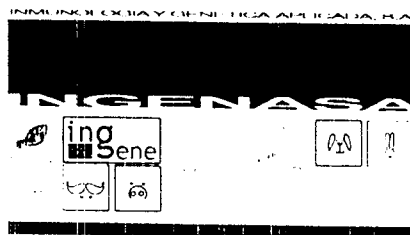


**INGEZIM PPA COMPAC**  
**11.PPA.K3**



## **INGEZIM PPA COMPAC**

Prod Ref: 11.PPA.K3

Test imunoenzimatic de blocare pentru detectia anticorpilor specifici virusului  
Pestei Porcine Africane (PPA) in serul porcin.

Ultima versiune: 18-12-18  
Nr. Inregistrare in Spania 335 RD

**Versiunea 18-12-18:**  
**! pentru probe se utilizeaza un nou diluent DE31**

**NOACK**  
NOACK ROMANIA S.R.L.  
Calea Vilina 23 C. etaj 4  
Sect. 3, Bucuresti  
Tel: +40 121 137 66 70  
Fax: +40 121 137 66 58  
www.noackgroup.com

**INGEZIM PPA COMPAC**  
**11.PPA.K3**

**COMPONENTA KITULUI:**

Reagent	Kit x 2 placi (2x8x12 godeuri)		Kit x 5 placi (5x8x12 godeuri)	
	Uni.	Vol.	Uni.	Vol.
Placi de microtitrare cu 96 godeuri, captusite (divizate in 12 stripuri x 8 godeuri fiecare)	2	-	5	-
Flacoane cu ser de control pozitiv inactivat	1	1 ml	2	1 ml
Flacoane cu ser de control negativ	1	1 ml	2	1 ml
Flacoane cu Conjugat peroxidaza (100x concentrat)	1	350 µl	2	350 µl
Sticle cu Solutie de spalare (25x concentrat)	1	125 ml	1	125 ml
Sticle cu Diluent pt conjugat (DE01-1) gata de utilizare	1	125 ml	1	125 ml
Sticle cu Diluent pt probe (DE31-1) gata de utilizare	1	60 ml	1	60 ml
Sticle cu Substrat (TMB)	1	30 ml	1	60 ml
Sticle 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 µl.
- Varfuri de pipeta de unica folosinta.
- Aparat pentru spalarea placilor.
- Tuburi de testare 50 - 250 ml
- Cititor ELISA (cu filtru 450 nm)

**NOACK**

NOACK ROMANIA S.R.L.  
Calea Vitan 23 C. Etaj 4  
Sector 3 Bucuresti  
Tel. +40 21 316 66 70  
Fax. +40 21 316 66 58  
www.noackgroup.com

## I. BAZA TEHNICA

Acest kit se bazeaza pe un test imunoenzimatic de blocare (Blocking Elisa). Mai jos facem o scurta descriere a tehnicii: Antigenul este fixat intr-un suport solid (placa de polistiren). Cand serul de proba contine anticorpi specifici impotriva virusului acestia se vor lega la antigenul absorbit pe placa, iar daca proba de ser nu contine anticorpi specifici acestia nu se vor lega la antigen. Daca adaugam un anticorp monoclonal specific (Mab) fata de antigenul viral ce captuseste placa (conjugat cu peroxidaza), el va intra in competitie cu anticorpul din ser. Daca probele de ser contin anticorpi specifici, ei nu vor permite legarea la antigen a anticorpului monoclonal (Mab), iar daca serul nu contine anticorpi specifici, anticorpul monoclonal (Mab) se vor lega de antigenul de pe placa. Dupa spalarea placii pentru a elimina toate materialele nelegate, putem detecta prezenta sau absenta anticorpilor monoclonali (Mab), prin adaugarea substratului specific care in prezenta peroxidazei va dezvolta o reactie colorimetrica. Antigenul cu care este captusita placa din kitul nostru consta dintr-un extract proteic purificat din virus (VP72), care este proteina structurala majora din PPA si cea mai antigenica.

