

Trusa TeSeE™ SAP Combi

Protocolul Scurt

▽ 192

REF 3551186

▽ 384

REF 3551192

▽ 768

REF 3551191

REACTIVI PENTRU PURIFICAREA ȘI DETECȚIA *IN VITRO* A PrP^{Sc}

Acest test este aprobat în Uniunea Europeană ca test rapid în programele de testare a ESB și a scrapiei la bovine, ovine și caprine, stabilite în conformitate cu Anexa III, capitolul A al Reglementării (CE) Nr. 999/2001



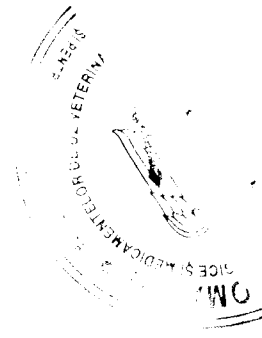
2015/06

BIO-RAD



CUPRINS

- 1 - INFORMATII GENERALE
- 2 - TRUSA TeSeE™ SAP Combi
 - 2 - 1 Principiul
 - 2 - 2 Prelevatele
 - 2 - 3 Compozitia trusei TeSeE™ SAP Combi
 - 2 - 4 Prepararea reactivilor
 - 2 - 5 Depozitare, valabilitate
 - 2 - 6 Modul de lucru
 - 2 - 7 Calcularea si interpretarea rezultatelor
 - 2 - 7 Limitele testului
- 3 - MATERIALE NECESARE NEINCLUSE ÎN TRUSE
- 4 - PRECAUȚII
- 5 - MĂSURI DE IGIENĂ ȘI PROTECȚIA MUNCII
- 6 - BIBLIOGRAFIE



1 – GENERALITĂȚI

Encefalopatiile spongiforme transmisibile (EST) sunt maladii lente degenerative ale sistemului nervos central induse de agenți transmisibili neconventionali (ATN) denumiți în mod curent prioni.

EST sunt clasificate general în concordanță cu etiologia lor, în iatrogene, familiale și/sau sporadice. Scrapia ovinelor a fost raportată în secolul al XVIII-lea și transmiterea demonstrată (inclusiv la caprine). Cu toate acestea, modalitățile de contaminare în turme rămân puțin cunoscute. EST s-au mai descris la cerb și elan (maladia cronică cașectizantă, MCC) și la vaca (encefalopatia spongiformă bovină, ESB).

Și oamenii sunt sensibili la anumite forme de EST. Există dovezi convingătoare care susțin faptul că ESB a fost transmisă de la bovine la om, probabil prin consumul de carne contaminată.

În plus față de această formă variantă a maladii Creutzfeldt-Jakob (MCJv), alte forme întâlnite la oameni sunt boala Kuru și maladia Creutzfeldt-Jakob iatrogenă.

Formele ereditare pure (cum este sindromul Gertsman-Straüssler-Scheinker [GSS]) și/sau MCJ sporadică au fost demonstrate la om, dar incidența lor este scăzută. Nu se cunoaște dacă există cazuri similare de EST sporadice la animale.

Principalele caracteristici ale acestor boli sunt următoarele:

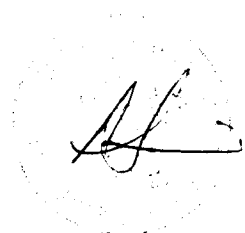
- evoluția progresivă lentă, însă întotdeauna fatală,
- absența agenților infecțioși convenționali,
- acumularea progresivă în sistemul nervos central a unei izoforme anormale a proteinei prionice naturale (PrP), denumită PrP^{Sc}. Această izoformă se caracterizează prin proprietăți biochimice particulare și în special printr-o rezistență crescută la proteaze.

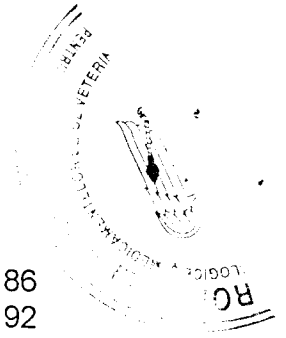
Perioada de incubare surprinzător de lungă ce precede simptomele neurologice sugerează faptul că evenimente importante în patogenizarea EST ar putea avea loc în situsuri extranervoase și în special în țesuturile limfoide periferice.

În ciuda numeroaselor necunoscute și/sau incertitudini, detecția PrP^{Sc} anormale este în prezent recunoscută ca metodă, pentru confirmarea diagnosticului EST. Această detecție se efectuează în principal post-mortem din prelevate de țesut nervos.

PrP^{Sc} anormală a mai fost detectată și într-un număr de țesuturi și organe limfoide: în centrul germinativ splenic, ganglionii limfatici, amigdale, și/sau țesuturi limfoide asociate mucoaselor (dar numai la nivel de cercetare), în modele animale sau la oi cu scrapie, cerbi și elani cu MCC și la pacienți cu MCJv.

Reactivii concepuți de către CEA - "Commissariat à l'Énergie Atomique - (Comisariatul francez pentru energie atomică) au evoluat, produși și comercializați de Bio-Rad, permit detecția PrP^{Sc} din probe de țesuturi nervoase recoltate de la animale.





Testarea se realizeaza cu reactivii si accesoriile urmatoare:

- | | |
|--|----------------|
| - Trusa TeSeE™ SAP Combi (192 testări) | cod: 3551186 |
| - Trusa TeSeE™ SAP Combi (384 testări) | cod: 3551192 |
| - Trusa TeSeE™ Combi (768 testări) | cod: 3551191 |
| - Tuburi de omogenizare (384 tuburi) | cod: 3551139 |
| - Tuburi de omogenizare (768 tuburi) | cod: 3551137 |
| - Seringi și ace de calibrare (x 200) | cod: 3551174 |
| sau Plăci filtrante (x 50) | cod: 3551179 |
| - Microplăci cu godeuri adânci (x 50) | cod: 3590132 |
| - Sfere medii (x 2000) | cod: 355-1171* |

*Doar pentru tesuturi periferice

2 – Trusa TeSeE™ Combi

2-1 PRINCIPIUL

Reactivii trusei TeSeE™ SAP Combi permit purificarea, concentrarea, solubilizarea si detectia PrP^{Sc} din probe de țesuturi prelevate de la animalele infectate.

Principiul trusei TeSeE™ SAP se bazeaza pe o tehnica imuno-enzimatica (în format sandviș) ce folosește 2 anticorpi monoclonali pentru detecția proteinei prionice anormale, rezistentă la proteinază K, în țesuturile prelevate de la animale infectate.

Faza solida consta in 12 barete formate din cate 8 godeuri de polistiren captusite cu primul anticorp monoclonal. Al doilea anticorp monoclonal este cuplat cu peroxidaza.

2-2 PRELEVATELE

- **Bovine :** Purificarea PrP^{Sc} se efectuează din probe de țesut recoltate de la nivelul Sistemului Nervos Central (SNC). Trusa de prelevare BSE extraction tool (cod : 355-1130) poate fi utilizata pentru recoltarea trunchiului cerebral.

Deoarece distribuția PrP^{Sc} este eterogenă în sistemul nervos central, recoltarea din regiunea obexului de la nivelul trunchiul cerebral este de preferat pentru asigurarea detecției optime. Seringa de prelevare (cod: 355-1175) permite prelevarea rapidă și facilă a obexului într-o manieră sigură. Vă rugăm să consultați protocolul de prelevare pentru instrucțiuni detaliate asupra procedurii de recoltare buna.

- **Rumegătoare mici și cervide :** Purificarea PrP^{Sc} se efectuează pe probe din Sistemul Nervos Central (SNC) sau din țesuturi periferice (ganglioni limfatici, splină,...). Trusa de extracție pentru rumegătoare mici (cod : 355-1184) poate fi folosită atât la prelevarea trunchiului cerebral cât și a cerebelului.

Deoarece distribuția PrP^{Sc} este eterogenă în sistemul nervos central, prelevările se vor face cu precădere din obexul trunchiului cerebral pentru asigurarea detecției optime.

Probele se taie și se cântaresc individual.

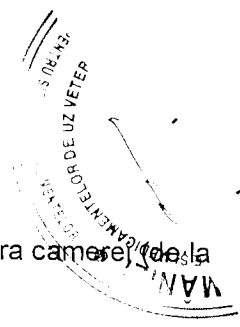
Notă : alte țesuturi (amigdale, ileum, pleoapa, ...) se vor folosi doar în scop de cercetare.

Probele se păstreaza între +2°C și +8°C dacă purificarea se realizeaza în următoarele 24 de ore sau se vor depozita congelate câteva luni. Acestea pot fi supuse procesului de congelare/decongelare nu mai mult de 3 ori. În cazul in care aceste probe trebuie transportate, eșantioanele trebuie ambalate în conformitate cu reglementările naționale în vigoare.

2-3 COMPOZIȚIA TRUSEI TeSeE™

ETICHETĂ	TIPUL REACTIVILOR	PREZENTARE			PĂSTRARE
		3551186 (192 teste)	3551192 (384 teste)	3551191 (768 teste)	
Reactiv A	Soluție denaturantă	1 flacon (55 ml)	1 flacon (120 ml)	1 flacon (240 ml)	+2°C la +8°C
Reactiv B	Soluție de clarificare Colorare: albastru bromfenol	1 flacon (55 ml)	1 flacon (120 ml)	2 flacoane (120 ml)	+2°C la +8°C
Reactiv C	Tampon de resolubilizare Colorare: verde malachite	1 flacon (7 ml)	1 flacon (14 ml)	1 flacon (28 ml)	+2°C la +8°C
PK	Proteinază K Colorare: roșu fenol	1 flacon (0,5 ml)	2 flacoane (0,5 ml)	4 flacoane (0,5 ml)	+2°C la +8°C
R1	Microplaca: 12 barete a cate 8 godeuri captusite cu un anticorp monoclonal anti-PrP	2 placi	4 placi	8 placi	+2°C la +8°C
R2	Soluție de spălare: Concentrat 10x de tampon Tris-NaCl pH 7,4 Conservant: ProClin™ 300 (0,01%)	1 flacon (250 ml)	2 flacoane (250 ml)	4 flacoane (250 ml)	+2°C la +25°C
R3	Control negativ: Tampon TFS pH 7,2 suplimentat cu BSA Conservant: ProClin™ 300 (0,1%)	1 flacon (4 ml)	2 flacoane (4 ml)	4 flacoane (4 ml)	+2°C la +8°C
R4	Control pozitiv: Tampon TFS pH 7.4 suplimentat cu peptide de sinteză neinfecțioase. Liofilizat. Conservant: ProClin™ 300 (0,1%)	1 flacon (q.s 4 ml)	2 flacoane (q.s. 4 ml)	4 flacoane (q.s. 4 ml)	+2°C la +8°C
R6	Diluant de probe: Tampon TFS pH 7.2 suplimentat cu BSA și roșu fenol. Conservant: ProClin™ 300 (0,1%)	1 flacon (35 ml)	1 flacon (70 ml)	1 flacon (140 ml)	+2°C la +8°C
R7	Conjugat: Soluție concentrată 10x de anticorpi monoclonali anti-PrP marcați cu peroxidază în tampon TFS pH 7.1 suplimentat cu proteine bovine și colorată cu roșu fenol. Conservant: ProClin™ 300 (0,1%)	1 flacon (2.8 ml)	2 flacoane (2.8 ml)	4 flacoane (2.8 ml)	+2°C la +8°C
R8	Tampon substrat de peroxidază: Soluție de acid citric și acetat de sodiu pH 4.0 ce conține 0,015% H ₂ O ₂ și 4% dimetil sulfoxid (DMSO)	1 flacon (60 ml)	1 flacon (120 ml)	2 flacoane (120 ml)	+2°C la +8°C
R9	Cromogen: Soluție de tetrametil benzidina (TMB)	1 flacon (5 ml)	1 flacon (10 ml)	1 flacon (20 ml)	+2°C la +8°C
R10	Soluție de stopare: Acid sulfuric 1 N	1 flacon (28 ml)	1 flacon (56 ml)	1 flacon (112 ml)	+2°C la +8°C
	Folii adezive	8	12	16	

Următorii reactivi sunt componente generice: Reactivul A, reactivul B, diluantul de probe (R6), soluția de spălare (R2), tamponul substrat de peroxidază (R8), cromogenul (R9) și soluția de stopare (R10). Ele se pot folosi împreună cu toate loturile de truse TeSeE™SAP.



