

Brucellosis Antibody Test Kit

Brucellosis Antibody Test Kit

**KIT DE DETECTIE ANTICORPI-ANTI BRUCELLA
UZ VETERINAR**

PROSPECT LIMBA ROMANA

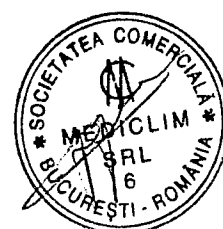
Test With Confidence*

IDEXX Brucellosis Serum
P04130-13

IDEXX

IDEXX Brucellosis Serum

1



De uz veterinar

Denumire si Utilizare

Kitul IDEXX Brucellosis Serum este un test imunoenzimatic pentru detectia anticorpilor anti -Brucella în probe de ser sau amestecuri de probe de ser provenite de la bovine (maxim 10 probe cumulate).

Informații generale

Bruceloza este o zoonoză, prezentă pe tot globul, cu implicații majore atât în sectorul de sănătate publică cât și în zootehnie. De cele mai multe ori, boala este produsă de *Brucella abortus* sau de *Brucella melitensis*. Clinic, se constată avorturi, iar agentul etiologic va fi excretat prin lapte. Oamenii se contaminatează prin contactul cu materiale contaminante (în mod special la manipularea de avortoni și produse conexe) sau prin consumul de produse contaminate (lapte, brânză). Simptomul principal este febra oscilantă, asociată cu complicații frecvente și grave ce apar mai ales în formele de evoluție cronică. Având în vedere amploarea acestei maladii, au fost implementate programe de screening pentru detecția animalelor bolnave și implicit eradicarea acestei boli. Screening-ul Brucelozei se face în principal prin teste serologice (Testul cu Roz Bengal, Testul de Aglutinare, R.F.C., Testul Inelar pe lapte "Milk Ring Test și Testul ELISA), acestea fiind singurele teste utilizate în programele de screening în masă.

Descriere și Principii

Microplăcile de testare sunt căptușite cu lipopolizaharide din Brucella (LPS). Probele ce urmează a fi testate sunt diluate și incubate în godeurile microplăcilor. După incubarea probelor în godeurile precăptușite, se vor forma complexe imune cu lipopolizaharidele din Brucella (Brucella LPS). După etapa de spălare, când se îndepărtează materialele nelegate de complexe imune, se adaugă conjugatul ce se va lega la complexul imun Brucella LPS-Anticorpi. Conjugatul nelegat la complex va fi îndepărtat prin încă o etapă de spălare, după care se adaugă substratul enzimatic (TMB). În prezența enzimei, Substratul este oxidat și culoarea dezvoltată inițial (albastru) devine galbenă după etapa de blocare/stopare. Intensitatea culorii dezvoltate este direct proporțională cu cantitatea de anticorpi prezentă în probă. Rezultatele finale se obțin prin compararea densității optice a probei cu cea a mediei controlului pozitiv. (vezi secțiunea Calcul și Interpretarea rezultatelor).



Reagenți

Toți reagenții din kit se păstrează la 2-8°C

Reagenți		Cantități	
1	Microplăci de testare precăptușite cu Brucella LPS	2	10
2	Control Pozitiv	1mL	1mL
3	Control Negativ	1mL	1mL
4a	Conjugat Concentrat (anti-rumegător IgG-HRPO)	1,5mL	1,5mL
4b	Soluție tampon de diluare N.1	120mL	120mL
5	Soluție tampon de diluare N.2	120mL	120mL
A	Substrat TMB N.13	60mL	60mL
B	Soluție de stopare	60mL	60mL
C	Soluție concentrată de spălare (20X)	100mL	2 X 100mL

Notă: vedeți tabelul din prospectul în limba engleză din cutie pentru simbolurile internaționale utilizate pe etichetele kiturilor.

Materiale necesare dar nefurnizate

- Centrifugă (capacitate 2000xg)
- Micropipete automate și multipipete automate (volumele de reagenți utilizate prezentate în "Protocolul de testare" necesită pipete cu o precizie mai mică sau egală cu 5%)
- Vârfuri de pipetă de unică folosință
- Agitator de microplăci
- Apa distilată sau deionizată
- Spălător de microplăci (manual, semi-automat sau automat)
- Protecții pentru microplăci (capace, folii de aluminiu sau folii adezive)
- Cititor de microplăci cu 96 de godeuri echipat cu filtru de 450nm

Precauții și avertismente pentru utilizatori

- Nu pipetați cu gura
- Utilizați mănuși și îmbrăcăminte de protecție adecvate
- Controalele, soluția Substrat TMB și Soluția de Spălare pot produce iritații oculare
- Soluția de Stopare poate produce arsuri severe ale pielii și leziuni oculare
- Toate reziduurile și deșeurile din testare trebuie decontaminate înainte de a fi îndepărtate în conformitate cu legislația locală și regională.

