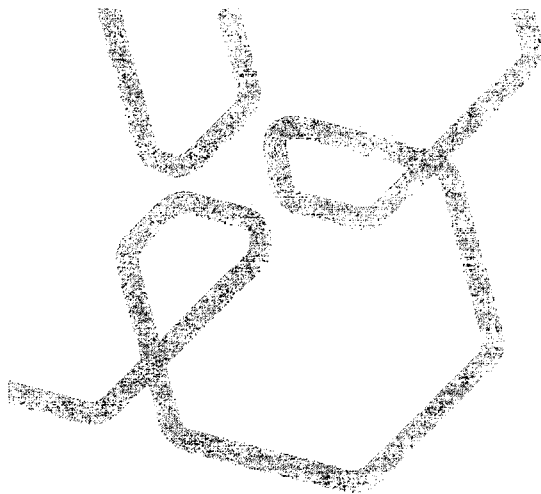




Ingezim® PPA COMPAC

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

N° de inregistrare in Spania: 0335-RD

**GOLD
STANDARD
DIAGNOSTICS**

NOACK
NORO ROMANIA S.R.L.
Calea Bucuresti 23 C 0104 4
S.C. B. Bucuresti
Tel: 011 21 33 66 70
Fax: 011 21 33 66 58
www.norochgold.com

KIT COMPOSITION

REAGENT	2 Plates		5 Plates	
	Uni.	Vol.	Uni.	Vol.
Placi Microtitrare	2		5	
Flacoane cu Control Pozitiv	1	1mL	2	1mL
Flacoane cu Control Negativ	1	1mL	2	1mL
Flacoane cu Conjugat Peroxidaza 100x concentrat	1	350µL	2	350µL
Sticle cu Solutie de Spalare 25x concentrat	1	125mL	1	125mL
Sticle cu Diluent (DE01-01), gata de utilizare	1	125mL	1	125mL
Sticle cu Diluent (DE31-01), gata de utilizare	1	60mL	1	60mL
Sticle cu Substrat (TMB), gata de utilizare	1	30mL	1	60mL
Sticle cu Solutie de Stopare, gata de utilizare	1	60mL	1	60mL

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)

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 nu 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

Deoxitat 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

Etapela 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 infectioşi.
- 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 mentineti placa uscata.
- Dupa ultima etapa de spalare, rasturnati si scuturati placa pe o hartie de filtru absorbanta.

PREPARAREA PROBELOR

Probele care se utilizeaza in analiza trebuie sa fie seruri porcine. **Nu utilizati probe foarte hemolizate sau contaminate. S-ar putea sa obtineti rezultate fals pozitive.** Pentru a fi testate trebuie sa se faca o dilutie de 1/2 in diluentul furnizat (DE31).

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

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 H₂O). 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 in alicote la temperatura sub -20°C.

Serurile de control trebuie diluate 1/2 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.

PROCEDURA DE LUCRU

1. Toti reagentii (cu exceptia conjugatului) trebuie lasati sa ajunga la temperatura camerei (20°C la 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 ± 5 min la 36 ± 1°C, sau peste noapte (16-20 ore) la +20°C la +25°C.**
3. Goliti continutul godeurilor intr-un container cu solutie NaOH 0.1M si spalati de 4 ori asa cum este specificat la pct. "Info. Spalare".
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°C la 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.

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):

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

INTERPRETAREA:

Calcularea Cut off:

- Cut Off Pozitiv = NC - [(NC - PC) x 0.5]
- Cut Off Negativ = NC - [(NC - 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; Intre cele doua valori, incert (dubios)

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 sau egala decat Cut Off Pozitiv, sunt considerate ca **POZITIVE** la anticorpii PPA.
- Probele de ser cu valoare DO mai mare sau egala 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:

GOLD STANDARD DIAGNOSTICS MADRID SA
C/Hermanos Garcia Noblejas, 41 2ª planta

28037- MADRID (SPAIN)

Tlf: +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

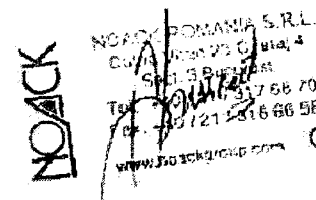
Calea Vitan nr. 23 C, Et.4, Sect.3 Bucuresti

Tel: +40 021.317.66.70

Fax: +40 021.316.66.58

E-mail: office.ro@noack.ro

www.noackgroup.com



L. Filu

**GOLD
STANDARD
DIAGNOSTICS**

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

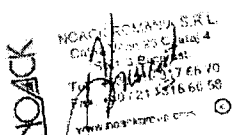
INGEZIM PPA Compac
PLACA CAPTUSITA cu Antigen LPS Pastrare +2 °C la +8 °C Ref: 11.PPA.K3 Lot: Exp:

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