2-4 PREPARAREA REACTIVILOR

Înainte de utilizare reactivii din trusa trebuie lăsați să se echilibreze la temperatura camerei (+18°C la +30°C) timp de 30 minute.

1 - Reactivi gata de utilizare

Reactivii A, B, C, controlul negativ (R3), diluentul de probe (R6) și soluția de stopare (R10) sunt gata de utilizare.

Microplacile (R1):

Înainte de deschiderea ambalajului vidat ce conține o substanță de deshidratare, lăsați microplaca să ajungă la temperatura camerei (+18°C la +30°C) în ambalajul sau protector pentru a evita orice condensare a apei în godeuri. Deschideți la punctul de sudură și reintroduceți imediat înapoi în ambalaj barețele nefolosite.

Închideți ermetic punga după eliminare aerului din interior. Păstrați între +2°C și +8°C.

2 - Reactivi de reconstituit

Proteinaza K:

Reactivul A este tamponul de diluție pentru proteinaza K.

Soluția trebuie preparată după cum urmează (4 μl de proteinază K într-un 1 ml de reactiv A) :

NUMĂRUL DE PROBE	REACTIV A	PROTEINAZĂ K
2	1 ml	4 μl
10	3 ml	12 μl
18	5 ml	20 μl
26	7 ml	28 μl
34	9 ml	36 μl
42	11 ml	44 μl
50	13 ml	52 μl
58	15 ml	60 μl
66	17 ml	68 μl
74	19 ml	76 μl
82	21 ml	84 μl
90	23 ml	92 μl

Volumele trebuie pipetate exact. Vârful de pipetă ce conține PK trebuie clătit corect prin cicluri succesive de aspirație/distribuție în reactivul A.

După reconstituire, omogenizați soluția prin inversiuni succesive ale flaconului până obțineți o soluție omogenă de culoare roșie.

Soluția de spălare (R2):

Diluați soluția de spălare R2 în proporție de 1/10 ori cu apă distilată sau apă ultrapură (de exemplu 100 ml de reactiv R2 se diluează în 900 ml de apă distilată).

Controlul pozitiv (R4):

Loviți ușor de masă de laborator flaconul cu controlul pozitiv (R4) pentru a detașa orice substanță aderentă eventual la dopul de cauciuc. Deschideți flaconul și dizolvați conținutul acestuia în 4 ml de diluent R6. Închideți flaconul la loc și lăsați-l în așteptare timp de 1 minut, omogenizând ușor și din când în când pentru a facilita dizolvarea.

Conjugatul (R7):

Diluati reactivul R7 în proporție de 1/10 în soluția de spălare proaspăt reconstituită (de exemplu: 0.1 ml de reactiv R7 în 0.9 ml de soluție de spălare reconstituită), ținând cont de faptul că 1 ml de conjugat gata de utilizare este suficient pentru 1 baretă. Omogenizați ușor. Evitați utilizarea unui agitator tip vortex.

Soluția de dezvoltare enzimatică (R8 + R9):

Diluati reactivul R9 în proporție de 1/11 în reactivul R8 (de exemplu: 0.1 ml de reactiv R9 într-un 1 ml de reactiv R8), ținând cont ca 1.1 ml de soluție de revelatie enzimatică este suficientă pentru 1 baretă. Omogenizați ușor. Evitați utilizarea unui agitator tip vortex.

2-5 Conditii de stocare, Valabilitate

Trusele TeSeE™ SAP Combi trebuie păstrate la o temperatură cuprinsă între +2°C și +8°C. Toți reactivii sunt stabili la această temperatură până la data de expirare indicată pe trusă (înainte și după deschiderea flacoanelor).

După diluare, soluția reconstituită de proteinază K păstrată la temperatura camerei (+18°C până la +30°C) trebuie utilizată în maxim 6 ore.

Valabilitatile reactivilor după preparare este următoarea:

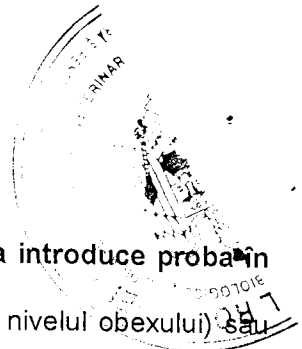
ETICHETĂ	REACTIVI	VALABILITATE
R1	Microplaca în punga închisă ermetic	1 lună între +2°C și +8°C
R2	Soluția de spălare diluată	24 de ore la temperatura camerei (între +18°C și +30°C) 2 săptămâni între +2°C și +8°C
R4	Control pozitiv reconstituit	2 ore la temperatura camerei (+18°C la +30°C) 4 ore între +2°C și +8°C 6 luni la -20°C Se recomandă să împărțiți soluția reconstituită în porții de 0,5 ml alicote și să le congelați imediat la -20°C. Poate fi supus la 3 cicluri succesive de înghețare/dezghetare.
R7	Soluția de conjugat reconstituit (cu soluția de spălare diluată)	8 ore la temperatura camerei (între +18°C și +30°C)
R8 + R9	Soluția de dezvoltare enzimatică	6 ore la temperatura camerei (între +18°C și +30°C), întotdeauna ferit de lumina

2-6 MODUL DE LUCRU

Pentru metoda semi-automată a protocolului de purificare, vă rugăm să consultați manualul de utilizare a sistemului TeSeE™ NSP.

Procedura de prelucrare manuală:





1. Prelevarea probelor:

Pentru țesuturi periferice (ganglioni limfatici, splină,...), înainte de a introduce proba în tubul de omogenizare, introduceți o sferă medie (cod : 355-1171).

Recoltați o cantitate de 350 ± 40 mg de țesut nervos (de preferat de la nivelul obexului) sau $200 \text{ mg} \pm 20$ mg de țesut periferic.

Depozitați probele de țesut nervos în tuburile de omogenizare, închideți bine capacele acestora și treceți la etapa de omogenizare în omogenizator (sistemele Ribolyser®, TeSeE™ PRECESS 24™ sau TeSeE™ PRECESS 48™).

2. Omogenizarea probelor:

Plasați tuburile pe suportul circular al omogenizatorului (sistemele Ribolyser®, TeSeE™ PRECESS 24™ sau TeSeE™ PRECESS 48™). Efectuați un ciclu de agitare după următorii parametri ai aparatului:

	Ribolyser®		TeSeE™ PRECESS 24™ sau 48™	
	Țesut nervos	Țesut periferic	Țesut nervos	Țesut periferic
Timp (sec.)	45	2 x 45*	-	-
Viteză	6.5	6.5	-	-
Program	-	-	Program 1	Program 2

*Așteptați 5 minute pauză între cele 2 cicluri de agitare.

Dacă omogenizarea este insuficientă, mai pot fi efectuate încă 1-2 cicluri suplimentare de agitare, având grijă ca temperatura tubului să revină la temperatura ambiantă (între $+18^{\circ}\text{C}$ și $+30^{\circ}\text{C}$) între fiecare ciclu (de ex. utilizând gheața pisată).

3. Transferul probelor:

Scoateți tuburile de omogenizare din omogenizator, resuspendați conținutul prin inversiune înainte de a le deschide.

Transferați omogenatul prin una dintre următoarele metode:

• Metoda seringii de calibrare

Prelevați $250 \mu\text{l}$ cu ajutorul seringii de calibrare (cod : 3551174) având grijă să scufundați acul seringii în stratul de bile ceramice pentru a evita aspirarea fragmentelor de țesut omogenizate necorespunzător.

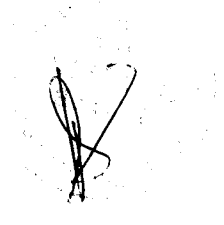
Transferați fiecare probă de $250 \mu\text{l}$ într-un microtub de testare Eppendorf de 2 ml sau într-o microplacă cu godeuri adânci (cod : 3590132).

• Metoda plăcii filtrante

Transferul și filtrarea se fac separat utilizând o placă filtrantă (cod : 3551179) și o placă cu godeuri adânci (cod : 3590132), utilizând una din următoarele tehnici de filtrare.

- Tehnica de vid :

Potrivii placa cu godeuri adânci (cod : 3590132) (placa principală) în partea de jos a dispozitivului de vid, așezați conductorul colectorului și apoi placa filtrantă (cod : 3551179). Prelevați cel puțin $400 \mu\text{l}$ ($\leq 1000 \mu\text{l}$) cu un vârf de pipeta de $1000 \mu\text{l}$ și transferați într-un godeu al plăcii filtrante (cod : 3551179), excludeți primele 6 poziții (de la A1 la F1). Puneți o folie de plastic adezivă deasupra plăcii filtrante. Setează manometrul de vid al pompei (cod : 3590350) la 25.4 cm Hg ($\pm 2,5\%$). Porniți pompa și verificați manometrul pentru un vid corect, apoi deschideți valva dispozitivului pentru $1 \text{ min} \pm 6$ secunde. Închideți valva, dezactivați pompa și eliberați vidul din dispozitiv.



- Tehnica de centrifugare :

Luati cel puțin 400 μ l (\leq 1000 μ l) cu un vârf de pipeta de 1000 μ l si transferați în fiecare godeu al plăcii filtrante (cod 3551179), montate anterior pe o placă cu godeuri adânci (cod 3590132), excludefi primele 6 poziții (de la A1 la F1). Lipiti o folie de plastic adezivă deasupra plăcii filtrante.

Centrifugați sistemul complet(placa filtrantă și placa cu godeuri adânci) timp de 1 min la 500 g. Aveți grijă să țineți placa filtrantă în siguranță, pe poziție pe placa cu godeuri adânci.

Nota : Centrifuga trebuie sa fie echipata cu un rotor pentru microplaci cu godeuri adanci (cod : 3590136), pentru centrifuga Eppendorf 5804R(cod 3591396).

După fiecare tehnică aruncați placa filtrantă și transferați 250 μ l din probele filtrate într-o altă placă cu godeuri adânci (placa de purificare) pentru protocolul manual sau puneți direct placa principală la bordul NSP (studiați manualul de operare al sistemului NSP TeSeE™).

