

## SERELISA® Brucella OCB Ab Mono Indirect

KIT PENTRU DETECȚIA ANTICORPILOR LIPOPOLIZAHARIDICI ANTI *Brucella* ÎN PROBE DE SER BOVIN (INDIVIDUAL ȘI POOL-uri), SER OVIN ȘI CAPRIN (INDIVIDUAL)

TEHNICĂ IMUNOENZIMATICĂ INDIRECTĂ

384 godeuri cu o singură reacție

### I. PRINCIPIUL TESTULUI

Kitul "SERELISA® Brucella OCB Ab Mono Indirect" utilizează o metodă imunoenzimatică indirectă ce permite detecția anticorpilor lipopolizaharidici *Brucella* (LPS) în probe de ser individual de bovine, ovine și caprine sau în pool-uri de 10 seruri bovine (conform cu reglementările în vigoare). Reacția este compusă din trei pași:

1. Fiecare probă de ser individual sau pool de seruri este plasată în godeul sensibilizat cu *Brucella* LPS. Anticorpul prezent în probă se va cupla cu antigenul bacterian ce căptușește godeul.

2. După o etapă de spălare se adaugă un conjugat cu peroxidază. Se fixează la imunoglobulinele (anticorpii) cuplați mai devreme formând un complex:

(Ag LPS) - (Ac anti-LPS) - (conjugat peroxidază)

3. Conjugatul în exces este eliminat printr-o etapă de spălare. Enzima legată la complex este evidențiată prin adăugarea unui substrat, ce se transformă într-un produs colorat. După stoparea reacției, se vor măsura densitățile optice. Prezența sau absența anticorpilor este determinată folosind valorile de cut off, obținute la martorul de control pozitiv.

### II. COMPOZIȚIA ȘI CONSERVAREA KITULUI

NATURA REAGENTULUI	RECONSTITUIRE ȘI CONSERVARE
4 microplăci ce conțin 6 striperi de 2 x 8 godeuri sensibilizate cu <i>Brucella</i> LPS	A se utiliza în maxim 4 săptămâni după deschiderea ambalajului, care trebuie să fie re-sigilat după utilizare.
Conjugat: conjugat peroxidază (CJ)	<u>Protocol seruri individuale:</u> Diluati 1/200 ori în DC. <u>Protocol seruri Pool:</u> Diluati 1/100 ori în DC. Utilizați în max. 2 ore după diluție.
Substrat tamponat cu peroxidază (SP)	Gata de utilizare.
Martor de control negativ (N)	<u>Protocol seruri individuale:</u> Diluati 1/100 ori în DC. <u>Protocol seruri Pool:</u> Diluati 1/200 ori în DC.
Martor de control pozitiv (P)	<u>Protocol seruri individuale:</u> Diluati 1/100 ori în DC. <u>Protocol seruri Pool:</u> Diluati 1/200 ori în DC.
Diluant pentru probe (DP)	Gata de utilizare.
Soluție de spălare (W) (concentrată de 10X)	Diluati 1/10 în apa distilată sau demineralizată. Utilizați în max. 48 ore după diluție.
Diluant pentru conjugat (DC)	Gata de utilizare.
Soluție de stopare (S)	Gata de utilizare.
Folii adezive	12 folii

Notă: Păstrați reagenții diluați în +5°C ± 3°C și utilizați în conformitate cu instrucțiunile de utilizare.

### III. MATERIALE ȘI REAGENȚI NECESARE (NU SUNT FURNIZAȚI)

- Apă distilată sau demineralizată.

- Pipete ajustabile sau fixe pentru a măsura și doza între 0 și 1000 μl. Deviația măsurătorii trebuie să fie ≤ 10% pentru volume ≤ 10 μl și ≤ 5% pentru toate celelalte volume.

- Cilindrii gradați (100 ml și 1000 ml).

- Spălător manual, automat sau semi-automat pentru plăcile de microtitrare.

- Cititor de microplăci cu filtre pentru citiri biromatice la 450 și 630 nm. Se recomandă utilizarea cititorilor automatizați cu filtre de 450 nm.

### IV. PRECAUȚII PENTRU UTILIZARE

Calitatea rezultatelor depinde de respectarea regulilor și a procedurilor bune practice de laborator (vedeți paragraful VI).