## II. PRECAUTII SI AVERTIZARI PENTRU UTILIZATORI:

1. Cititi cu atentie instructiunile de folosire.
2. Aduceti toti reagentii la temperatura camerei (20°- 25°C), inainte de utilizare.
3. Nu amestecati instructiunile sau reagentii de la kituri diferite.
4. Evitati orice contaminare a reagentilor din kit.
5. Nu folositi componentele kitului dupa expirarea acestora si nu amestecati componentele ce apartin 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. La fiecare utilizare a kitului, serurile de control pozitiv si negativ trebuie testate in mod sistematic.
10. Substratul trebuie manipulat cu grija deoarece este foarte sensibil la lumina si contaminare.
11. Solutia de stopare este un acid puternic. Manipulati cu grija.

## III. DEPOZITAREA COMPONENTELOR KITULUI

Toti reagentii si placile trebuie pastrate intre +2°C si +8°C.

Odata deschise, serurile de control sunt stabile pentru o luna intre +2°C si +8°C. In cazul in care nu vor fi utilizate in aceasta perioada, va recomandam sa le pastrati sub -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 urmatoare:

- Aruncati continutul godeurilor printr-o miscare brusca de rasturnare a placii, pentru a evita o posibila amestecare a continutului unui godeu cu a celorlalte godeuri.
- Distribuiti un volum de 300 µl de solutie de spalare in fiecare godeu.
- Agitati usor placa, evitand contaminarea intre godeuri.
- Rasturnati brusc placa pentru golirea godeurilor.
- Repetati procesul de cate ori este indicat in instructiunile kitului.
- Anterior golirii continutului ultimei etape de spalare, verificati ca urmatorul reagent ce trebuie adaugat in placa sa fie gata de utilizare. Nu lasati placa sa se usuce mai mult timp decat este strict necesar.



NOACK ROMANIA S.R.L.  
Calea Vitan 73, Etaj 4  
Sect. 3, Bucuresti  
Tel. +40 (0) 21 316 66 00  
Fax. +40 (0) 21 316 66 58

www.noackgroup.com

INGEZIM PPA COMPAC  
11.PPA.K3

- După ultima etapa de spalare rasturnati placa pe o hartie absorbanta si loviti-o usor.

## V. PREPARAREA PROBELOR

Probele care se utilizeaza in analiza trebuie sa fie seruri porcine. **Nu utilizați probe foarte hemolizate sau contaminate. S-ar putea obține rezultate fals pozitive.** Pentru a fi testate trebuie sa se faca o dilutie de ½ in diluentul furnizat (DE31).

Aceasta dilutie se poate face direct pe placa prin adaugarea a 50 µl de diluent pt. probe (DE31) si 50 µl de ser in fiecare godeu.

## VI. PREPARAREA REAGENTILOR

- **Solutia de spalare:**

Diluati o parte din solutia de spalare concentrata, furnizata de kit, cu 24 parti de apa distilata sau deionizata (ex. 40 ml de sol. concentrata si 960 ml de H<sub>2</sub>O). Cand este gata, aceasta ramane stabila daca este depozitata intre +2°C si +8°C pana la data de expirare indicata pe eticheta solutiei concentrate.

- **Serurile de control:**

Odata deschise, serurile de control sunt stabile pentru o luna la temperatura intre +2°C si +8°C. In cazul in care nu se utilizeaza in aceasta perioada, recomandam depozitarea lor la temperatura sub -20°C.

Serurile de control trebuie diluate ½ in diluent inainte de utilizare, in acelasi mod ca si probele (puteti face dilutia direct pe placa prin adaugarea a 50 µl de diluent plus 50 µl de ser de control).

- **Prepararea conjugatului: se va face imediat inaintea utilizarii.**

Diluati cantitatea necesara de conjugat furnizat in kit in proportie de 1/100 cu diluentul pt. conjugat (DE01) (ex. 110 µl de conjugat in 11 ml de diluent pt. conjugat, este cantitatea suficienta pentru o placa).

