

Kit ELISA detecție Antigen Echinococcus în probe de fecale de câine

1. Scop :

Acest kit este utilizat pentru detecția antigenului Echinococcus în probe de fecale și alte probe lichide relevante.

2. Principiul:

Testul este o metodă imunoenzimatică pentru detecția antigenului Echinococcus în probe de fecale de câine.

Plăcile de microtitrare cu 96 godeuri sunt pre-căptușite cu anticorpi purificați anti Echinococcus, se adaugă probele diluate în godeuri și apoi anticorpii se leagă specific la antigene, anticorpii nelegați și alte componente vor fi eliminați prin spălare. În etapa următoare se adaugă conjugatul enzimatic care se va lega specific cu compuşii anticorpilor și antigenelor de pe microplacă. Conjugatul nelegat se elimină prin spălare. Se adaugă substratul TMB în godeuri și se dezvoltă un produs albastru. Ultimul pas este oprirea reacției prin adăugarea soluției de stopare. Se utilizează un cititor ELISA pentru măsurarea valorilor densității optice la 450 nm și se compară valorile probelor cu valoarea CUTOFF în scopul detecției prezenței antigenului Echinococcus în probe.

3. Componente:

1. Soluție de spălare concentrată 30x.....1 flacon (20 ml/flacon)
2. Conjugat enzimatic.....1 flacon (6 ml/flacon)
3. Microplaca căptușită.....96 godeuri
4. Diluant probe.....1 flacon (6 ml/flacon)
5. Soluție tratare probe fecale2 flacoane (50 ml/flacon)
6. Substrat A.....1 flacon (6 ml/flacon)
7. Substrat B.....1 flacon (6 ml/flacon)
8. Soluție de stopare.....1 flacon (6 ml/flacon)
9. Control pozitiv.....1 flacon (0,5 ml/flacon)
10. Control negativ.....1 flacon (0,5 ml/flacon)
11. Instrucțiuni de lucru.....1 exemplar
12. Film adeziv.....2 bucăți
13. Pungă sigilată.....1 bucată

4. Cerințe la prepararea probelor

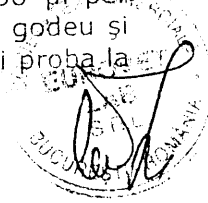
1) Extrageți probele imediat după colectare. Efectuați testul imediat după extracție. Dacă probele nu pot fi analizate imediat, păstrați-le la - 20°C, dar evitați înghețarea și dezghețarea repetată.

2) Probele care conțin NaN_3 nu pot fi analizate întrucât azida de sodiu inhibă activitatea peroxidazei din hrean. (HRP)

3) Prepararea probelor: Probele de fecale trebuie păstrate la -70 °C timp de 7 zile pentru inactivarea ouălelor. Se cântăresc 1 g fecale, se adaugă 1 ml soluție de tratare a probelor, se amestecă și se agită foarte bine, se lasă 10 minute în repaos, se centrifughează 30 minute la 5000 rpm, se utilizează supernatantul în test.

5. Mod de lucru :

1. Se scot plăcile căptușite și se înregistrează poziția probelor pe foaia de lucru. Se alocă două godeuri pentru controlul negativ și două pentru controlul pozitiv. Se alocă un godeu pentru blank (în godeul blank nu se adaugă proba și conjugat enzimatic; restul pașilor sunt la fel)
2. Adăugarea probelor: se adaugă 50 μl per godeu control negativ și 50 μl per godeu control pozitiv. Se adaugă 40 μl diluant pentru probe în fiecare godeu și apoi 10 μl de probă în godeul de testat. Când se adaugă proba, pipetați proba la



- fundul godeului, având grijă să nu atingeți peretele godeului. Agitați ușor pentru omogenizare.
3. Incubarea: Acoperiți placa cu film adeziv, incubați 30 minute la 37°C.
 4. Prepararea probei: Diluați soluția de spălare concentrată 30x, de 30 de ori cu apă deionizată pentru a fi gata de utilizare.
 5. Spălarea: Scoateți filmul adeziv, aruncați lichidul din godeu, adăugați soluție de apălare în fiecare godeu, lăsând 30 secunde în repaos, repetați de 5 ori, bateți placa pe hârtie absorbantă.
 6. Adăugarea conjugatului enzimatic: Adăugați 50 μl/godeu conjugat în toate godeurile cu excepția blancului
 7. Incubarea: repetați pasul 3.
 8. Spălarea: repetați pasul 5.
 9. Dezvoltarea culorii: Adăugați 50 μl substrat A și apoi 50 μl substrat B, agitați ușor pentru omogenizare, incubați 10 minute la 37°C, la întuneric.
 10. Se adaugă 50 μl soluție de stopare în fiecare godeu, reacția se stopează (culoarea albastră virează în galben)
 11. Determinarea: Se face zero pe godeul blanc, se utilizează un cititor ELISA la lungimea de undă de 450nm pentru citirea valorii DO a fiecărui godeu. Citirea se face în decurs de 15 minute de la stoparea reacției.

