

**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 indirect "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. Anticorpii prezenți în proba se vor 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 martorii de control pozitiv.

**II. COMPOZIȚIA ȘI CONSERVAREA KITULUI**

NATURA REAGENTULUI	RECONSTITUIRE ȘI CONSERVARE
4 microplăci ce conțin 6 stripuri 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)	<i>Protocol seruri individuale:</i> Diluati 1/200 ori în DC. <i>Protocol seruri Pool:</i> Diluati 1/100 ori în DC. Utilizați în max 2 h după diluție.
Substrat tamponat cu peroxidază (SP)	Gata de utilizat.
Martor de control negativ (N)	<i>Protocol seruri individuale:</i> Diluati 1/100 ori în DC. <i>Protocol seruri Pool:</i> Diluati 1/200 ori în DC.
Martor de control pozitiv (P)	<i>Protocol seruri individuale:</i> Diluati 1/100 ori în DC. <i>Protocol seruri Pool:</i> Diluati 1/200 ori în DC.
Diluant pentru probe (DP)	Gata de utilizat.
Soluție de spălare (W) (concentrată de 10X)	Diluati 1/10 în apă distilată sau demineralizată. Utilizați în max 48 h după diluție.
Diluant pentru conjugat (DC)	Gata de utilizat.
Soluție de stopare (S)	Gata de utilizat.
Filme Adezive	12 filme

**Note:** Păstrați reagenții diluați la +5°C ± 3°C și utilizați-i conform procedurii menționate mai sus.

**Referință:** SBRU3OCB.NA versiunea n°3 – 11/03/2013

**Capitolele modificate de la ultima versiune sunt cu caractere italice. Versiunea n°2 → n°3: Schimbarea adresei Synbiotics Europe. Adăugarea numelui și adresei producătorului.**

**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 gradăți (100 ml și 1000 ml).
- Spălător manual, automat sau semi-automat pentru plăcile de microtitrare.
- Cititor de microplăci, setat cu filtre bicromatice ce pot citi la 450 și 630 nm. Se poate utiliza și un cititor monocromatic setat pe filtru de 450 nm.

**IV. PRECAUȚII PENTRU UTILIZARE**

Calitatea rezultatelor depinde de respectarea regulilor și procedurilor buneii practici de laborator (vedeți paragraful VI).

1. Nu amestecați sau asociați reagenți 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 urmatoare.
4. Manipulați toți reagenții și probele ca materiale biohazard.
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 contaminare 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.
- R35: 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.
- S26: 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. (23°C)
Seruri individuale sau pool (nediluat)	max. 7 zile	Da	Nu

**VI. PROCEDURĂ**

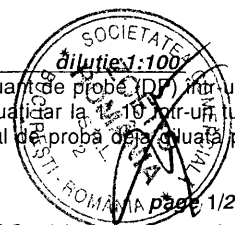
Strict conform procedurilor indicate mai jos. Utilizați martorii de control negativ și pozitiv în duplicat pentru fiecare testare, pentru fiecare placă.

**A. ETAPE PRELIMINARE**

- 1 – Setati cu atenție distribuția și identificarea martorilor și probelor.
- 2 – Preparați probele ce vor fi testate:

**Protocol pentru probe individuale**

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



Protocol probe bovine in pool **diluție 1:20:**

Adăugați de exemplu 10 μl din fiecare ser individual 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 5 μl de probă pool, peste care adăugați 95 μl 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 spălătorului și cititorul să poată fi utilizate.

- Acoperiți godeurile cu film adeziv tăiat conform numărului de godeuri utilizate.

- Agitați manual placa prin scuturare usoară 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.

Scoateți cu grijă filmul adeziv de pe godeuri 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 nouă bucată de film adeziv.

**3. Incubarea conjugatului:**

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

**SPĂLARE:**

Scoateți cu grijă filmul adeziv de pe godeuri 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 film adeziv în această etapă. Agitați manual placa prin scuturare usoră 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 usoară sau utilizând un agitator de placă. Asigurați-vă că nu apar bule în godeuri.

