



INGEZIM® PPA COMPAC

Prod Ref: 11.PPA.K3

Test imunoenzimatic de blocare pentru detectia anticorpilor specifici virusului Pestei Porcine Africane (PPA) in serul porcin (porci domestici, mistreti, etc).

Versiune Doc:26.02.2024
Nº de inregistrare in Spania: 0335-RD

**GOLD
STANDARD
DIAGNOSTICS**

NOACK

NOACK ROMANIA S.R.L.
Calea Bucuresti 25 C, etaj 4
Sector 3, Bucuresti
Tel: +40 (0)21 2316 66 70
Fax: +40 (0)21 2316 66 58
www.noackgold.com

KIT COMPOSITION

REAGENT

Placi Microtitrare		
Flacoane cu Control Pozitiv		
Flacoane cu Control Negativ		
Flacoane cu Conjugat Peroxidaza 100x concentrat		
Sticle cu Solutie de Spalare 25x concentrat		
Sticle cu Diluent (DE01-01), gata de utilizare		
Sticle cu Diluent (DE31-01), gata de utilizare		
Sticle cu Substrat (TMB), gata de utilizare		
Sticle cu Solutie de Stopare, gata de utilizare		

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
Citor ELISA (cu filtru 450 nm)

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 captureaza placa (conjugat cu peroxidaza), el va intra in competitie cu anticorpii 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, anticorpii monoclonali (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.

PRECAUTII SI AVERTIZARI PENTRU UTILIZATORI

1. Cititi cu atentie instructiunile de folosire.
2. Aduceti toti reagentii la temperatura camerei, inainte de utilizare.
3. Nu amestecati instructiunile sau reagentii de la kituri diferite si evitati orice contaminare a reagentilor.
4. Nu folositi componentele kitului dupa expirarea acestora si nu amestecati componentele de la loturi diferite.
5. Nu mancati, nu beti si nu fumati in locul in care manipulati probele sau reagentii kitului si un pipetati cu gura.
6. Folositi un varf nou pentru fiecare proba de ser.
7. Substratul este extrem de sensibil la lumina si contaminare, deci este recomandat sa pregatiti numai volumele pe care urmeaza sa le folositi si nu returnati niciodata in sticla volumul de substrat in exces.
8. Solutia de Stopare este un acid puternic. In caz de contact accidental cu pielea, spalati usor cu apa.

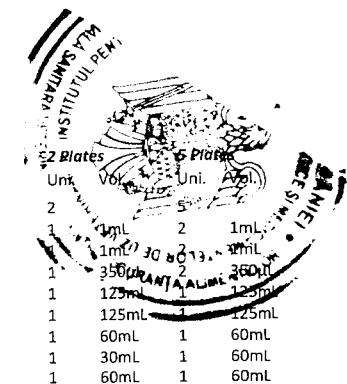
DEPOZITAREA COMPONENTELOR

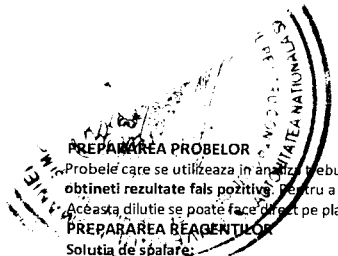
Deozitat toti reagentii si placile la temperaturi intre +2°C si +8°C.
Odata deschise, controalele sunt stabile pentru 1 luna. In cazul in care nu vor fi utilizate in aceasta perioada, va recomandam sa le depozitati in alicote la -20°C.

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 de la un godeu la altul. Ca masura de precautie, godeurile trebuie golite peste o cuva care contine solutie de NaOH 0,1 M, deoarece probele de testat pot contine agenti infectioși.
- 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 ultimele etape de spalare, verificati ca urmatorul reagent ce trebuie adaugat in placa sa fie gata de utilizare. Nu mentineti placa uscata.
- Dupa ultima etapa de spalare, rasturnati si scuturati placa pe o hartie de filtru absorbanta.