6. Interpretare rezultate ELISA:

Criterii de validare:

Valoarea medie a controalelor pozitive trebuie să fie $\geq 1,00$.

Valoarea medie a controalelor negative trebuie să fie $\leq 0,10$.

Calculul valorii CUTOFF:

Valoarea CUTOFF = Media valorilor controlului negativ + 0,15.

Probele având valori mai mici decât valoarea CUTOFF se consideră negative.

Probele având valori mai mari sau egale cu valoarea CUTOFF se consideră pozitive.

7. Notă:

1. Respectați instrucțiunile de lucru. Nu amestecați reactivii aparținând unor truse sau loturi diferite.
2. Aduceți toți reactivii la temperatura camerei (20 -25°C) înainte de utilizare cu cel puțin 30 minute înainte de a începe lucrul. Stripurile neutilizate se pun înapoi în folia de aluminiu și se resigilează.
3. Soluția de spălare concentrată poate să cristalizeze; puneți-o în baie de apă pentru dizolvare înainte de diluare. Aceasta nu afectează rezultatul la spălare.
4. Filmul adeziv se folosește o singură dată în scopul evitării contaminării încrucișate.
5. Substratul se păstrează la întuneric.
6. Rezultatul depinde de citirea spectrofotometrică. Dacă se folosește lungime de undă duală, lungimea de undă de referință este 630 nm.
7. Toate probele, soluția de spălare și reziduurile trebuie tratate ca materiale potențial infecțioase.

8. Păstrare și valabilitate

Păstrare: la 2-8 °C, nu se congelează.

Valabilitate: 6 luni, verificați data producției înainte de utilizare.

Shenzen Lvshiyuan Biotechnology Co., Ltd

D Building, National Biological Industrial Park of Marinelife, No.2 Binhai Road,

Dapeng, Shenzen, 518120 China

Tel. 86-755-28438788

Fax 86-755-28938800

Email: bella.lsybt@gmail.com

info@lsybt.com

www.lsybt.com



**ELISA Echinococcosis Dog Feces Antigen Kit
(Dog ESFAg ELISA Kit)**

Componentele setului:

1. Solutie de spalare 30x	1 flacon (20 ml/flacon)
2. Conjugat enzimatic	1 flacon (6 ml/flacon)
3. Microplaca captusita	96 godeuri
4. Diluant probe	1 flacon (6 ml/flacon)
5. Solutie tratare probe fecale (PBS 10mM, pH7,3)	2 flacoane (50 ml/flacon)
6. Substrat A	1 flacon (6 ml/flacon)
7. Substrat B	1 flacon (6 ml/flacon)
8. Solutie de stopare	1 flacon (6 ml/flacon)
9. Control pozitiv	1 flacon (0,5 ml/flacon)
10. Control negativ	1 flacon (0,5 ml/flacon)
11. Instructiuni de lucru	1 bucata
12. Film adeziv	2 bucati
13. Punga sigilata	1 bucata

Producător:

Shenzhen Lvshiyuan Biotechnology Co., Ltd
D Building, National Biological industrial Park of Marinelife,
No. 2 Binhai Road, Dapeng, Shenzhen, 58120 CHINA
Tel. 86-755-28438788; Fax: 86-755-28938800
e-mail: bella.lysbt@gmail.com; info@lysbt.com
www.lysbt.com

LOT. NO. 20140310

Data preparării: 25.03.2014

Data expirării: 24.09.2014





Dog ESFAg
Solutie tratare probe fecale
solutie 50ml
AD2014BA



Dog ESFAg
Substrat A 6 ml
AD2014BA



Dog ESFAg
30x solutie de spalare
solutie 20ml
AD2014BA



Dog ESFAg
Substrat B 6 ml
AD2014BA



Dog ESFAg
Diluant probe 6 ml
AD2014BA



Dog ESFAg
Control pozitiv 0.5ml
AD2014BA



Dog ESFAg
Conjugat enzimatic 6 ml
AD2014BA



Dog ESFAg
Control negativ 0.5ml
AD2014BA



Dog ESFAg
Solutie de stopare 6 ml
AD2014BA



Dog ESFAg
Microplaca captusita
96 godeuri
AD2014BA

CONFIDENTIAL