

INGEZIM BRUCELLA PORCINA

Prod Ref: 11.BP.K.1

Test imunoenzimatic indirect pentru detectarea specifica a
anticorpilor Brucella in probele de ser porcin.

Ultima revizie: 27-05-13
Nr. inregistrare in Spania: 3462-RD

NGACK ROMANIA S.R.L.
Ion Idureanu 34, Sect 5
Bucharest
tel. +40 / 21 / 317 66 70
fax +40 / 21 / 316 66 52
www.ngackgroup.com (2)

ROMANA

INGEZIM BRUCELLA PORCINA
11.BP.K.1

COMPOZITIA KITULUI ELISA

Reagent	PREZENTARE (2 Placi)		PREZENTARE (5 Placi)	
	Uni.	Vol.	Uni.	Vol.
Placi de microtitrare captusite, cu 96 godeuri (divizate in 12 stripuri x 8 godeuri fiecare)	2	-	5	-
Fiacon Ser Control Pozitiv	1	0,25 ml	1	0,25 ml
Fiacon Ser Control Negativ	1	0,25 ml	1	0,25 ml
Fiacon cu Conjugat (100x concentrat)	1	0,35 ml	2	0,35 ml
Sticla cu Solutie de Spalare (25x concentrat)	1	125 ml	1	125 ml
Sticla cu Diluent DE14	1	125 ml	3	125 ml
Sticla cu Substrat (TMB) gata de utilizare	1	30 ml	1	60 ml
Sticla cu Solutie de Stopare	1	60 ml	1	60 ml

ALTE MATERIALE SI REAGENTI NECESARI CE NU SUNT FURNIZATI IN KIT:

Apa distilata sau deionizata.
 Micropipeta cu volum variabil 5 - 200 μ l.
 Varfuri de pipeta de unica folosinta.
 Aparat pentru spalarea placilor.
 Tuburi de testare 50 - 250 ml
 Cititor ELISA (cu filtru 450 nm)
 Placa de microtitrare goala

I. BAZA TEHNICA

Speciile de Brucella au doua componente antigene principale. Una dintre acestea este un complex de proteine polizaharide LPS-S cu activitate endotoxica, responsabila de specificitatea aglutinarii și este componenta antigenica majora. A doua este o polizaharida (poli-B) fara activitate endotoxica si fara rol relevant in testul de aglutinare.

Kitul INGEZIM BRUCELLA se bazeaza pe un test imunoenzimatic indirect descris mai jos:

Antigenul este fixat pe un suport solid (placa de polistiren). Antigenul utilizat este un extract purificat din LPS de Brucella. Proba de ser se adauga in fiecare godeu. Dupa incubare si spalare, se adauga un anticorp monoclonal marcat (conjugat cu peroxidaza) specific IgG de porc. Daca proba serica contine anticorpi impotriva Brucella, conjugatul se va lega de placă, in timp ce, daca nu continte anticorpi specifici, nu se va observa nici o legare a conjugatului.

Dupa spalarea placii pentru a elibera orice material nefixat, putem detecta prezenta sau absenta conjugatului marcat prin adaugarea substratului care, in prezența peroxidazei va produce o reacție colorimetrica.

II. PRECAUTII SI AVERTIZARI PENTRU UTILIZATORI:

1. Cititi cu atentie instructiunile de folosire.
2. Aduceti toti reagentii la temperatura camerei (20°C - 25°C) inainte de utilizare.
3. Nu amestecați instructiunile sau reagentii de la kituri diferite.
4. Evitati orice contaminare a reagentilor din kit.
5. Nu folositi componente din kit dupa expirare si nu amestecați componentele ce aparțin unor kituri sau loturi diferite.
6. Nu mancati, nu beti si nu fumati in locul in care manipulati probele sau reagentii kitului.
7. Nu pipetati cu gura.
8. Folositi un varf nou pentru fiecare proba de ser.
9. Substratul si substratul tampon trebuie manipulate cu grija.
10. La fiecare utilizare a kitului, serurile de control pozitiv si negativ trebuie testate in mod sistematic.
11. Solutia de Stopare poate precipita la $+4^{\circ}\text{C}$. Cand se intampla, se incalzeste la 37°C inainte de utilizare.

III. DEPOZITAREA COMPONENTELOR KITULUI

Placile si reagentii trebuie pastrati intre $+2^{\circ}\text{C}$ si $+8^{\circ}\text{C}$.

Odata deschise, serurile de control sunt stabile pentru o luna. In cazul in care nu vor fi utilizate in aceasta perioada, va recomandam sa le păstrezi la -20°C .