1. Nu amestecați sau asociați reagenții din loturi cu numere diferite.
2. Nu utilizați reagenții după data expirării.
3. Plasați reagenții la temperatura laboratorului cu cel puțin o oră înainte de utilizare. **Atenție:** doar reagenții ce vor fi folosiți în etapa următoare.
4. Manipulați toți reagenții și probele ca materiale cu risc biologic.
5. Țineți toți reagenții departe de piele și ochi. Dacă apare expunerea, spălați imediat suprafețele afectate cu apă rece.
6. Nu pipetați niciodată cu gura.
7. Evitați contaminarea între probe în timpul recoltării, depozitării sau transportului probelor. Utilizați vârfuri de pipetă de unică folosință, separate pentru fiecare probă.
8. Evitați contaminarea soluției substrat cu ioni metalici, agenți de oxidare sau detergenți. Asigurați-vă că toți recipientii sunt curați. Nu utilizați același recipient sau același vârf de pipetă pentru conjugat și substrat.
9. Se recomandă ca eliminarea reagenților și a materialului contaminat să se facă în funcție de reglementările în vigoare. Fișele cu datele de securitate ale produsului sunt disponibile la cerere.

### Fraze de risc:

R 23/25: Toxic prin inhalare și dacă este înghițit.

R 35: Cauzează arsuri grave.

R 36/37/38: Iritant pentru ochi sistemul respirator și piele.

R 41: Risc de răni grave oculare.

R 42/43: Poate determina sensibilizare prin inhalare și contact cutanat.

S 7: Păstrați recipientul bine închis.

S 24: Evitați contactul cu pielea.

S 26: În cazul contactului cu ochii clătiți imediat cu apă din abundență și solicitați sfatul medicului.

S30: Niciodată nu adăugați apă peste produs.

S45: În caz de accident sau dacă nu vă simțiți bine, solicitați imediat sfatul medicului.

### V. PROBE

Reacția se efectuează pe ser individual diluat 1:100 sau 10 probe de ser în pool diluate la 1:20. Probele trebuie păstrate după cum urmează:

Probe	Refrigerat (+ 5°C)	Congelat (- 20°C)	Temperatura în lab. (20°C)
Seruri individuale sau pool (nediluat)	max. 7 zile	Da	Nu

### VI. PROCEDURĂ

Strict conform procedurilor indicate mai jos. Utilizați martorii de control negativ și pozitiv în duplicat pentru fiecare testare, pentru fiecare placă.

#### A. ETAPE PRELIMINARE

1 – Acordați atenție la distribuirea și identificarea martorilor și probelor.

2 – Preparați probele ce vor fi testate:

Protocol pentru probe individuale diluție 1:100:

De exemplu, diluați probele la 1:10 în diluant de probe (DP) într-un tub de testare sau într-o placă de diluție. Diluați iar la 1:10 într-un tub de testare sau direct în godeu: adăugați 10μl de probă deja diluată peste care adăugați 90μl diluant probe (DP)

Protocol pentru probe în pool diluție 1:20:

Adăugați de seruri la 10 μl diluant de probe (DP) pentru a obține 100 μl pool de 10 probe.

Diluati probele pool la 1:20 într-un tub de testare sau direct în godeu: adăugați 5μl de probă pool, peste care adăugați 95μl diluant probe (DP).

## B. PROCEDURA DE TESTARE

### I – DISTRIBUIREA MARTORILOR DE CONTROL ȘI A PROBELOR

#### 1. Distribuirea martorilor de control:

Pentru cele două protocoale următoare se vor adăuga 100 µl de martor de control negativ diluat (N) în godeurile A1 și A2 și 100 µl de martor de control pozitiv diluat (P) în godeurile B1 și B2.

#### Protocol testare probe individuale diluție 1:100:

După agitarea flacoanelor, diluați de exemplu martorii 1:10 în diluant de probe (DP) într-un tub de testare sau pe placa de diluție, apoi diluați din nou la 1:10 într-un tub de testare: adăugați 10 µl de martor de control deja diluat în 90 µl diluant de probă (DP).

#### Protocol testare probe bovine - pool diluție 1:200:

După agitarea flacoanelor, diluați martorii 1:10 în diluant de probe (DP) într-un tub de testare sau pe placa de diluție, apoi diluați din nou la 1:20 într-un tub de testare: adăugați 5 µl de martor de control deja diluat în 95 µl diluant de probă (DP).