Notă: In aceasta etapa, tuburile de omogenizare dupa realizarea omogenizarii, microtuburile de testare si placile cu godeuri adanci dupa transferul probelor se pot stoca, inchise:

sNo	La temperatura camerei(de la +18°C la +30°C) timp de 8 ore	La +2°C/+8°C (în gheață sau în frigider) timp de 15 ore	La -20°C timp de 1 an*
Tuburi de omogenizare si microtuburi de testare	DA	DA	DA
Placa cu godeuri adanci	DA	DA	

*Probele inghetate trebuie dezghetate la temperatura camerei (între +18°C si +30°C). Eșantioanele pot fi supuse la cel mult 3 cicluri de congelare/decongelare. Probele trebuie întotdeauna omogenizate prin inversiunea eprubetei înainte de utilizare.

4. Tratamentul cu PK :

Repartizați 250 μ l (\pm 10%) de soluție de PK reconstituita (vedeti paragraful 2.4) în fiecare microtub sau placa de purificare. Nu depășiți intervalul dintre prima si ultima proba mai mult de 5 minute pentru distributia proteinazei K. Imediat omogenizati tuburile inchise sau placile cu godeuri adanci sigilate cu folie de aluminiu prin inversiune de 10 ori. Nu depășiți 2 minute între omogenizare și incubarea la 37°C.

Incubați la 37 \pm 2°C într-o baie uscată termostatăă timp de 10 \pm 1 minute.

Notă: Dacă utilizați placă cu godeuri adânci, baia uscată termostatăă trebuie să fie echipata cu suport adaptat pentru astfel de plăci (cod : 3590134).

5. Precipitarea PrP^{Sc} cu reactivul B:

Scoateți microtuburile sau placa cu godeuri adânci din termobloc. Deschideți tuburile și distribuiți 250 μ l (\pm 10%) de reactiv B în toate microtuburile sau în godeurile microplacii. Respectați aceeași ordine de distributie cum e descrisa si în etapa 4. Nu depășiți intervalul de 2 minute între scoaterea din incubator și etapa de omogenizare. Omogenizarea se desfasoara în aceleasi conditii ca în etapa 4.

6. Concentrarea PrP^{Sc} (centrifugarea):

În cel mult 30 minute, după distributia reactivului B și amestecare : centrifugați microtuburile de testare sau placa de purificare după cum urmează:



Centrifugare	Microtuburi		Placă cu godeuri adânci
Viteză (g)	20 000	15 000	2 000
Timp (mm)	5	7	10
Temperatură (°C)	20	20	4

Notă: Pentru plăcile cu godeuri adânci alocăți 5 minute în plus la 37°C sau 10 minute în plus la temperatura camerei (între +18°C și +30°C) înainte de centrifugare.

7. Clarificarea probelor:

Eliminați supematantul prin răsturnarea microtuburilor deasupra unui recipient de deșeuri biologice. Scurgeți bine microtuburile inversându-le pe o hârtie absorbantă timp de 5 minute. Sau încărcăți placa cu godeuri adânci pe unitatea DW40 (cod : 3590137). Selectați programul «TSE DW» și numărul de barete care vor fi puse în lucru. Godeurile adânci trebuie să fie uscată la sfârșitul procesului DW40, prin răsturnarea plăcii pe hârtie absorbantă pentru 5 minute.

Distribuiți 25 μl (± 10%) de reactiv C în toate microtuburile sau godeurile microplacii.

Nu depășiți un interval de 10 minute între sfârșitul operației de uscare a tuburilor și distribuția tamponului C.

Incubați imediat timp de 5 ± 1 minute la 100°C ± 5°C. Nu depășiți 2 minute între distribuția reactivului C și începutul incubării. Nu sigilați microplaca cu godeuri adânci pe durata incubării.

Notă: Dacă utilizați placă cu godeuri adânci, termoblocul trebuie să fie echipat cu suport adaptat pentru astfel de plăci (cod : 3590134).

Scoateți microtuburile sau placa cu godeuri adânci din incubator și omogenizați tuburile cu ajutorul unui vortex (5 ± 2 secunde).

Probele din microtuburi sau microplacile pot fi conservate pentru 5 ore între +2°C și +8°C sau congelate pentru 72 de ore la -20°C. Probele congelate trebuie dezghețate la temperatura camerei (între +18°C și +30°C), și omogenizate cu un vortex (5 ± 2 secunde).

Probele purificate trebuie diluate cu 125 μl (± 10%) de reactiv R6. Probele diluate trebuie omogenizate într-un vortex (5 sec. ± 2 sec.) chiar înainte de distribuirea lor în placa (R1).

1. Scoateți suportul microplacilor și numărul de randuri necesare (R1) din ambalajul protector. Reintroduceți în ambalaj baretele nefolosite împreună cu punguta de desicant și închideți ermetic.
2. Preparați controlul pozitiv (R4) conform indicațiilor descrise în capitolul 3.4.2.
3. Pentru fiecare serie de teste și fiecare microplacă, distribuiți 100 μl (± 10%) de control/proba în godeuri în ordinea de mai jos.
 - Godeurile A1, B1, C1, D1: control negativ (R3)
 - Godeurile E1, F1: control pozitiv (R4)
 - Godeurile G1, H1, etc...: probe diluate cu reactivul (R6)

Probele se lucrează în simplicitate.

4. Acoperiți placa cu folie adezivă și incubați timp de 30 min ± 2 min la 37°C ± 2°C.
5. Preparați soluția de spălare (R2).
6. Preparați soluția de conjugat (R7).

7. Indepărtați folia adezivă, efectuați 3 cicluri de spălare.

Condițiile optime de spălare se realizează cu spălătoarele de microplăci PW40, PW41 sau 1575 de la Bio-Rad, utilizând programul TSE 3.

Nu lăsați microplaca goală mai mult de 5 minute după ultimul ciclu de spălare. Uscati bine barețele prin inversiunea pe o hârtie de filtru absorbantă înainte de a trece la următoarea etapă.

8. Adăugați 100 μ l (\pm 10%) de soluție de conjugat (R7) în fiecare godeu.

9. Acoperiți cu folie adezivă și incubați 30 min \pm 2 min între +2°C la +8°C.

10. Preparați soluția de revelare enzimatică (R8 + R9).

11. Îndepărtați folia adezivă, efectuați 5 cicluri de spălare.

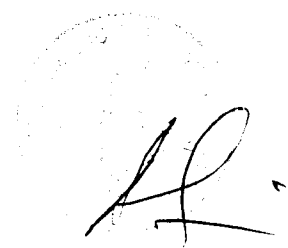
Condițiile optime de spălare se realizează prin folosirea spălătoarelor de microplăci PW40, PW41 sau 1575 de la Bio-Rad cu programul TSE 5.

Nu lăsați microplaca goală mai mult de 5 min după ultimul ciclu de spălare. Înainte de a trece la etapa următoare, scurgeți bine barețele prin răsturnare deasupra unei hârtii de filtru absorbante.

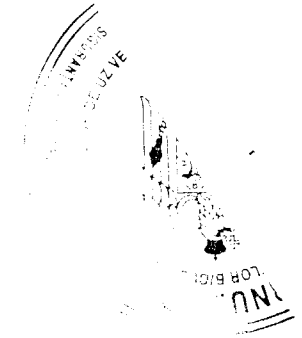
12. Adăugați 100 μ l (\pm 10%) de soluție de revelare (R8 + R9) în fiecare godeu și incubați microplaca la întuneric și la temperatura camerei (de la +18°C la +30°C) timp de 30 min \pm 5 min. Nu utilizați folie adezivă pe durata acestei incubări.

13. Adăugați 100 μ l (\pm 10%) de soluție de stopare (R10) în fiecare godeu în conformitate cu aceeași secvență și în același ritm de distribuție cu cele realizate în etapa soluției de revelare.

14. Stergeți fundul placilor și determinați densitatea optică la 450 nm - 620 nm (modul bicromatic) în maxim 30 minute de la stoparea reacției (barețele trebuie protejate întotdeauna de expunerea la lumină înainte de citire).



Parametrii de spalare a microplacilor



NAME: TSE 3

EDF mode function	PLATE	Manifolă	STRIPS	Met (Method)	MODE	CECS SW ASP	ASP TIME	VOLUME	OVER FLOW	LIQUID	FLOW	BOT WASH NUMBER	BOTTOM TIME	BOT ASP NUMBER	SHAKE TIME	N.OF CYCLES	SOAKING	WET FILTER	N.OF KITS	MT FILTER
Main parameter	Flat 01 (PW40/PW41) Flat 03 (1575)	1*8 (PW40/1575) 2*8 (PW41)	1,2,3,4 5,6,7,8,9 10,11,12																	
Method 1				WASH	Flat	Yes	0,3	800	2,5	WI	0 (PW40/1575) 5 (PW41)					3	30 (PW41) 45 (PW40/1575)	0		
Method 2				BOTTOM ASP	Flat	Yes	0,3									1	0			

NAME: TSE 5

EDF mode function	PLATE	Manifolă	STRIPS	Met (Method)	MODE	CECS SW ASP	ASP TIME	VOLUME	OVER FLOW	LIQUID	FLOW	BOT WASH NUMBER	BOTTOM TIME	BOT ASP NUMBER	SHAKE TIME	N.OF CYCLES	SOAKING	WET FILTER	N.OF KITS	MT FILTER
Main parameter	Flat 01 (PW40/PW41) Flat 03 (1575)	1*8 (PW40/1575) 2*8 (PW41)	1,2,3,4 5,6,7,8,9 10,11,12																	
Method 1				WASH	Flat	Yes	0,3	800	2,5	WI	0 (PW40/1575) 5 (PW41)					5	30 (PW41) 45 (PW40/1575)	0		
Method 2				BOTTOM ASP	Flat	Yes	0,3									1	0			

PLATE NAME: FLAT 01 (PW40/PW41) - FLAT 03 (1575)

BOT SHAKE	ASP HDR POS	CENTERING	ASP VERT PCS	BOT VERT PCS	B.W VERT POS	HORIZONTAL SPEED	VERTICAL SPEED	ASP DOWNW SPEED	DISP UPW SPEED	BOT DOWNW SPEED	BOT UPWARD SPEED	SHAKING AMPITUDE	SHAKING SPEED
Flat	1,4	0,3	10,5	9,5	9,5	6	8	6	9	6	9	1	9

2-7 CALCULUL ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

1) Calculul densității optice medii (DO) la controlul negativ

DO R3 = media celor 4 valori ale DO citite în godeurile R3

2) Calculul valorii de cut-off (prag)

Valoarea de prag este egala cu: $DO R3 + 0,210$

Exemplu :

DO R3 = 0,020

Valoarea prag = $0,020 + 0,210 = 0,230$

3) Condițiile de validare ale testului

• Controlul negativ (R3):

a) Validarea valorilor individuale ale controlului negativ:

Densitatea optică a fiecărui godeu de control negativ trebuie să fie mai mica de 0,150.

Cu toate acestea, se poate elimina cel mult o valoare aberantă dacă densitatea optica este mai mare sau egală cu 0,150.

Testul trebuie repetat dacă mai mult de o valoare a controlului negativ depășește această limită.

b) Omogenitatea valorilor controlului negativ:

Calculați media controalelor negative cu valorile individuale rămase.

Valorile ce depășesc media controalelor negative cu + 40% ($DO R3 + 40\%$) trebuie eliminate.

- Dacă o valoare individuala este eliminata la punctul a), se mai poate elimina încă o valoare individuala la punctul b).

- Dacă nu s-a eliminat nici o valoare a controlului negativ la punctul a), se pot elimina maxim două valori la punctul b).