Agitati foarte bine solutia inainte de folosire. Preparati doar cantitatea necesara la fiecare testare, deoarece volumul de solutie ramas trebuie aruncat.

## VII. PROCEDURA DE LUCRU

1. Toti reagentii (cu exceptia conjugatului) trebuie lasati sa ajunga la temperatura camerei (20-25°C) inainte de utilizare.
2. Adaugati 50 µl de diluent in fiecare godeu. Adaugati 50 µl din serul de control pozitiv in doua godeuri (ex. A1 si B1), si 50 µl din serul de control negativ (ex. A2 si B2). Adaugati 50 µl din serul de proba pt testare, in fiecare godeu ramas. Va recomandam utilizarea a doua godeuri pentru fiecare control. Sigilati placa si **incubati timp de 1 h±5min la 36±1°C, sau peste noapte (16-20 ore) la 20-25°C.**
3. Goliti continutul godeurilor intr-un container cu solutie NaOH si spalati de 4 ori asa cum este specificat la pct. IV.
4. Adaugati 100 µl de conjugat specific (preparat dupa instructiunile anterioare), in fiecare godeu. Sigilati placa si **incubati pentru 30 minute la 36±1°C.**
5. Spalati de 5 ori asa cum s-a specificat anterior.
6. Adaugati 100 µl de substrat, in fiecare godeu. Pastrati placa pentru 15 min la temperatura camerei (20-25°C).
7. Adaugati 100 µl de solutie de stopare, in fiecare godeu.
8. Cititi densitatea optica (DO) a fiecarui godeu la 450 nm in interval de 5 min dupa adaugarea solutiei de spalare.

NOACK

NOACK ROMANIA S.R.L.  
Calea Vitan 23 C. etaj 4  
Sector 3, Bucuresti  
Tel. +40 781 317 66 70  
Fax: +40 721 316 66 58  
www.noackgroup.com

## VIII. CITIREA SI INTERPRETAREA REZULTATELOR

### *Validarea testului*

Testul poate fi considerat valid atunci cand valoarea DO a Controlului Negativ (NC) este de cel putin 4 ori mai mare decat valoarea DO a Controlului Pozitiv (PC):

$$CN / CP \geq 4$$

### Interpretarea:

#### **A. - calcularea Cut off:**

$$\text{Cut Off Pozitiv} = NC - [(NC - PC) \times 0.5]$$

$$\text{Cut Off Negativ} = NC - [(NC - PC) \times 0.4]$$

Unde: NC = DO a Serului Control Negativ

PC = DO a Serului Control Pozitiv

Calcularea procentului de blocare (x %) a unei probe:

$$X\% = \frac{NC - DO \text{ PROBA}}{NC - PC} \times 100$$

≥ 50% , pozitiv

≤ 40% , negativ

Intre cele doua valori, incert (dubios)

#### **B. - Interpretarea Rezultatelor:**

Cand testati in duplicat, valoarea DO a probei va fi calculata ca valoarea aritmetica a valorilor DO a celor doua godeuri.

- Probele de ser cu valoare DO mai mica decat Cut Off Pozitiv, sunt considerate ca POZITIVE la anticorpii PPA.
- Probele de ser cu valoare DO mai mare decat Cut Off Negativ, vor fi considerate NEGATIVE la anticorpii PPA.
- Probele de ser cu valoare DO intre cele doua valori Cut off sunt considerate ca incerte (dubioase).  
Recomandam retestarea pe noi probe de ser, sau aplicarea unei tehnici diferite pentru a verifica acest ser (IFI, Indirect ELISA, etc.).