PREPARAREA PROBELOR

Probele care se utilizează în analiză trebuie să fie seruri porcine. **Nu utilizați probe foarte hemolizate sau contaminate. S-ar putea să obțineți rezultate fals pozitive.** Pentru a fi testate trebuie să se facă o diluție de 1/2 în diluentul furnizat (DE31).

Această diluție se poate face direct pe placa prin adaugarea a 50 µl de diluent pt. probe și 50 µl de ser în fiecare godeu.

PREPARAREA REAGENTILOR

Soluția de spălare:

Diluati o parte din soluția de spălare concentrată furnizată de kit, cu 24 parti de apă distilată sau deionizată (ex. 40 ml de sol. concentrată și 960 ml de H₂O). Când este gata, aceasta rămâne stabilă dacă este depozitată între +2°C și +8°C până la data de expirare indicată pe eticheta soluției concentrate.

Serurile de Control:

Odata deschise, serurile de control sunt stabile pentru o luna la temperatura între +2°C și +8°C. În cazul în care nu se utilizează în această perioadă, recomandăm depozitarea lor în alicote la temperatura sub -20°C.

Serurile de control trebuie diluate 1/2 în diluent înainte de utilizare, în același mod ca și probele (puteți face diluția direct pe placa prin adaugarea a 50 µl de diluent plus 50 µl de ser de control).

Prepararea conjugatului: se va face imediat înaintea utilizării.

Diluati cantitatea necesară de conjugat furnizat în kit în proporție de 1/100 cu diluentul pt. conjugat (DE01) (ex. 110 µl de conjugat în 11 ml de diluent pt. conjugat, este cantitatea suficientă pentru o placă).

Agitați foarte bine soluția înainte de folosire. Pregătiți doar cantitatea necesară la fiecare testare, deoarece volumul de soluție rămas trebuie aruncat.

PROCEDURA DE LUCRU

1. Toti reagentii (cu excepția conjugatului) trebuie lăsați să ajungă la temperatura camerei (20°C la 25°C) înainte de utilizare.
2. Adăugați 50 µl de diluent în fiecare godeu. Adăugați 50 µl din serul de control pozitiv în două godeuri (ex. A1 și B1), și 50 µl din serul de control negativ (ex. A2 și B2). Adăugați 50 µl din serul de probă pt. testare, în fiecare godeu rămas. Va recomandăm utilizarea a două godeuri pentru fiecare control. Sigilați placa și **incubați timp de 1 h ± 5 min la 36 ± 1°C, sau peste noapte (16-20 ore) la +20°C la +25°C.**
3. Goliți conținutul godeurilor într-un container cu soluție NaOH 0.1M și spălați de 4 ori așa cum este specificat la pct. "Info. Spălare".
4. Adăugați 100 µl de conjugat specific (preparat după instrucțiunile anterioare), în fiecare godeu. Sigilați placa și **incubați pentru 30 minute la 36 ± 1°C.**
5. Spălați de 5 ori așa cum s-a specificat anterior.
6. Adăugați 100 µl de substrat, în fiecare godeu. Pastrați placa pentru **15 min la temperatura camerei (20°C la 25°C).**
7. Adăugați 100 µl de soluție de stopare, în fiecare godeu.
8. Citiți densitatea optică (DO) a fiecărui godeu la 450 nm în interval de 5 min după adăugarea soluției de spălare.

CITIREA SI INTERPRETAREA REZULTATELOR

VALIDAREA TESTULUI:

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

$$\frac{\text{Control negativ}}{\text{Control pozitiv}} \geq 4$$

INTERPRETAREA:

Calcularea Cut off:

- Cut Off Pozitiv = NC - [(NC - PC) x 0.5]
- Cut Off Negativ = NC - [(INC - PC) x 0.4]

Unde: NC = DO a Serului Control Negativ
PC = DO a Serului Control Pozitiv

Pentru calcularea procentului de blocare (x%) a unei probe:

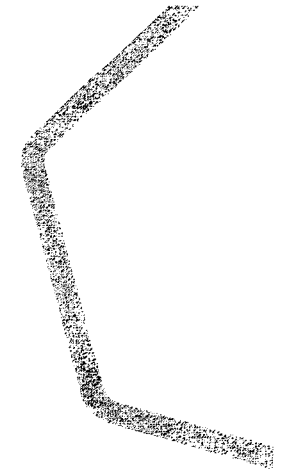
$$X \% = \frac{\text{Control Neg} - \text{DO proba}}{\text{Control Neg} - \text{Control Poz}} \times 100$$

% blocare (x %): ≥ 50% pozitiv; ≤ 40% negativ; între cele două valori, Incert (dubios)

Interpretarea rezultatelor:

Când testați în duplicat, valoarea DO a probei va fi calculată ca valoarea aritmetică a valorilor DO a celor două godeuri.

- Probele de ser cu valoare DO mai mică sau egală decât Cut Off Pozitiv, sunt considerate ca **POZITIVE** la anticorpii PPA.
- Probele de ser cu valoare DO mai mare sau egală decât Cut Off Negativ, vor fi considerate **NEGATIVE** la anticorpii PPA.
- Probele de ser cu valoare DO între cele două valori Cut off sunt considerate ca **INCERTE (dubioase)**. Recomandăm retestarea pe noi probe de ser, sau aplicarea unei tehnici diferite pentru a verifica acest ser (IFI, Indirect ELISA, etc.)



Dezvoltat și fabricat în Spania de:
GOLD STANDARD DIAGNOSTICS MADRID SA
 C/Hermanos García Noblejas, 41 2ª planta
 28037- MADRID (SPAIN)
 Tif: +34 91368.05.01/04
 Fax: +34 91 408.75.98
 E-mail: info.spain@eu.goldstandarddiagnostics.com
www.goldstandarddiagnostics.com



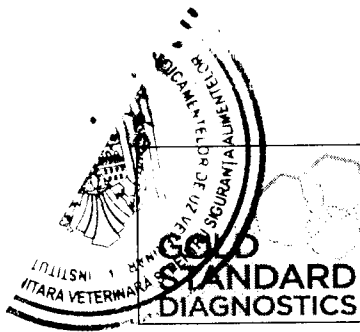
Distribuit de:

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.ro@noack.ro
www.noackgroup.com

NOACK

NOACK ROMANIA S.R.L.
 Calea Vitan nr. 23 C Et. 4
 Sect. 3 Bucuresti
 Tel: +40 021 317 66 70
 Fax: +40 021 316 66 58
www.noackgroup.com

Handwritten signature or initials.



Eticheta de produs
Fisa 06/06/2023
FR-369

Produs: INgezim® PPA Compac

Ref.: 11.PPA.K.3

Eticheta de pe cutie

INgezim® PPA Compac 11.BP.K.1	
Lot: Exp:	Pastrare +2 °C la +8 °C
PREZENTARE	
Kit cu 2 placi	Kit cu 5 placi

INGEZIM PPA Compac
PLACA CAPTUSITA cu Antigen LPS Pastrare +2 °C la +8 °C Ref: 11.PPA.K3 Lot: Exp:

CONTROL POZITIV Ingezim PPA Compac	CONTROL NEGATIV Ingezim PPA Compac
Pastrare +2 °C la +8 °C Ref: 11.PPA.K3 Lot: Exp:	Pastrare +2°C la +8°C Ref: 11.PPA.K3 Lot: Exp:

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 Seruri DE31-01 Solutie de stopare Substrat (TMB) Solutie de spalare 25 x concentrat	
No. Inregistrare:	0335 RD

CONJUGAT
Cu peroxidaza marcat cu MAb specific la proteina VP72 a PPA. (concentrata 100x) Pastrare +2 °C la +8 °C Ref: 11.PPA.K3 Lot: Exp:

DILUENT 31 Diluent gata de utilizare Pastrare +2 °C la +8 °C Ref: DE31-01 Lot: Exp:	
---	--

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

SUBSTRAT TMB Gata de utilizare Pastrare +2 °C la +8 °C Ref: S06-01 Lot: Exp:	
--	--

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

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