Testarea trebuie repetată dacă mai mult de două valori ale controlului negativ sunt eliminate [conform criteriilor a)+b)].

• Controlul pozitiv (R4):

Media densităților optice obținute pentru controlul pozitiv (DO R4) trebuie să fie mai mare sau egală cu 1,000.

Testul trebuie repetat dacă media densităților optice ale controlului pozitiv (DO R4) este strict mai mică decât 1,000.

4) Interpretarea rezultatelor:

Probele ale căror densități optice sunt mai mici decât valoarea de prag se consideră negative conform instrucțiunilor trusei TeSeE™ SAP Combi.

Totuși, rezultatele situate chiar sub valoarea prag (valoarea de cut-off -10%) trebuie interpretate cu prudență, iar probele corespunzătoare trebuie retestate în duplicat, pornind de la omogenatul original.

Eșantioanele ale caror densitati optice sunt mai mari sau egale cu valoarea de prag sunt considerate ca fiind inițial reactive conform instrucțiunilor trusei TeSeE™ SAP Combi și trebuie retestate în duplicat pomind de la omogenatul original, înainte de interpretarea finala.

După repetarea testării, proba se clasifică ca fiind pozitivă în conformitate cu instrucțiunile trusei TeSeE™ SAP Combi atunci cand cel puțin una din cele 2 masuratori este pozitivă (mai mare sau egala cu valoarea de prag). O proba este considerata ca fiind negativa în conformitate cu instrucțiunilor trusei TeSeE™ SAP Combi dacă cele două valori sunt mai mici decât valoarea de prag.

Eșantioanele retestate în duplicat și găsite ca fiind negative în conformitate cu instrucțiunile trusei TeSeE™ SAP Combi, dar pentru care una din cele 2 valori este apropiată de valoarea de prag (valoarea de prag -10%) trebuie interpretate cu prudență.



2-8 LIMITELE TESTULUI

Dificultăți pot apărea în timpul etapei de omogenizare atunci când utilizați probe deshidratate sau țesuturi periferice. Dacă este necesar, etapa de omogenizare (etapa nr. 2 din protocolul de lucru) ar putea necesita repetarea de mai multe ori pentru acest tip de probe.

Un rezultat negativ înseamnă că proba testată nu conține PrP^{Sc} detectabilă prin testarea cu trusa TeSeE™ SAP Combi. Totuși, deoarece este posibil ca nivelele foarte scăzute de PrP^{Sc} să nu poată fi detectate, un rezultat negativ nu poate exclude definitiv posibilitatea unei infecții. Orice probă cu un rezultat pozitiv reproductibil în conformitate cu criteriile de interpretare ale testului trebuie confirmat în concordanță cu laboratorul național de referință pentru ESB din țara respectivă sau cu laboratorul comunitar de referință în circumstanțe excepționale.

3 - MATERIALE NECESARE NEINCLUSE ÎN TRUSĂ

- Apă distilată sau apă ultrapură.
- Hipoclorit de sodiu 20 000 ppm (concentrație finală) și soluție de hidroxid de sodiu 1M (concentrație finală).
- Hârtie absorbantă.
- Mănuși de unică folosință.
- Ochelari de protecție sau mască cu vizieră.

Etapa de purificare:

- Microtuburi de 2 ml de polipropilenă cu capace și stativ pentru tuburi corespunzător.
- Pipete reglabile automate sau semiautomate apte să pipeteze volume de la 20 μL la 500 μL.
- Omogenizator de țesuturi: Ribolyser®, TeSeE™ PRECESS 24™ sau TeSeE™ PRECESS 48™.*
- Centrifuga* adaptată pentru microtuburile folosite.
- Un incubator uscat* pentru microtuburi termostatat la 37°C ± 2°C și un al doilea termobloc* termostatat la 100°C ± 5°C.

Pentru purificarea semiautomată a probei: Sistemul TeSeE™ NSP.

Etapa de detecție:

- Pipete automate sau semiautomate reglabile sau fixe apte pentru distribuția de 50μl, 100μl, 200μl și 1000 μl
- Tuburi de testare gradate de 10 ml, 20 ml și 100 ml.
- Containere pentru deșeuri contaminate.
- Incubator pentru microplăci termostatat la 37°C ± 2°C.
- Camera frigorifică pt temperaturi de la +2°C la +8°C.
- Spălător* de microplăci automat sau semiautomat.
- Cititor de microplăci* (echipat cu filtre de 450 nm și 620 nm).
- Cititor de microplăci* pentru automatizarea etapelor protocolului de lucru. Performanțele sistemului trebuie să corespundă cerințelor din protocolul de testare.

* Contactați Bio-Rad pentru lista instrumentelor disponibile.

4 - PRECAUȚII

Calitatea rezultatelor depinde de respectarea următoarelor bune practici de laborator :

- Reactivii trebuie păstrați între +2°C și +8°C.
- Nu folosiți reactivi expirați.

• Nu folosiți soluția reconstituită și păstrată la temperatura camerei de protează K (între +18°C și +30°C) după mai mult de 6 ore.

• Nu amestecați reactivii proveniți din loturi diferite de truse TeSeE™ SAP Combi în timpul aceleiași manipulari, cu excepția reactivilor generici: soluție de spălare (R2), diluant de probe (R6), tamponul substrat de peroxidază (R8), cromogen (R9), soluție de stopare (R10), tuburi de omogenizare, reactiv A și reactiv B.

• Soluția de spălare (R2), diluantul de probe (R6), tamponul substrat de peroxidază (R8), cromogenul (R9), soluția de stopare (R10) și tuburile de omogenizare se pot folosi cu toate trusele din gama TeSeE™ (procedurile ovine/caprine TeSeE™, TeSeE™ SAP și TeSeE™).

• Lăsați reactivii să ajungă la temperatura camerei (între +18°C și +30°C) timp de 30 minute înainte de utilizare.

• Reconstituiți complet reactivii, evitând orice posibilitate de contaminare.

• Nu efectuați testarea în prezența vaporilor reactivi (acizi, baze, aldehide) sau a prafului, deoarece ar putea altera activitatea enzimatică a conjugatului.

• Folosiți numai tuburi de polipropilenă.

• Utilizați sticlărie spălată foarte bine, clătită în apă distilată, sau preferabil materiale de unică folosință.

• Nu lăsați microplaca mai mult de 5 minute între sfârșitul etapei de spălare și distribuția reactivilor.

• Reacția enzimatică este foarte sensibilă la contactul cu toate metalele sau ionii metalici. Prin urmare, nici un element metalic nu trebuie să intre în contact cu diversele soluții de conjugat sau de substrat.

• Soluția de revelare (substrat tampon + cromogen) trebuie să fie incoloră. Apariția unei colorații la câteva minute după reconstituire indică faptul că reactivul nu poate să fie folosit și trebuie înlocuit. Soluția de revelare trebuie să fie preparată de preferință utilizând recipiente de plastic de unică folosință și material de distribuție sau sticlărie spălată în prealabil în acid clorhidric 1 N, clătite temeinic în apă distilată și perfect uscate. Păstrați soluția de revelare ferită de lumină.

• Schimbați vârful de pipetă pentru fiecare probă.

• Spălarea godeurilor reprezintă o etapă esențială a protocolului de lucru: respectați numărul de cicluri de spălare recomandat și asigurați-vă ca toate godeurile să fie umplute complet, apoi golite complet. O spălare inadecvată poate genera rezultate incorecte.

• Nu folosiți niciodată același recipient și aceeași pipetă pentru distribuția conjugatului și a soluției de revelare.

5 - MĂSURI DE IGIENĂ ȘI PROTECȚIA MUNCII

În general, măsurile de igienă, de biosecuritate și bunele practici de laborator trebuie să fie în conformitate cu recomandările autorității naționale ale fiecărei țări.

• Toți reactivii trusei sunt destinați exclusiv diagnosticului *in vitro*.

• Purtați mănuși de unică folosință la manipularea reactivilor și a probelor și spălați-vă mâinile foarte bine după manipularea acestora.

• Nu pipetați cu gura.

• Utilizați recipiente de polipropilenă pentru evitarea rănirii cu sticlărie spartă.

• Toate materialele care vine în contact direct cu probele și cu soluția de spălare trebuie considerate ca fiind materiale contaminate.

• Evitați stropirea cu probe sau cu soluții care conțin probe de testat.

• Suprafețele contaminate trebuie curățate cu soluție de hipoclorit de sodiu 20000 ppm (clor). Atunci când lichidul de contaminare este un acid, suprafețele contaminate trebuie mai întâi neutralizate cu hidroxid de sodiu înainte de utilizarea clorului. Suprafețele trebuie clătite cu apă distilată, uscate cu etanol și șterse cu hârtie absorbantă. Materialele folosite la curățenie trebuie aruncate într-un container special pentru deșeuri contaminate.

• Probele, materialul și produsele contaminate trebuie eliminate după decontaminare:

- fie prin scufundare în hidroxid de sodiu 1M (concentrație finală) timp de 1 oră la temperatura

camerei (între +18°C și + 30°C).

- fie prin scufundare în soluție de hipoclorit de sodiu 20000 ppm timp de 1 oră la temperatura camerei (între +18°C și + 30°C).

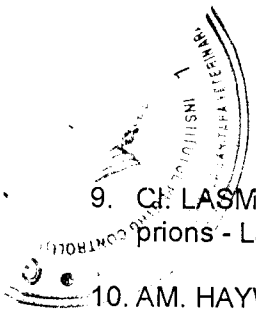
- sau prin autoclavare la minim 134°C cel puțin 18 minute, la presiune 3 bari.

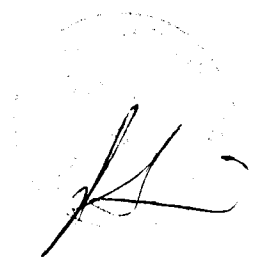
Nota: Nu se supun autoclavării soluțiile ce conțin hipoclorit de sodiu sau reactiv B.

- Toate operațiunile implicate în realizarea testării pentru determinarea unei encefalopatii spongiforme transmisibile (EST) sunt obiectul unor reglementări și trebuie efectuate într-un laborator izolat, în care accesul este limitat și controlat, destinat în exclusivitate acestei activități. Sunt necesare un halat, botoși de plastic, mănuși, o mască cu vizieră sau una simplă cu ochelari de protecție pentru asigurarea protecției operatorului.
- Operatorii trebuie să fie instruiți în mod special asupra riscului corelat cu agenții EST sau a prionilor și asupra modalităților de decontaminare validate pentru agenții neconvenționali. Măsurile de biosecuritate trebuie să fie conforme cu recomandările autorității naționale responsabile ale țării respective.
- Evitați orice contact al pielii sau mucoaselor cu tamponul substrat, cromogenul și soluția de stopare.
- Neutralizați și/sau autoclavați toate soluțiile de spălare sau deșeurile rezultate în urma spălării sau orice lichid ce conține probele biologice înainte de eliminarea acestora.
- Pentru recomandări privind pericolele și măsurile de precauție referitoare la acest kit de testare, vă rugăm să țineți cont de pictogramele regasite pe etichetele reactivilor și de informațiile furnizate la sfârșitul instrucțiunilor de utilizare a documentului. Fișa tehnică de siguranță se regăsește pe www.bio-rad.com.