**4. Măsurarea densității optice:**

Măsurați densitatea optică (DO) bicromatic la 450 și 630 nm sau monocromatic la 450 nm (în banda galbenă).

Este foarte recomandată citirea bicromatică. Dacă va fi utilizat un cititor monocromatic, asigurați-vă de curățenia fundului fiecărui 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:

$$\text{Indexul Probei} = 0.50 \times (\text{DO probă} - 0.6 \times \overline{DO} P)$$

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	-	+
	DO probă	

Dacă aveți întrebări, vă rugăm să ne contactați:

**SYNBIOTICS EUROPE – 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.synbiotics.com techsupport@synbiotics.fr

NUMAI PENTRU UZ VETERINAR/  
NUMAI PENTRU UTILIZARE IN VITRO

Producător : **DELPHARM BIOTECH**  
2 rue Alexander Fleming,  
69366, LYON Cedex 07 – France



Handwritten signature



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/



**SERELISA Brucella OCB**

1 Microplacă  
pentru probe bovine, caprine și ovine

Lot/:

Exp/

A se depozita la +2°C/+8°C. Zul.Nr. FLI-B463



Diluant pentru probe

Diag. in-vitro **DP** Zul.Nr.K054  
100ml

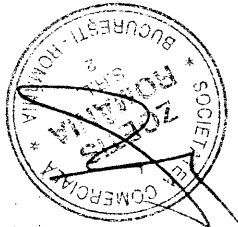
A se depozita la +2°C/+8°C.

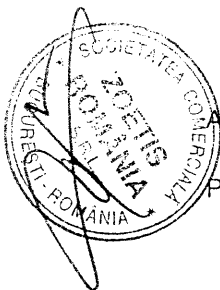


Diluant pentru conjugat

Diag. in-vitro **DC** Zul.Nr.K022  
50 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.





se depozita la +2°C/+8°C. A nu se congela.

Pentru diagnostic in-vitro. Pentru uz veterinar.



## Serelisa<sup>®</sup> Brucella OCB Ab Mono Indirect (ASBRU30CB)

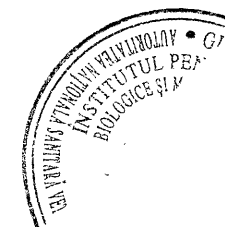
Kit pentru detecția anticorpilor anti – LPS de Brucella în serul bovin, ovin și caprin

384 godeuri cu o singură reacție

Microplacă cu 6 stripuri de 16 godeuri sensibilizate cu antigen LPS brucelic 4

W	Soluție de spălare concentrație 10x	1X200 ml
DP	Diluant pentru probe	2X 100 ml
N	Martor de control negativ	1X 5 ml
P	Martor de control pozitiv	1X 1 ml
DC	Diluant pentru conjugat	1X 50 ml
CJ	Conjugat concentrat 100x	1X 700 μl
SP	Substrat tamponat cu peroxidază	1X 50 ml
S	Soluție de stopare	1X 25 ml
	Filme adezive	12

SYNBIOTICS EUROPE 2, rue A.Fleming 69007 LYON –France





Soluție de stopare

Zul.Nr.K 021

R35

Diagn. in-vitro **S** 25 ml

S26

S30

A se depozita la +2°C/+8°C.

S45



Substrat tamponat de peroxidază

Zul.Nr.K 028

R23/25

R36/37/38

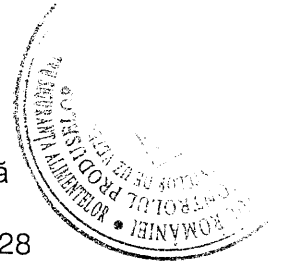
R42/43

S7

S24

Diagn. in-vitro **SP** 50 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.



(+) Martor de control  
Diagn. in-vitro **P** 1 ml

Exp/:

Lot/:

A se depozita la +2°C/+8°C.



Conjugat/Conjugate/Konjugat

Conjugat 100 x Conc  
Diagn. in-vitro **CJ** 700 µl

Exp/

Lot /

A se depozita la +2°C/+8°C.



(-) Martor de control  
Diagn. in-vitro **N** 5 ml

Exp/:

Lot /

A se depozita la +2°C/+8°C.

