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 0,2 ml

S.N. "INSTITUTUL PASTEUR" S.A. Seria: Valab.:

---

## Reactiv de stopare (NaF)

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 0,09 g

S.N. "INSTITUTUL PASTEUR" S.A. Seria: Valab.:

---

## Reactiv de stopare (NaF)

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 0,09 g

S.N. "INSTITUTUL PASTEUR" S.A. Seria: Valab.:

---

## Substrat de perhidrol în tampon citrat

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 11 ml

S.N. "INSTITUTUL PASTEUR" S.A. Seria: Valab.:

---

## Substrat de perhidrol în tampon citrat

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 11 ml

S.N. "INSTITUTUL PASTEUR" S.A. Seria: Valab.:

# Microplacă

ELISA peliculizată cu antigen
Toxoplasma gondii

96 godeuri

S.N. "INSTITUTUL PASTEUR" S.A.

Seria:
Valabilitate:

Se păstrează la 2-8°C.

## Soluție de spălare 10 X

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 50 ml

S.N. "Institutul PASTEUR" S.A.

Seria:
Valab.:

## Diluant pentru ser și conjugat

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 100 ml

S.N. "Institutul PASTEUR" S.A.

Seria:

### Martor pozitiv 10X

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 0,1 ml

Seria:
Valab.:

### Conjugat anti-IgG porc marcat cu peroxidază

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 0,125 ml

Seria:
Valab.:

### Cromogen (ABTS)

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 0,6 ml

Seria:
Valab.:

### Martor negativ 10X

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 0,1 ml

Seria:
Valab.:

### Reactiv de stopare (NaF)

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 0,97 g

Seria:
Valab.:

### Substrat de perhidrol în tampon citrat

pentru ELI - Tox - P

Se păstrează la 2-8°C. 11 ml

S.N. "Institutul PASTEUR" S.A.

Seria:
Valab.:

SOCIETATEA NAȚIONALĂ "INSTITUTUL PASTEUR" S.A.