IV. INFORMATII DESPRE ETAPELE DE SPALARE

Etapele de spalare pot fi realizate folosind un spalator automat sau o pipeta multicanal potrivita pentru distribuirea a 300 μl in fiecare godeu.

Dupa perioadele de incubare, trebuie sa se efectueze etapele de spalare urmand instructiunile de mai jos:

- Aruncați continutul godeurilor printr-o miscare brusca de răsturnare a placii, pentru a evita o posibilă amestecare a continutului de la un godeu la altul.
- Distribuiți un volum de 300 μl de solutie de spalare in fiecare godeu.
- Agitați usor placă, evitând contaminarea între godeuri.
- Răsturnați brusc placă pentru golirea godeurilor.
- Repetăți procesul de cate ori este indicat în instrucțiunile kitului.
- Înaintea golirii continutului ultimei etape de spalare, verificați că următorul reagent ce trebuie adăugat în placă să fie gata de utilizare. Nu lăsați placă să se usuze mai mult decât este necesar.
- Dupa ultima etapa de spalare, răsturnați placă pe o hartie de filtru absorbantă și loviți-o usor.

V. PREPARAREA REAGENTILOR

- **Solutia de Spalare:**

Diluați o parte din soluția de spalare concentrată furnizată în kit, cu 24 parti de apă distilată sau deionizată. Când este gata, aceasta rămâne stabila la $+4^{\circ}\text{C}$.

- **Prepararea Conjugatului (se va face imediat înaintea utilizării):**

Uriați cantitatea necesară de conjugat furnizat în kit în proporție de 1/100 cu diluent:

- Cantitatea necesara si suficienta de conjugat pentru o placă completă este de 110 μl de conjugat in 11 ml diluent.
- Cantitatea necesara si suficienta de conjugat pentru un strip cu 8 godeuri este de 10 μl de conjugat in 1ml diluent.

Agitați foarte bine soluția înainte de folosire. Preparați numai cantitatea necesară pentru fiecare folosire deoarece volumul ramas trebuie aruncat.

- **Seruri de Control:**

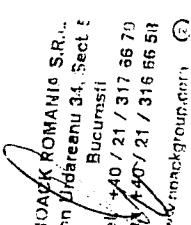
Serurile de Control sunt folosite ca probe. Trebuie să faceti diluție 1/25 în diluent. Dupa deschidere, controalele sunt stabilă intre $+2^{\circ}\text{C}$ si $+8^{\circ}\text{C}$ timp de 4 saptamani. In caz contrar, recomandam alicotarea si depozitarea lor la -20°C .

VI. PREPARAREA PROBELOR

Probele serice trebuie să fie la o diluție de 1/25. Se recomanda efectuarea acestei diluții într-o placă goală (ex: 240 μl de diluent și 10 μl din fiecare ser, probe sau controale). Agitați bine pentru a omogeniza și adăugați 100 μl / godeu.

VII. PROCEDURA DE LUCRU

1. Toti reagentii (cu excepția conjugatului) trebuie lăsați să ajungă la temperatura camerei înainte de utilizare.
2. Adaugăți 100 μl de serum diluat de control pozitiv și negativ în godeurile respective. Adaugăți probele (diluate după cum se specifică în instrucțiunile anterioare) în godeurile ramase ale placii. Va recomandam (nu este obligatoriu) să lucrați probele și controalele în duplicat în scopuri de confirmare. Incubați placă timp de 1 ora la temperatura camerei ($20\text{-}25^{\circ}\text{C}$).
3. Spalați de 4 ori respectând procedura descrisă.
4. Adaugăți 100 μl de Conjugat (preparat conform instrucțiunilor anterioare) în fiecare godeu. Incubați placă pentru 30 minute la temperatura camerei ($+25^{\circ}\text{C}$).
5. Spalați de 5 ori respectând procedura descrisă.



5. Adaugati 100 μ l de Substrat in fiecare godeu. Tineti placa la intuneric timp de 5 min la temperatura camerei.
6. Adaugati 100 μ l de Solutie de Stopare in fiecare godeu.
7. Cititi densitatea optica (DO) a fiecarui godeu cu un spectrofotometru la 450 nm in decurs de 5 min dupa adaugarea Solutiei de Stopare.

VIII. CITIREA SI INTERPRETAREA REZULTATELOR

Citirea trebuie facuta cu un spectrofotometru la **450 nm**.

A. Validarea rezultatelor:

Testul este considerat valid cand:

Valoarea DO a serului de control pozitiv este mai mare decat 1.0 si valoarea DO a serului de control negativ este mai mica decat 0.3.