#### 2. Distribuirea probelor:

Strict conform procedurii indicate la punctul VI.A.2. pentru prepararea probelor și distribuția direct pe placă.

- Probele pot fi testate individual sau în duplicat. Adăugați 100 µl în fiecare godeu.
- Stripurile trebuie plasate întotdeauna pe rama plăcii astfel încât ambele dispozitive spălător și cititorul să poată fi utilizate.
- Acoperiți godeurile cu folie adezivă tăiat conform numărului de godeuri utilizate.
- Amestecați manual placa prin scuturare ușoară sau utilizând un agitator de placă.

#### 3. Incubarea plăcii

1 oră (± 5 min) la + 37°C (± 3°C)

#### SPĂLARE:

Soluție tampon de spălare: diluați soluția concentrată de spălare (W) 1:10 în apă distilată sau demineralizată.

Îndepărtați cu atenție folia adezivă și spălați de 4 ori.

### II – ADĂUGAREA CONJUGATULUI

#### 1. Prepararea conjugatului:

#### Protocol testare probe individuale diluție 1:200:

Diluati conjugatul concentrat (CJ) la 1:200 în diluant de conjugat (DC). 2 ml sunt necesari pentru un strip, adică 10 µl de CJ la 1,99 ml de DC.

#### Protocol testare probe bovine - pool diluție 1:100:

Diluati conjugatul concentrat (CJ) la 1:100 în diluant de conjugat (DC). 2 ml sunt necesari pentru un strip, adică 20 µl de CJ la 1,98 ml de DC.

#### 2. Distribuirea conjugatului:

Adăugați 100 µl conjugat diluat în toate godeurile și acoperiți-le cu o noua bucată de folie adezivă.

#### 3. Incubarea conjugatului:

Incubați 30 minute (± 5 min) la +37°C (± 3°C).

#### SPĂLARE:

Îndepărtați cu atenție folia adezivă și spălați de 4 ori.

### III – DEZVOLTAREA CULORII

#### 1. Adăugarea substratului:

Adăugați 100 µl de substrat tamponat cu peroxidază (SP) în fiecare godeu. Nu acoperiți cu folia adezivă în această etapă. Agitați manual placa prin scuturare ușoară sau utilizând un agitator de placă pentru a asigura o corectă omogenizare.

#### 2. Incubarea substratului:

30 min. ± 5 min. la temperatura din laborator (+20°C ± 5°C) protejat de lumină.

#### 3. Adăugarea soluției de stopare:

Adăugați 50 µl soluție de stopare (S) în fiecare godeu. Agitați manual placa prin scuturare ușoară sau utilizând un agitator de placă. Asigurați-vă că nu apar bule în godeuri.

Referință: SBRU3OCB.NA versiunea n°4 – 25/04/2017

Capitolele modificate de la ultima versiune sunt cu caractere italice. Versiunea n°3 → n°4 : Schimbarea numelui din Synbiotics Europe în Zoetis France

### 4. Măsurarea densității optice:

Măsurați densitatea optică (DO) bi-cromatic la 450 și 630 nm sau monocromatic la 450 nm (în banda galbenă). Este foarte recomandată citirea bi-cromatică. Dacă va utilizați un cititor monocromatic, asigurați-vă de curățenia fadului la fiecare godeu înainte de citire.

### VII. VALIDAREA TESTULUI

Rezultatele fiecărui test efectuat sunt valabile dacă

$$\overline{DO} P \geq 0,5 \text{ și } \overline{DO} N < 0,3 * \overline{DO} P$$

$\overline{DO}$ : media DO pentru probele testate în duplicat.

### VIII. EXPRIMAREA ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

Prezența sau absența anticorpilor anti LPS de *Brucella* se determină prin raportarea Densităților Optice (DO) la valorile de cut-off obținute la citirea martorului de control pozitiv.

Sunt posibile două metode de calcul și interpretare a rezultatelor:

#### Metoda 1: CALCULAȚIA INDEXULUI:

Valoarea cut-off pozitiv în index = 0

Pentru probe individuale și pool-uri:

$$\text{Indexul Probei} = 0,50 \times (\overline{DO} \text{ probă} - 0,6 \times \overline{DO} P)$$

Orice probă sau pool de probe ce prezintă un index  $\geq 0$  este considerată pozitivă.