6 – BIBLIOGRAFIE

1. J. GRASSI, E. COMOY, S. SIMON, C. CREMINON, Y. FROBERT, S. TRAPMANN, H. SCHIMMEL, S.A.C. HAWKINS, J. MOYNAGH, JP DESLYS, G.A.H. WELLS (2001) Rapid Test for the preclinical postmortem diagnosis of BSE in central nervous system tissue. *The Veterinary Record* (149) 577-582.
2. JP. DESLYS, E. COMOY, S. HAWKINS, S. SIMON, H. SCHIMMEL, G. WELLS, J. GRASSI, J. MOYNAGH (2001) Screening slaughtered cattle for BSE - *Nature* (409) 476-477.
3. E. COMOY (2000) Contribution au développement d'un test de diagnostic post mortem des bovins atteints d'Encephalopathie Spongiforme Bovine. Thèse de doctorat vétérinaire (Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort).
4. EUROPEAN COMMISSION Directorate General DG XXIV (1999). Preliminary Report : The evaluation of tests for the diagnosis of transmissible Spongiform Encephalopathy in bovines.
5. JP. DESLYS (1999) Prévention du risque d'Encephalopathie Spongiforme Subaiguë Transmissible. *La Revue du Praticien* (49) 966-970.
6. R. KNIGHT (1999) The relationship between new variant Creutzfeldt-Jakob Disease and Bovine Spongiform Encephalopathy - *Vox sanguinis* (76) 203-208.
7. D. DORMONT (1997) Les Agents Transmissibles Non Conventionnels ou prions - *Virologie* (1) 11-22
8. F. HILLA, M. DESBRULAIS, S. JOINER, KCL SIDLE, I. GOWLAND, J. COLLINGE, LJ. DOEY, P. LANTOS (1997) The same prion strain causes CJ disease and BSE - *Nature* (389) 448-450.

- 
9. CH. LASMEZAS, JP. DESLYS, O. ROBAIN, D. DORMONT (1997) L'agent secret des maladies à prions - La Recherche 46-53.
 10. AM. HAYWOOD (1997) Transmissible Spongiform Encephalopathies. The New England Journal of Medicine (337-25) 1821-1823.
 11. J. COLLINGE, KC. SIDLE, J. MEADS, J. IRONSIDE, AF. HILL (1996) Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of "new variant" CJD. Nature (383) 685-690.
 12. RG. WILL, J. IRONSIDE, M. ZEIDLER, SN. COUSENS, K. ESTIBEIRO, A. ALPEROVITCH, S. POSER, M. POCCHIARI, A. HOFMAN, PG. SMITH (1996) A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the U.K. - Lancet (347) 911-925.
 13. SB. PRUSINER & AL (1993) Immunologic and molecular biologic studies of prion protein in Bovine Spongiform Encephalopathy. The Journal of Infectious Diseases (167) 602-613



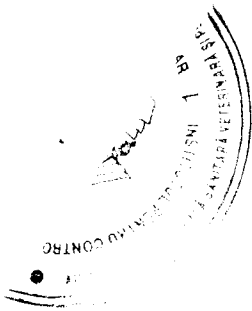
Seringa de prelevare

cod 3551175

METODA DE PRELEVARE A PROBELOR PENTRU TESTELE BIO-RAD DE
SCREENING EST

BIO-RAD





CUPRINS

1 – GENERALITĂȚI

1-1 PRELEVAREA PROBELOR LA ABATOR

1-2 PRELEVAREA PROBELOR ÎN LABORATOR

2 – SERINGA DE PRELEVARE BIO-RAD

3 – CANTITATEA DE PROBĂ NECESARĂ TESTĂRII

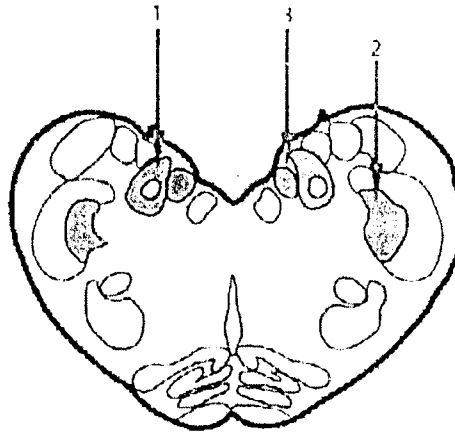
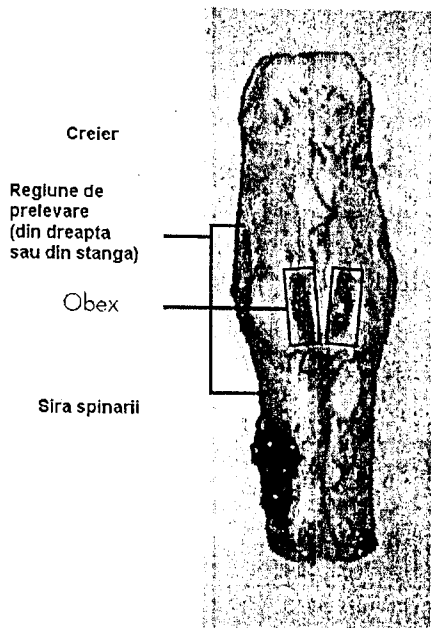
4 – MODUL DE LUCRU

5 – PRECAUȚII/SFATURI UTILE

6 – MĂSURI DE IGIENĂ ȘI PROTECȚIA MUNCII

1 – GENERALITĂȚI

Testele de screening Bio-Rad TSE se realizează pe o probă de 350 ± 40 mg de țesut nervos central (SNC). Regiunea anatomică specifică pentru detecția PrP^{Sc} la animalele infectate este trunchiul cerebral, mai exact în regiunea nucleului nervului vag, în zona obexului. Aceasta este regiunea trunchiului cerebral în care PrP^{Sc} are cea mai mare concentrație.



Secțiune a trunchiului cerebral la nivelul obexului reprezentând situsurile țintă pentru diagnosticul histopatologic și imunohistochimic în ESB (nucleul tractului solitar [1] și nucleul tractului V trigeminal [2]) și în scrapie (nucleul dorsal al nervului vag [3]). (Sursă: OIE – Manualul de Teste de Diagnostic și Vaccinuri pentru Animale Terestre)

1 - 1 Prelevarea probelor la abator

Trunchiul cerebral se prelevează ușor și repede cu ajutorul unui instrument corespunzător sau a unei linguri de recoltare a probelor, prin foramenul occipital, fără deschiderea cavității craniene.



Prelevarea probelor folosind lingura de prelevare Bio-Rad

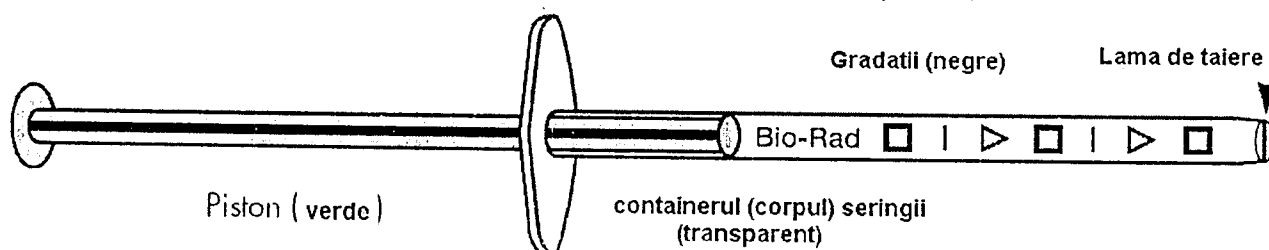
1 - 2 Prelevarea probelor în laborator

Întregul trunchi cerebral se trimite la laborator pentru testare asigurându-se respectarea măsurilor de biosecuritate recomandate de autoritățile de reglementare din fiecare țară. În laborator, cantitatea adecvată de material cerebral se va tăia (cu un bisturiu,...) din regiunea obexului sau recoltarea cu seringă de prelevare **Bio-Rad sample syringe (cod: 3551175)** ce face posibilă recoltarea cantității necesare din aria recomandată, rapid și sigur, fără nici un risc de rănire prin taiere.

În cele ce urmează este descrisă procedura propriu-zisă de colectare a probelor din regiunea obexului folosind seringă de prelevare Bio-Rad, fără a deteriora țesutul prelevat.

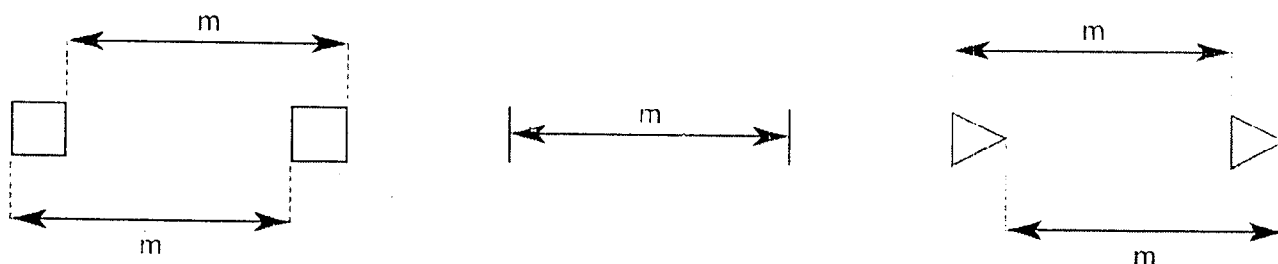
2 – SERINGA DE PRELEVARE PROBE BIO-RAD

Seringa de prelevare probe Bio-Rad este alcătuită dintr-un piston de culoare verde și un corp de seringă transparent. Corpul seringii este gradat prin serii de forme geometrice (□ ▷ |).



3 - CANTITATEA DE PROBĂ NECESARĂ TESTĂRII

Masa de probă recoltată trebuie să ocupe spațiul dintre două simboluri de aceeași formă ceea ce corespunde unei mase (m) de 350 +/- 40 mg.



4 – MODUL DE LUCRU

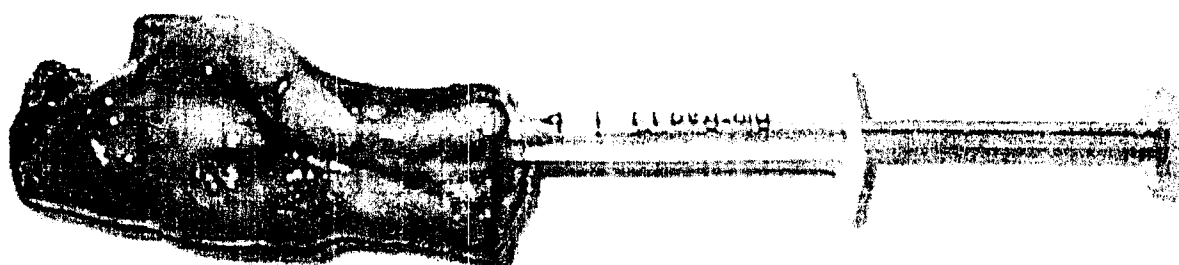
- Luați o seringă de prelevare și trageți în afară pistonul verde până la aproximativ 1 cm de garda corpului seringii, apoi împingeți pistonul înapoi în poziția de bază.
- Apucați fem trunchiul cerebral cu o mână, folosind o bucată de folie de unică folosință (de exemplu o bucată de pungă de plastic, mănușă, etc.) pentru evitarea posibilelor contaminări ale probelor între ele. Capătul terminal al trunchiului cerebral trebuie să rămână accesibil. Dacă trunchiul cerebral primit are măduva prea lungă, operatorul trebuie să o scurteze. Persoanele care efectuează prelevările trebuie instruite corespunzător în legătură cu localizarea precisă a zonei de interes pentru prelevare.
- Folosiți cealaltă mână pentru a plasa capătul deschis al seringii de prelevare în partea dreaptă sau în partea stângă a capătului caudal al trunchiului cerebral.