B. Calcularea S/P:

$$S/P = DO \text{ proba}/DO \text{ control} +$$

C. Interpretarea rezultatelor:

Cand lucrati probele in duplicat, valorile DO vor fi calculate pentru fiecare proba ca media aritmetica a ambelor valori.

- Toate probele cu S / P mai mare sau egal cu 0,25 trebuie considerate pozitive.
- Toate probele cu valoare S / P mai mica de 0,25 trebuie considerate negative.
- LPS de Brucella și Yersinia O9 impart antigeni determinanti similari, astfel incat se pot obtine reactii incrucisate.

NOACK

NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Unarceanu 34, Sector 1
Bucuresti
Tel. +40 21 / 317 66 70
Fax +40 21 / 316 66 55
www.noackgroup.com

)
Fabricat si dezvoltat in Spania de :

INMUNOLOGIA Y GENETICA APLICADA, S.A.
C/ Hnos. Garcia Noblejas, 39
28037- MADRID (SPAIN)
Tlf: +34 91.368.05.01/04
Fax: +34 91 408.75.98
E-mail: ingenasa@ingenasa.com
www.ingenasa.es

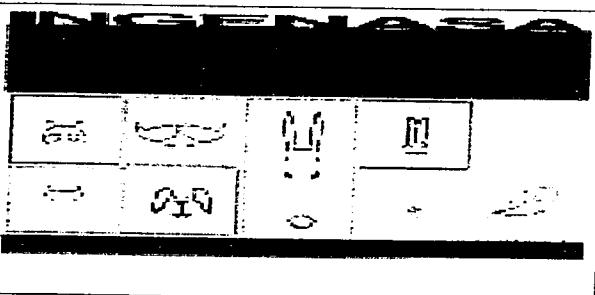


Distribuit in Romania de:

NOACK ROMANIA SRL
Ion Urdareanu Nr. 34, Sector 5
050688 - Bucuresti (Romania)
Tel: +40 21.317.66.70
Fax: +40 21.316.66.58
E-mail: office@noack.ro
www.noackgroup.com

NOACK
NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Urdareanu 34, Sect 5
Bucuresti
tel. +40 21 / 317 66 70
fax: +40 21 / 316 66 58
www.noackgroup.com ©

ETICHETE



INgezim BRUCELLA

PLACA CAPTUSITA cu Antigen LPS

Pastrare la +2°C la +8°C
Ref: 1.1. BP.K1
Lot:
Exp:

INGEZIM Brucella Porcino 1.2.BP.K.1		
Lot: Exp:	Pastrare la	+2°C la +8°C
PREZENTARE		
<input type="checkbox"/> Kit cu 2 placi	<input type="checkbox"/> Kit cu 5 placi	

INgezim BRUCELLA

SER DE CONTROL POZITIV

Pastrare la
+2°C la +8°C
Ref: 1.1. BP.K1
Lot:
Exp:

CONJUGAT

Conjugat cu
peroxidaza marcat cu
MAb porcini IgG
Pastrare la
+2°C la +8°C
Ref: 1.1. BP.K.1
Lot:
Exp:

INgezim BRUCELLA

SER DE CONTROL NEGATIV

Pastrare la
+2°C la +8°C
Ref: 1.1. BP.K1
Lot:
Exp:

DILUENT 14

Diluent gata de utilizare
Pastrare la + 4 °C
Ref: DE14-01
Lot:
Exp:

COMPONENTELE KIT-ULUI

Placi captusite (8x12 godeuri)
Conjugat cu peroxidaza
Ser de control pozitiv
Ser de control negativ
Diluent (DE14-01)
Solutie de stopare
Substrat (TMB)
Solutie de spalare 25 x concentrat

SUBSTRAT TMB

Gata de utilizare
Pastrare la +2°C la +8°C
Ref: SU01-01
Lot:
Exp:

SOLUTIE DE STOPARE 01

Pentru substrat TMB
(Acid Sulfuric)
Pastrare la + 4 °C
Ref: SF01-01
Lot:
Exp:

INGEZIM Brucella Porcino 1.2.BP.K.1

Lot: Exp:	Pastrare la	+2°C la +8°C
--------------	----------------	--------------

SOLUTIE DE SPALARE

Solutie de spalare concentrata 25x.
Inainte de folosire se dilueaza cu apa distilata.
Pastrare la +2°C la +8°C
Ref: WB01-25
Lot:
Exp:



NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Urdareanu 34, Sect. 5
Bucuresti
Tel: +40 21 / 317 66 70
Fax: +40 21 / 316 66 58
www.noack.ro