Prepararea reagenților

Soluția de Spălare

Soluția de spălare concentrată (20X) trebuie diluată 1:20 cu apă distilată sau deionizată înainte de utilizare (de exemplu: 15 mL de soluție de spălare concentrată (20X) în 285 mL de apă distilată). Soluția de spălare obținută după diluare se va numi "Soluție de Spălare".
Notă: Soluția de Spălare Concentrată (20X) trebuie adusă la 18-26°C și omogenizată foarte bine pentru dizolvarea precipitatelor de sare prezente în soluție. Soluția de spălare obținută este stabilă până la 3 zile de la preparare dacă este păstrată la 2-8°C.

Conjugatul

Conjugatul Concentrat trebuie să fie:

- Diluat 1:100 în soluția tampon de diluție N.1 dacă se utilizează protocolul scurt pentru incubarea probei
- Diluat 1:200 în soluția tampon de diluție N.1 dacă se utilizează protocolul lung cu incubarea probei peste noapte

Notă: soluția de conjugat diluată este stabilă până la 8 ore dacă este păstrată la 18-26°C.

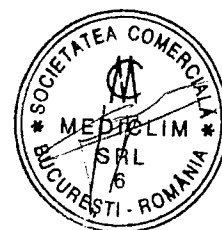
Protocol de testare

Toți reagenții furnizați în kit trebuie lăsați să se echilibreze la temperatura camerei 18-26°C înainte de utilizare.

Reagenții trebuie omogenizați ușor. Utilizați vârfuri de pipetă separate pentru fiecare probă în parte. Serurile de control pot fi puse oriunde în microplaca de testare.

Se scot microplăcile de testare din folia protectoare și se notează în caietul de lucru poziția fiecărei probe.

1. Puneți 190 μ L de Soluție Tampon de Diluare N.2 în fiecare godeu
2. Adăugați 10 μ L de Control NEGATIV NEDILUAT într-un godeu
3. Adăugați 10 μ L de Control POZITIV NEDILUAT în două godeuri
4. Puneți 10 μ L de probă NEDILUATĂ în restul godeurilor de pe microplacă
5. Omogenizați conținutul godeurilor cu ajutorul agitatorului de microplăci
6. Acoperiți microplaca (cu un capac de plastic, o folie de protecție de aluminiu sau o folie adezivă) și incubați-o pentru:
 - Probe individuale: 1 oră (+/- 5 minute) la 18-26°C (protocolul scurt) sau 16-24 ore la 18-26°C (incubare peste noapte)
 - Amestecuri de probe: 1 oră (+/- 5 minute) la 18-26°C (protocolul scurt de incubare)
7. Spălați fiecare godeu cu aproximativ 300 μ L de soluție de spălare de trei ori. Aspirați conținutul godeurilor după fiecare spălare. După ultima aspirare/îndepărtare a conținutului, microplaca se usucă înainte de adăugarea următorului reagent.
8. Adăugați 100 μ L de conjugat diluat în fiecare godeu
9. Acoperiți microplaca (cu un capac de plastic, folie de aluminiu, folie adezivă) și incubați proba pentru 30 de minute (+/- 3 minute) la 18-26°C
10. Se repetă etapa 7 din protocol





11. Se adaugă 100μL de soluție substrat TMB N.13 în fiecare godeu
12. Se incubează 20 minute (+/-3 minute) la 18-26°C la întuneric.
13. Se adaugă 100μL de soluție de stopare N.3 în fiecare godeu. Se agită manual, ușor microplaca pentru omogenizare. Se șterge microplaca de eventualele picături.
14. Se fixează blank-ul cititorului în raport cu aerul
15. Se măsoară și se înregistrează valorile densităților optice ale probelor și controalelor obținute la o lungime de undă de 450nm
16. Se calculează rezultatele

Notă: Când se utilizează sisteme automate de testare, în camera de incubare, plăcile nu vor mai necesita folie adezivă sau capace. Utilizarea sistemelor automate nu este compatibilă cu agitarea ușoară manuală sau îndepărtarea manuală a reziduurilor de pe placă. Plăcile pot fi ținute până la o oră la întuneric înainte de citire.

Rezultate

Pentru ca testul sa fie validat, media DO ale Controlului Pozitiv (PCx) trebuie să fie mai mare sau egală cu 0.350.

Adițional, raportul dintre Media Controlului Pozitiv (PCx) și cea a Controlului Negativ (Ncx) trebuie să fie mai mare sau egală cu 3.00

Notă: IDEXX deține sistemele de interpretare și software ce permit calcularea mediilor și a valorilor procentuale și care asigură obținerea datelor finale.