Orice probă sau pool de probe ce prezintă un index  $< 0$  este considerată negativă.

#### Metoda 2: ANALIZA DENSITĂȚILOR OPTICE

Pentru probe individuale și pool-uri:

$$\text{Valoarea cut-off pozitiv} \Rightarrow \alpha = 0,6 \times (\overline{DO} P)$$

Comparați DO a fiecărei probe cu această valoare de cut-off.

Orice probă sau pool de probe ce prezintă  $OD \geq \alpha$  este considerată pozitivă.

Orice probă sau pool de probe ce prezintă  $OD < \alpha$  este considerată negativă.

#### Interpretarea rezultatelor

Probe individuale sau pool-uri	-	$\alpha$
		DO probă

Dacă aveți întrebări, vă rugăm contactați:  
ZOETIS FRANCE – Gerland Plaza –  
23 rue Pierre Gilles de Gennes, 69007 LYON – France,  
Tel : +33 4.72.76.11.11 - Fax : +33 4.72.76.11.10  
[www.zoetis.com/products-services/diagnostics](http://www.zoetis.com/products-services/diagnostics)

[DiagnosTechSupport@zoetis.com](mailto:DiagnosTechSupport@zoetis.com)

NUMAI PENTRU UZ VETERINAR/  
NUMAI PENTRU UTILIZARE IN VITRO

Producător: DEL PHARM BIOTECH  
11, rue Alexander Fleming  
69007 LYON Cedex 07  
Franța



Se depozitează la +2°C/+8°C. A nu se congela.  
Pentru diagnostic in-vitro. Pentru uz veterinar.

## SERELISA<sup>®</sup> Brucella OCB Ab Mono Indirect (ASBRU3OCB)

Kit pentru detecția anticorpilor lipopolizaharidici Brucella în probele de ser bovin, ovin și caprin

384 godeuri cu o singură reacție

4	Microplacă cu 6 stripuri de 16 godeuri sensibilizate cu Brucella LPS
1X200 ml	W Soluție de spălare concentrată 10x
2X100 ml	SD Diluant pentru probe
1X5 ml	N Control negativ
1X1 ml	P Control pozitiv
1X50 ml	CD Diluant pentru conjugat
1X700 μl	CJ Conjugat concentrat 100x
1X50 ml	PS Substrat tamponat cu peroxidază
1X 25 ml	S Soluție de stopare
12	Folii adezive

Lot:  
Exp:

Zoetis France – Gerland Plaza – 23 rue Pierre Gilles de Gennes – 69007 LYON – FRANȚA



zoetis

Soluție de spălare concentrată X 10

Diag. in-vitro          **W**          Zul.Nr.K 020  
200 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.

**Lot:**  
**Exp/:**

zoetis

**SERELISA® Brucella OCB**  
pentru probe de ser bovin, caprin și ovin

Zul.-Nr.FLI-B463

**1microplacă**

A se depozita la +2°C/+8°C.

**Lot/:**

**Exp/:**

Diag. in-vitro

zoetis



Substrat tamponat de peroxidază

Zul.Nr.K 029

Diagn. in-vitro    **PS**    50 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.

H315  
H319

zoetis

~~(4N H2SO4)~~



Soluție de stopare

Zul.Nr.K 02

Diagn. in-vitro    **S**    25 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.



H314  
P260  
P264  
P280

zoetis

Diluant pentru probe

Diagn. in-vitro

**SP**

Zul.Nr.K054  
100 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.

zoetis

Diluant pentru conjugat

Diagn. in-vitro

**DC**

Zul.Nr.K070  
50 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.

zoetis

(-) Control

Diag. in-vitro **N** 5 ml

**Exp/:**

**Lot /**

Zul.Nr.K055

A se depozita la +2°C/+8°C.

zoetis

100 x Conc. Conjugat

Diag. in-vitro **CJ** 700 µl

**Exp/**

**Lot /**

Zul.Nr.K036

A se depozita la +2°C/+8°C.

zoetis

(+) Control

Diag. in-vitro **P** 1 ml

**Exp/:**

**Lot/:**

Zul.Nr.K037

A se depozita la +2°C/+8°C.