Notă: după recoltarea probei, o semisecțiune completă a trunchiului cerebral cu o regiune intactă de obex trebuie să rămână disponibilă pentru testarea de confirmare.

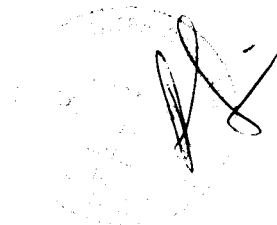



- Introduceți treptat corpul seringii în trunchiul cerebral în timp ce țineți nemișcat pistonul verde (relativ la trunchiul cerebral).

Notă: Pe durata colectării probei din regiunea obexului, aveți grijă ca corpul seringii să rămână în zona selectată pentru prelevare din trunchiul cerebral.



- Oprți această mișcare atunci când capătul corpului seringii a atins limita superioară a zonei de prelevare.
- Tăiați miezul probei prin răsucirea corpului seringii cu o tură completă.
- Scoateți încet seringă de prelevare din trunchiul cerebral, având grijă să nu deteriorați țesuturile din jur. Trunchiul cerebral rămas poate fi reintrodus în containerul său original.
- Verificați dacă sunt bule de aer în porțiunea de probă recoltată. La nevoie, comprimați proba închizând capătul corpului seringii și presând cu pistonul verde până la eliminarea bulelor de aer. În același timp asigurați-vă că nu se pierde țesutul limitrof deschiderii corpului seringii.
- Ținând astupat capătul corpului seringii, deplasați pistonul verde până la cel mai apropiat simbol marcat pe corpul seringii.
- Verificați dacă proba prelevată acoperă cel puțin o zonă "m"corespunzătoare, așa cum este descrisa în capitolul anterior al acestui document (masa de probă necesară testării).
- Luați un tub de omogenizare și îndepărtați capacul, iar cu seringă de prelevare împingeți cu grijă pistonul verde până la următorul simbol identic pentru a vă asigura că este dispersată cantitatea corectă de țesut ("m") în tubul de omogenizare. Reamintiți-vă că mișcarea pistonului trebuie să atingă poziția corespunzătoare următorului simbol, așa cum este indicat în "Masa de probă necesară testării".



- 
- Tăiați miezul de proba prin prinderea capătului seringii de prelevare pe marginea interioară a tubului de omogenizare.

Probele de calitate proastă trebuie fie disecate sau dacă prezintă un grad avansat de autoliză trebuie pipetate.

- Porțiunea nefolosită din miezul de probă se poate păstra prin introducerea seringii de prelevare cu totul în containerul original în care rămâne și restul de trunchi cerebral.

5 – PRECAUȚII / SFATURI UTILE

Ca în cazul oricărui dispozitiv de pipetare, Bio-Rad recomandă ca operatorii ce folosesc seringi de prelevare să fie monitorizați periodic, pentru un număr semnificativ statistic de probe prelevate, asigurând în acest fel reproductibilitatea maselor de țesut prelevate.

Seringile de prelevare sunt de unică utilizare și apoi trebuie aruncate pentru a preveni contaminarea încrucișată a probelor.

Proba trebuie prelevată cu toate precauțiile necesare pentru reducerea la minim a riscului de contaminare a operatorilor.

Seringile folosite se aruncă după ce au fost decontaminate (consultați Măsurile de Igienă și Sanătate a muncii).

Dacă proba prelevată nu umple întreg corpul seringii în ciuda respectării procedurii corecte de prelevare, este recomandabil să se cântărească proba.

6 – MĂSURI DE IGIENĂ ȘI PROTECȚIA MUNCII

Condițiile de igienă, măsurile de biosecuritate și bunele practici de laborator trebuie fie în conformitate cu recomandările autorității de reglementare din fiecare țară.

Seringa de prelevare este destinată în exclusivitate procedurilor de diagnostic "in vitro".

Purtați mănuși de unică folosință la manipularea reactivilor și a probelor, și spălați-vă temeinic mâinile după manipularea acestora.

Orice echipament care a venit în contact direct cu probele trebuie considerat ca fiind contaminat.

Suprafețele contaminate trebuie curățate cu soluție de hipoclorit de sodiu 20000 ppm. Atunci când lichidul de contaminare este un acid, suprafețele contaminate trebuie neutralizate cu hidroxid de sodiu înainte de a le decontamina cu hipoclorit de sodiu. Suprafețele trebuie clătite cu apă distilată, uscate cu etanol și șterse cu hartie absorbantă. Materialele folosite la curățenie trebuie aruncate în containerul special de deșuri contaminate.

Probele, echipamentul și produsele contaminate trebuie aruncate după decontaminare utilizând una din următoarele metode:

- prin scufundare în hidroxid de sodiu 1 M (concentrație finală) timp de 1 oră la temperatura camerei (între +18°C și +30°C).
- prin scufundare în soluție de hipoclorit de sodiu 20000 ppm timp de 1 oră la temperatura camerei (între +18°C și +30°C).
- prin autoclavare la o temperatură de cel puțin 134°C timp de minim 18 minute, la presiune de 3 bari.
- Notă: Soluțiile ce conțin clor nu se autoclavează.



Toți operatorii ce participă la testările de screening pentru encefalopatiile spongiforme transmisibile (EST) se supun măsurilor de securitate locale în vigoare și trebuie efectuate în laboratoare izolate, cu acces limitat și controlat, dedicate în exclusivitate acestui tip de activitate. Sunt necesare un halat de laborator sau salopeta, botoși de plastic peste încălțăminte, două perechi de mănuși, masca cu vizieră sau masca simplă cu ochelari de protecție pentru a asigura protecția operatorului.

Operatorii trebuie să primească un instructaj specific cu privire la riscul asociat agenților EST sau a prionilor, dar și asupra metodelor de decontaminare validate pentru agenții neconvenționali. Măsurile de biosecuritate trebuie să respecte recomandările autorității de reglementare din țara vizată.



Trusa TeSeE™ SAP Combi

Protocolul Scurt

Σ 192

Σ 384

Σ 768

REF 3551186

REF 3551192

REF 3551191

REACTIVI PENTRU PURIFICAREA ȘI DETECȚIA *IN VITRO* A PrP^{Sc}

Maladia Cronica Casectizanta
(Cerb/Elan – Obex și Ganglioni Limfatici)

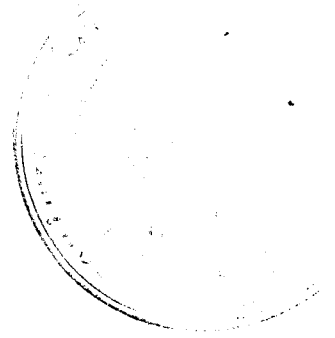
Acest document conține informații specifice despre testarea probelor provenite de la cervide. Pentru protocolul complet, consultați instrucțiunile de utilizare ale trusei TeSeE™ SAP Combi.



2016/10

BIO-RAD

CUPRINS



1 - GENERALITĂȚI

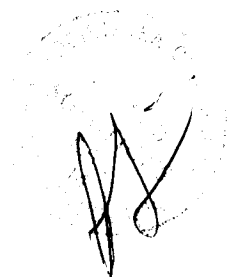
2 - TRUSA TeSeE™ SAP Combi

2 - 1 Principiul

2 - 2 Prelevatele

2 - 6 Modul de lucru

2 – 7 Calcularea si interpretarea rezultatelor



– GENERALITĂȚI

Maladia cronică cazeozantă (MCC) este o boală lentă degenerativă a sistemului nervos central în cazul cerbilor și elanilor, indusă de un prion anormal.

Confirmarea diagnosticului se bazează pe evidențierea leziunilor caracteristice la nivelul sistemului nervos central detectate prin examen histopatologic postmortem (vacuolizare neuronală și pierdere de țesut nervos, proliferarea astrocitelor, spongioză) și identificarea proteinei anormale PrP^{Sc} în urma tratării prelevatelor cu proteinază K.

Există tot mai multe informații care demonstrează acumularea prionilor anormali în obex și ganglioni limfatici retrofaringieni la cerbul-cătar, cerbul cu coadă albă și la elan.

Testarea se realizează cu reactivii și materialele accesorii următoare:

- Trusa TeSeE™ SAP Combi (192 testări)	cod: 3551186
- Trusa TeSeE™ SAP Combi (384 testări)	cod: 3551192
- Trusa TeSeE™ Combi (768 testări)	cod: 3551191
- Tuburi de omogenizare (384 tuburi)	cod: 3551139
- Tuburi de omogenizare (768 tuburi)	cod: 3551137
- Seringi și ace de calibrare (x 200) sau Plăci filtrante (x 50)	cod: 3551174 cod: 3551179
- Microplăci cu godeuri adânci (x 50)	cod: 3590132
- Sfere medii (x 2000)	cod: 3551171*

*Doar pentru țesuturi periferice

2 – Trusa TeSeE™ SAP Combi

2-1 PRINCIPIUL

Reactivii trusei TeSeE™ SAP Combi permit purificarea, concentrarea, solubilizarea și detectia PrP^{Sc} din eșantioane de țesut nervos prelevat de la animalele infectate.

Trusa de detecție TeSeE™ SAP este concepută pe baza unei tehnici imuno-enzimatice (în format sandwich) ce folosește 2 anticorpi monoclonali pentru detecția proteinei prionice anormale, rezistentă la proteinază K, în țesuturile prelevate de la animale infectate.

Faza solidă constă în 12 barete a câte 8 godeuri de polistiren captusite cu primul anticorp monoclonal. Al doilea anticorp monoclonal este cuplat cu peroxidază.

2-2 PRELEVATELE (PROBELE BIOLOGICE)

Purificarea PrP^{Sc} se efectuează din probe din obex sau ganglioni limfatici retrofaringieni.

Dacă purificarea se face în următoarele 24 de ore, eşantioanele vor fi păstrate între +2°C și +8°C sau se vor congela la -20°C dacă se dorește păstrarea lor pe durata a câteva luni. Eşantioanele nu se vor congela/decongela mai mult de 3 ori. În caz de necesitate de transport, eşantioanele trebuie ambalate în conformitate cu reglementările naționale în vigoare.

2-6 MODUL DE LUCRU

Pentru metoda semi-automată a protocolului de purificare, vă rugăm să consultați manualul de utilizare a sistemului TeSeE™ NSP.

Procedeeul de lucru manual :

1. Prelevarea probelor:

- Pentru esantioane de obex, prelevați o cantitate de 350 ± 40 mg de țesut nervos.
- Pentru esantioane de ganglioni limfatici retrofaringieni, înainte de a introduce proba în tubul de omogenizare, introduceți o sferă medie (cod : 3551171). Prelevați o cantitate de $200 \text{ mg} \pm 20 \text{ mg}$ de țesut din 2-3 zone diferite ale cortexului extern al ganglionului limfatic. Taiati tesutul in 2-3 bucati mai mici inainte de a-l introduce in tubul de omogenizare. Strangeti bine capacul si treceti la etapa de omogenizare.