Dezvoltat si fabricat in Spania de:

**INMUNOLOGIA Y GENETICA APLICADA, S.A.**

C/ Hnos. García Noblejas, 39

28037- MADRID (SPAIN)

Tel: +34 91368.05.01/04

Fax: +34 91 408.75.98

E-mail: ingenasa@ingenasa.com

[www.ingenasa.es](http://www.ingenasa.es)

Distribuit in ROMANIA de:

**NOACK ROMANIA SRL**

Calea Vitan nr. 23 C, Et.4, Sect.3

Bucuresti

Tel: +40 021.317.66.70

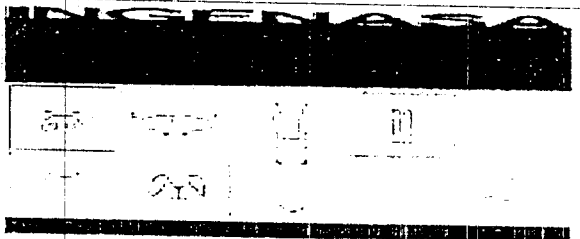
Fax: +40 021.316.66.58

E-mail: office@noack.ro

[www.noackgroup.com](http://www.noackgroup.com)

NOACK ROMANIA S.R.L.  
Calea Vitan 23 C, etaj 4  
Sect. 3, Bucuresti  
Tel. +40 021 / 317 66 70  
Fax. +40 / 21 / 316 66 58  
[www.noackgroup.com](http://www.noackgroup.com)

ETICHETE



**INGEZIM PPA COMPAC  
11.PPA.K.3**

Lot:  
Exp:

Pastrare: +2°C la + 8°C

**PREZENTARE**

Kit cu 2 placi

Kit cu 5 placi

**COMPONENTELE KIT-ULUI**

Placi captusite (8x12 godeuri)  
Conjugat cu peroxidaza  
Ser de control pozitiv  
Ser de control negativ  
Diluent pt Conjugat (DE01-01)  
Diluent pt Proba (DE31-01)  
Solutie de stopare  
Substrat (TMB)  
Solutie de spalare 25 x concentrat

**INGEZIM PPA COMPAC  
11.PPA.K.3**

Lot:  
Exp:

Inregistrare 335 RD

**INGEZIM PPA Compac**

**PLACA CAPTUSITA cu Antigen Proteina VP72**

Pastrare la +2°C la +8°C

Ref. 11.PPA.K3  
Lot:  
Exp:

**INGEZIM PPA  
Compac**

**SER CONTROL  
POZITIV**

Pastrare la  
+2°C la +8°C

Ref. 11.PPA.K3  
Lot:  
Exp:

**INGEZIM PPA  
Compac**

**SER CONTROL  
NEGATIV**

Pastrare la  
+2°C la +8°C

Ref. 11.PPA.K3  
Lot:  
Exp:

**CONJUGAT**

Conjugat cu  
peroxidaza MAb  
specific la proteina  
VP72 in ASFV  
concentrat 100x

Pastrare la  
+2°C la +8°C

Ref. 11.PPA.K.3  
Lot:  
Exp:

**SOLUTIE DE STOPARE 01**

Pentru substrat TMB  
(Acid Sulfuric)  
Pastrare la +2°C la +8°C  
Ref. SF01-01  
Lot:  
Exp:

**DILUENT 01**

Diluent gata de utilizare  
Pastrare la +2°C la +8°C  
Ref. DE01-01  
Lot:  
Exp:

**DILUENT 31**

Diluent gata de utilizare  
Pastrare la +2°C la +8°C  
Ref. DE31-01  
Lot:  
Exp:

**SUBSTRAT TMB**

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

**SOLUTIE DE SPALARE**

Solutie de spalare concentrata 25x.  
Inainte de folosire se dilueaza cu apa distilata  
Pastrare la +2°C la +8°C  
Ref. WS01-25  
Lot:  
Exp:

**NOACK**

NOACK ROMANIA S.A.  
Calea Timisoarei, etaj 4  
1000 Bucuresti  
Tel. +40 21 31 166 70  
Fax. +40 21 316 66 58  
www.noackgroup.com