Calcul

Calculul raportului Probă la Control Pozitiv pentru fiecare probă:

Media Controlului Pozitiv

$$CPx = \frac{CP1A450 + CP2A450}{2}$$

Calculul pentru probele testate

$$S/P = 100 \times \frac{Pr obaA450 - CNA450}{CPx - CNA450}$$

Interpretarea rezultatelor

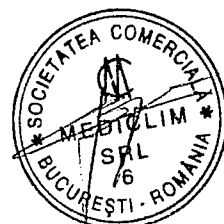
Probe de ser individuale

- Probele cu un raport S/P mai mic sau egal cu 110% sunt considerate **NEGATIVE** la anticorpi anti Brucella
- Probele cu un raport S/P mai mare sau egal cu 110% și mai mic de 120% sunt considerate **SUSPECTE**
- Probele cu un raport S/P mai mare sau egal cu 120% sunt considerate **POZITIVE** la Anticorpi anti Brucella

*Cumul de probe

- Probele cu un raport S/P mai mic decât 20% sunt considerate **NEGATIVE** la prezența anticorpilor Brucella
- Probele cu un raport S/P mai mare sau egal cu 20% sunt considerate **POZITIVE** la prezența anticorpilor Brucella.

* Modificări în instrucțiunile de lucru



Rezumatul protocolului de testare

IDEXX va recomanda sa consultati protocolul de testare inainte de efectuarea testului.

ETAPA	ACTIUNI SPECIFICE
1. prepararea reagentilor	Solutia de spalare concentrata (20X) se dilueaza 1:20 cu apa distilata sau deionizata inainte de utilizare (de exemplu pentru 15 mL de solutie concentrata se adauga 285 de apa distilata) Conjugatul concentrat se dilueaza : - 1:100 in solutia tampon de diluare N.1 daca se utilizeaza protocolul scurt de incubare - 1:200 in solutia tampon de diluare N.1 daca se utilizeaza protocolul de incubare peste noapte
2. distributia probelor	Se distribuie 190 µL de solutie tampon de diluare N.2 in fiecare godeu Se distribuie 10 µL de CONTROL NEGATIV NEDILUAT intr-un godeu Se distribuie 10 µL de CONTROL POZITIV NEDILUAT in doua godeuri Se distribuie 10 µL din probe in restul godeurilor de pe microplaca Se omogenizeaza continutul pe agitatorul de microplaci.
3. incubarea probelor	Microplaca se acopera cu un capac, folie de aluminiu sau folie adeziva si se incubeaza : - probe individuale : o ora (+/-5 minute) la 18-26°C (protocol scurt) sau 16-24 ore la 18-26°C (protocol lung de incubare) - cumul de probe: o ora (+/-5 minute) la 18-26°C (protocol scurt)
4. spalarea microplacii	Fiecare godeu se spala de trei ori cu cate 300 µL de solutie de spalare .
5. distributia conjugatului	Se distribuie in fiecare godeu cate 100 µL de conjugat diluat
6. Incubarea conjugatului	Acoperit placa (capac, folie de aluminiu sau folie adeziva) si incubati pentru 30 de minute (+/-3 minute) la 18-26°C la intuneric
7. se repeta etapa 4	
8. distributia substratului	Se distribuie in fiecare godeu cate 100 µL de solutie substrat TMB N.13
9. incubarea cu substrat	Microplaca se incubeaza 30 de minute (+/-3 minute) la 18-26°C la intuneric
10. stoparea reactiei	Se distribuie 100 µL de solutie de stopare N.3 in fiecare godeu
11. masurarea densitatilor optice	Citirea se face faţă de aer . Se masoara si se inregistreaza densitatile optice ale probelor si controalelor la 450nm
12. interpretare (S/P procent)	Probe de ser individuale - Probele cu un raport S/P mai mic sau egal cu 110% sunt considerate NEGATIVE la anticorpi anti Brucella - Probele cu un raport S/P mai mare sau egal cu 110% si mai mic de 120% sunt considerate SUSPECTE - Probele cu un raport S/P mai mare sau egal cu 120% sunt considerate POZITIVE la Anticorpi anti Brucella * Cumul de probe - Probele cu un raport S/P mai mic decat 20% sunt considerate NEGATIVE la prezenta anticorpilor Brucella - Probele cu un raport S/P mai mare sau egal cu 20% sunt considerate POZITIVE la prezenta anticorpilor Brucella. * Modificari in instructiunile de lucru

Produs de:
IDEXX Montpellier SAS
326 rue de la Galera – Parc Euromedicine
34090 Montpellier, Franța

Pentru asistență tehnică:
Contactați managerul local IDEXX sau distribuitorul sau vizitați:
www.idexx.com/production/contact
Suport tehnic IDEXX: 00-800-727-43399

*IDEXX și Test With Confidence sunt marcă înregistrată a IDEXX Laboratories, Inc., sau a afiliatelor sale din Statele Unite și/sau alte țări