2. Omogenizarea probelor:

Nota: Nu se poate utiliza omogenizatorul TeSeE™ Precess 24™ atunci cand se foloseste o sfera medie pentru omogenizarea probei din ganglioni limfatici, deoarece exista riscul unor scurgeri de esantion.

Plasați tuburile pe suportul circular al omogenizatorului (sistemul Ribolyser®, TeSeE™ PRECESS 24™ sau TeSeE™ PRECESS 48™). In cazul Ryboliser-ului, recurgeti la 2 cicluri de agitare utilizand parametrii instrumentului mentionati in tabelul de mai jos. Pentru TeSeE™ Precess 48™ alegeți Programul 2 dupa cum urmeaza:

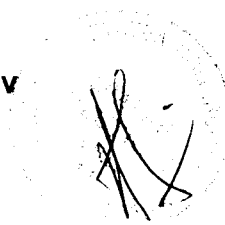
	Obex		Ganglioni Limfatici	
	Ribolyser®	TeSeE™ PRECESS 48™ TeSeE™ PRECESS 24™	Ribolyser®	TeSeE™ PRECESS 48™
Timp (sec.)	45		45	
Viteză	6.5		6.5	
Numar	2	N/A	2	N/A
Program	-	Program 1	-	Program 2

Dacă omogenizarea este insuficientă, mai puteți efectua alte 1-2 cicluri suplimentare de agitare. In orice caz, temperatura tubului trebuie să revină la temperatura ambiantă (intre +18°C si +30°C) între fiecare ciclu, prin menținerea tuburilor pe gheață pisată. Lăsați 5 minute pauză între fiecare ciclu de agitare pentru a permite aparatului sa se raceasca.

2-7 CALCULUL ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

1) Calculul mediei densităților optice (DO) la controlul negativ

DO R3 = media celor 4 valori ale DO citite în godeurile R3



2) Calculul valorii cut-off (prag) _____

Valoarea prag este egala cu: $DO R3 + 0,110$

Exemplu :

$DO R3 = 0,020$

Valoarea prag = $0,020 + 0,110 = 0,130$

3) Condițiile de validare a testului

• Controlul negativ (R3):

a) Validarea valorilor individuale ale controlului negativ:

Densitatea optică a fiecărui godeu de control negativ trebuie să fie mai mica de 0,150.

Cu toate acestea, se poate elimina cel mult o valoare aberantă dacă densitatea optica este mai mare sau egală cu 0,150.

Testul trebuie repetat dacă mai mult de o valoare a controlului negativ depășește această limită.

b) Omogenitatea valorilor controlului negativ:

Calculați absorbția medie a controalelor negative cu valorile individuale valide rămase.

Valoarea individuală ce depășește media controalelor negative cu + 40% ($DO R3 + 40\%$) trebuie eliminata.

-Dacă s-a eliminat o valoare individuala la punctul a), se mai poate elimina încă o valoare la punctul b).

-Dacă nu s-a eliminat nici o valoare la punctul a), se pot elimina maxim două valori la punctul b).

Testarea trebuie repetată dacă mai mult de două valori ale controlului negativ au fost eliminate [conform criteriilor a)+b)].

• Controlul pozitiv (R4):

Media densităților optice obținute pentru controlul pozitiv ($DO R4$) trebuie să fie mai mare sau egală cu 1,000.

Testarea trebuie repetată dacă media densitatilor optice pentru controlul pozitiv ($DO R4$) este mai mică decât 1,000.

4) Interpretarea rezultatelor:

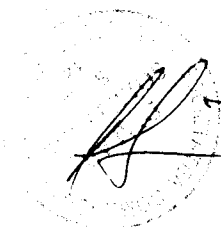
Probele ale căror densități optice sunt mai mici decât valoarea prag (cut-off), se consideră a fi negative conform instrucțiunilor trusei TeSeE™ SAP.

Totuși rezultatele situate chiar sub valoarea prag (valoarea prag minus 10% din valoarea prag) trebuie interpretate cu prudență, iar probele corespunzătoare trebuie retestate în duplicat, pornind de la omogenatul original.

Eșantioanele ale caror densitati optice sunt mai mari sau egale cu valoarea prag sunt considerate initial ca fiind reactive conform instrucțiunilor trusei TeSeE™ SAP Combi și trebuie retestate în duplicat pornind de la omogenatul original, înainte de interpretarea finala.

După repetarea testării, eșantionul se clasifică ca pozitiv în conformitate cu instrucțiunile trusei TeSeE™ SAP dacă cel puțin una din masuratori este pozitivă la repetare ($DO \geq$ valoarea prag). Un eșantion se va clasifica ca negativ în conformitate cu instrucțiunile trusei TeSeE™ SAP dacă aceste două valori, la repetare, sunt mai mici decât valoarea prag.

Eșantioanele retestate în duplicat și găsite ca fiind negative în conformitate cu instrucțiunile trusei TeSeE™ SAP, dar pentru care una din cele doua valori este apropiată de valoarea prag (valoarea prag minus 10% din valoarea prag) trebuie interpretate cu prudență.



Trusa TeSeE™ SAP Combi

REF 3551192

TRUSĂ DE REACTIVI PENTRU PURIFICAREA SI DETECȚIA IN VITRO A PrPSc

384

TEST IN VITRO

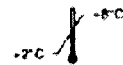
- | | | | | | |
|----|------------|---|-----|-----------------|---|
| A | 1 x 120 ml | Soluție tampon de denaturare | R4 | 2 x 1 ml | Control pozitiv |
| B | 1 x 120 ml | Soluție tampon de precipitare | R6 | 1 x 70 ml | Soluție pentru diluția probelor |
| C | 1 x 14 ml | Soluție tampon de solubilizare | R7 | 2 x 2,8 ml | Conținut (10x) |
| PK | 2 x 0,5 ml | Proteinaza K | R8 | 1 x 120 ml | Tampon substrat de peroxidaza (0.015% H2O2, 4%DMSO) |
| R1 | 4 x 1 | Microplaci cu godeurile capturate cu anticorpii proteinei prionice Anti-PrP MAb (soarece) | R9 | 1 x 10 ml | Substrat cromogen (TMB) |
| R2 | 2 x 250 ml | Soluție de spălare concentrată (10x) | R10 | 1 x 56 ml | Soluție de stopare (H2SO4 1N) |
| R3 | 2 x 4 ml | Control negativ | 12 | Foliile adezive | |



Change: H926 - P014 - P017 - P034 - P042
P210 - P201 - P202 - P306+P361+P353
P308+P313 - P314+P311 - P312 - P501

See SDS for Product Safety Information:
www.bio-rad.com

Za-Nr. BFAWBEU17001

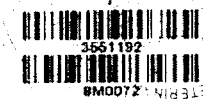


Trusa TeSeE™ SAP Combi

REF 3551192



(01)03610520478981
(17)191018
(10)8M0072



3551192
8M0072
GARANTIA A MENTE

LOT	8M0072	2019-10-18	R4	LOT	810076	2019-11-09	
A	LOT	8K0122	2019-10-31	R6	LOT	8M0072	2019-11-23
B	LOT	8K0122	2019-11-25	R7	LOT	8M0072	2019-11-29
C	LOT	8M0121	2019-11-24	PK	LOT	8M0121	2019-11-18
PK	LOT	8M0121	2019-11-18	R1	LOT	8K0072	2019-10-18
R1	LOT	8K0072	2019-10-18	R2	LOT	8L0088	2020-05-28
R2	LOT	8L0088	2020-05-28	R3	LOT	8M0072	2019-11-22
R3	LOT	8M0072	2019-11-22	R10	LOT	8L0497	2020-11-22



01006064451144108M0072175

883204

TeSeE™ Trusa de purificare A

Soluție tampon de denaturare 120 ml

TEST IN VITRO



BIO-RAD

Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette



LOT 8K0122
2019-10-31



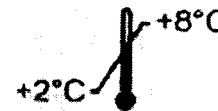
52RA8K0122103119

883210

TeSeE™ Trusa de purificare B

Soluție tampon de precipitare 120 ml

TEST IN VITRO



Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette

BIO-RAD

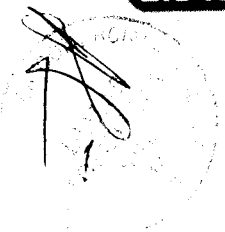


LOT 8K0122
2019-11-25



52RB8K0122112519

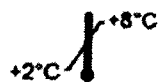
883206



TeSeE™ Trusa de purificare C

Solutie tampon de solubilizare 14 ml

TEST IN VITRO



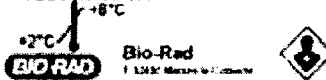
BIO RAD Bio-Rad
F 92430 Marnes-la-Coquette

LOT 8M0121 2019-11-24
SZRC8M012112419
883210

TeSeE™ Trusa de purificare PK

Proteinaza K 0.5 ml

TEST IN VITRO



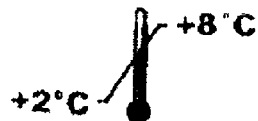
LOT 8M0121 2019-11-18

883236
SZRC8M012111819

TeSeE™ Trusa de detectie R1

Barete captusite cu anticorpii proteinei prionice Anti-PrP MAb (soarece) x 12

TEST IN VITRO



Bio-Rad - F 92430-Marnes la Coquette

LOT 8K0072 2019-10-18
00013
27001072181019

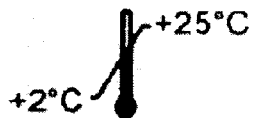
Stampa circulară: INSTITUTUL NAȚIONAL DE VETERINARIE ȘI ZOOTEHNICĂ

Stampa circulară cu semnătură și text: INSTITUTUL NAȚIONAL DE VETERINARIE ȘI ZOOTEHNICĂ

TeSeE™ Trusa de detectie R2

Solutie concentrata de spalare 250 ml

TEST IN VITRO



BIO-RAD Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette

8L0088
2020-05-28
25202088280520

LOT X

883212

TeSeE™ Trusa de detectie R3
Control negativ 4 ml

TEST IN VITRO



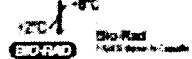
6M0072
2019-11-22

LOT X

883217

TeSeE™ Trusa de detectie R4
Lymph/Luid
Controlul pozitiv exacto 4 ml

IN VITRO TEST



6L0078
2019-11-29

LOT X

883218

TeSeE™ Trusa de detectie R6

Diluentul pentru probe 70 ml

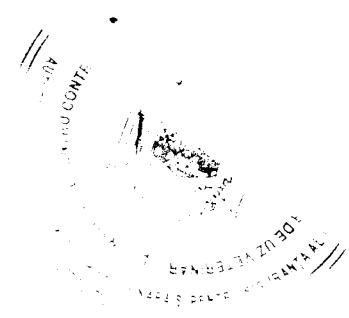
TEST IN VITRO



8M0072
2019-11-23

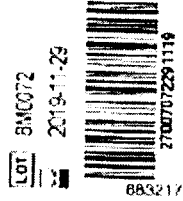
LOT X

883219



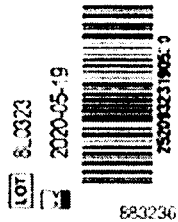
TeSeE™ Trusa de detectie R7
Conjugatul (10x) 2.8 ml

TEST IN VITRO
+2°C / +8°C
BIO-RAD Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette



TeSeE™ Trusa de detectie R9
Cromogen: solutie IMB 10 ml

TEST IN VITRO
+2°C / +8°C
BIO-RAD Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette



TeSeE™ Trusa de detectie R8

Tampon substrat 120 ml

TEST IN VITRO

+2°C / +8°C
BIO-RAD Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette

LOT 8M0553
2020-06-02



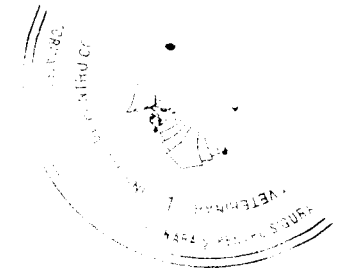
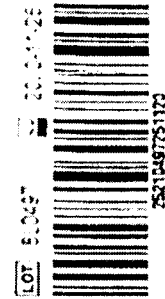
883213

TeSeE™ Trusa de detectie R10

Solutie de stopare 56 ml

TEST IN VITRO

+2°C / +8°C
BIO-RAD Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette



Trusa TeSeE™ SAP Combi

REF 3551186

TRUSĂ DE REACTIVI PENTRU PURIFICAREA SI DETECȚIA IN VITRO A PrP^{Sc}

192

TEST IN VITRO

- | | |
|--|--|
| A 1 x 55 ml Soluție tampon de denaturare | R4 1 x 4 ml Control pozitiv |
| B 1 x 55 ml Soluție tampon de precipitare | R6 1 x 35 ml Soluție pentru diluția probelor |
| C 1 x 7 ml Soluție tampon de solubilizare | R7 1 x 2,8 ml Conținut (10x) |
| PK 1 x 0,5 ml Proteinaza K | R8 1 x 60 ml Tampon substrat de peroxidaza (0.015% H2O2, 4%DMSO) |
| R1 2 x 1 Microplaci cu podeanțe captușite cu anticorpii proteinei prionice | R9 1 x 5 ml Substrat cromogen (TMB) |
| Anti-PrP MAAb (soarece) | R10 1 x 28 ml Soluție de stopare (H2SO4 1N) |
| R2 1 x 250 ml Soluție de spălare concentrată (10x) | 8 Foli adevize |
| R3 1 x 4 ml Control negativ | |



Danger
H228 - H314 - H317 - H334 - H412
P210 - P273 - P280 - P303+P361+P531
P305+P352 - P333+P313 - P501 - P503

See SDS for Product Safety Information
www.bio-rad.com



Trusa TeSeE™ SAP Combi

REF 3551186



(01)03610520478943
(17)191018
(10)8M0072



Lot	8M0072	2019-10-18
A	Lot 8K0122	2019-10-31
B	Lot 8K0122	2019-11-25
C	Lot 8M0121	2019-11-24
PK	Lot 8M0121	2019-11-19
R1	Lot 8K0072	2019-10-18
R2	Lot 8L0088	2020-05-28
R3	Lot 8M0072	2019-11-22
R4	Lot 8L0076	2019-11-09
R6	Lot 8M0072	2019-11-23
R7	Lot 8M0072	2019-11-29
R8	Lot 8M0553	2020-06-02
R9	Lot 8L0323	2020-05-19
R10	Lot 8L0497	2020-11-25



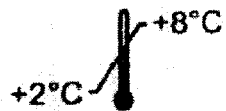
01006064451144108M0072175

883204

TeSeE™ Trusa de purificare A

Soluție tampon de denaturare 55 ml

TEST IN VITRO



Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette



LOT 8K0122

2019-10-31



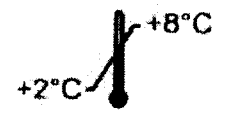
52RA8K0122103119

883210

TeSeE™ Trusa de purificare B

Soluție tampon de precipitare 55 ml

TEST IN VITRO

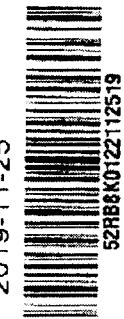


Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette



LOT 8K0122

2019-11-25



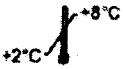
52RB8K0122112519

883206

TeSeE™ Trusa de purificare C

Solutie tampon de solubilizare 7 ml

TEST IN VITRO



BIO-RAD Bio-Rad
F 92430 Marnes-la-Coquette

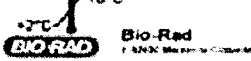


883210

TeSeE™ Trusa de purificare PK

Proteinaza K 0.5 ml

TEST IN VITRO



BIO-RAD Bio-Rad
F 92430 Marnes-la-Coquette



LOT 8M0121 2019-11-24



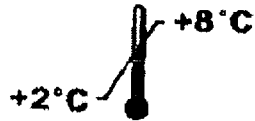
883236

INSTITUTUL NAȚIONAL DE INVESTIGĂRI ȘTIINȚIFICE
VETERINARE ȘI ZOOTEHNICĂ
BUCUREȘTI

TeSeE™ Trusa de detectie R1

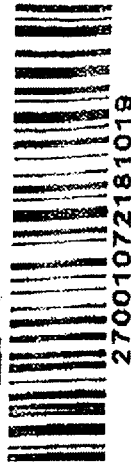
Barete captusite cu anticorpul proteinei prionice Anti-PrP MAb (soarece) x 12

TEST IN VITRO



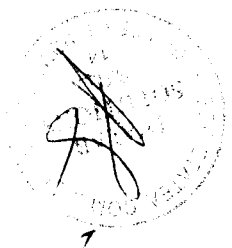
Bio-Rad - F 92430-Marnes la Coquette

LOT 8K0072 2019-10-18



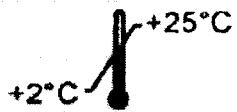
27001072181019

00013



TeSeE™ Trusa de detectie R2
 Solutie concentrata de spalare 250 ml

TEST IN VITRO



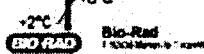
BIO-RAD Bio-Rad
 F-92430 Marnes-la-Coquette

8L0088
 2020-05-28

 25202088230520
 LOT 883212

TeSeE™ Trusa de detectie R3
 Control negativ 4 ml

TEST IN VITRO



BIO-RAD Bio-Rad
 F-92430 Marnes-la-Coquette



8M0072
 2019-11-22

 2520607223113
 LOT 883217

TeSeE™ Trusa de detectie R4
 Lyophil / Liofil
 Controlul pozitiv aspirat 4 ml

TEST IN VITRO



BIO-RAD Bio-Rad
 F-92430 Marnes-la-Coquette



8L0078
 2019-11-29

 25202088230520
 LOT 883217

TeSeE™ Trusa de detectie R6
 Diluentul pentru probe 35 ml

TEST IN VITRO

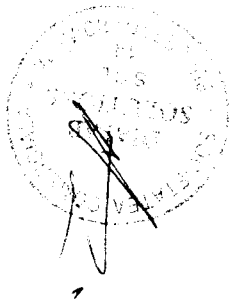


BIO-RAD Bio-Rad
 F-92430 Marnes-la-Coquette



8M0072
 2019-11-23

 2520607223113
 LOT 883210



TeSeE™ Trusa de detectie **R7**
Conjugatul (10x) 2.0 ml

TEST IN VITRO

+2°C / +8°C



BIO-RAD

Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette



LOT 8M0553

2019-11-29

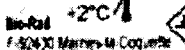


883217

TeSeE™ Trusa de detectie **R9**
Cromogen: solutie TMB 6 ml

TEST IN VITRO

+2°C / +8°C



BIO-RAD

Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette



LOT 8L3323

2020-05-19

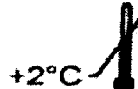


883236

TeSeE™ Trusa de detectie **R8**
Tampon substrat 60 ml

TEST IN VITRO

+2°C / +8°C



BIO-RAD

Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette

LOT 8M0553

2020-06-02



883213

TeSeE™ Trusa de detectie **R10**
Solutie de stopare 28 ml

TEST IN VITRO

+2°C / +8°C



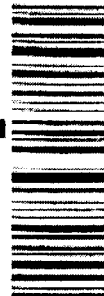
BIO-RAD

Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette

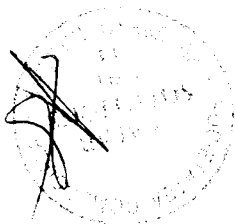


LOT 8L3497

2020-11-26



883216



Trusa TeSeE™ SAP Combi

REF: 3551191

TRUSĂ DE REACTIVI PENTRU PURIFICAREA SI DETECȚIA IN VITRO A PrPSc

TEST IN VITRO

- | | |
|--|---|
| A 1 x 240 ml Soluție tampon de denaturare | R4 4 x 1 ml Control pozitiv |
| B 2 x 120 ml Soluție tampon de precipitare | R5 1 x 140 ml Soluție pentru diluția probelor |
| C 1 x 28 ml Soluție tampon de solubilizare | R7 4 x 2.8 ml Coniugat (10x) |
| PK 4 x 0.5 ml Proteinaza K | R8 2 x 120 ml Tampon substrat de peroxidaza (0.015% H2O2, 4% DMSO) |
| R1 5 x 1 Microplaci cu godeșurile captivate cu anticorpii proteinei prionice Anti-PrP MA3 (scarece) | R9 1 x 20 ml Substrat cromogen (TMB) |
| R2 4 x 250 ml Soluție de spălare concentrată (10x) | R10 1 x 112 ml Soluție de stopare (H2SO4 1N) |
| R3 4 x 14 ml Control negativ | 16 Folii adezive |



Storage: +2°C - +8°C
 +2°C - +8°C
 +2°C - +8°C

Get 325 to 326 to 327 to 328 to 329 to 330 to 331 to 332 to 333 to 334 to 335 to 336 to 337 to 338 to 339 to 340 to 341 to 342 to 343 to 344 to 345 to 346 to 347 to 348 to 349 to 350 to 351 to 352 to 353 to 354 to 355 to 356 to 357 to 358 to 359 to 360 to 361 to 362 to 363 to 364 to 365 to 366 to 367 to 368 to 369 to 370 to 371 to 372 to 373 to 374 to 375 to 376 to 377 to 378 to 379 to 380 to 381 to 382 to 383 to 384 to 385 to 386 to 387 to 388 to 389 to 390 to 391 to 392 to 393 to 394 to 395 to 396 to 397 to 398 to 399 to 400 to 401 to 402 to 403 to 404 to 405 to 406 to 407 to 408 to 409 to 410 to 411 to 412 to 413 to 414 to 415 to 416 to 417 to 418 to 419 to 420 to 421 to 422 to 423 to 424 to 425 to 426 to 427 to 428 to 429 to 430 to 431 to 432 to 433 to 434 to 435 to 436 to 437 to 438 to 439 to 440 to 441 to 442 to 443 to 444 to 445 to 446 to 447 to 448 to 449 to 450 to 451 to 452 to 453 to 454 to 455 to 456 to 457 to 458 to 459 to 460 to 461 to 462 to 463 to 464 to 465 to 466 to 467 to 468 to 469 to 470 to 471 to 472 to 473 to 474 to 475 to 476 to 477 to 478 to 479 to 480 to 481 to 482 to 483 to 484 to 485 to 486 to 487 to 488 to 489 to 490 to 491 to 492 to 493 to 494 to 495 to 496 to 497 to 498 to 499 to 500 to 501 to 502 to 503 to 504 to 505 to 506 to 507 to 508 to 509 to 510 to 511 to 512 to 513 to 514 to 515 to 516 to 517 to 518 to 519 to 520 to 521 to 522 to 523 to 524 to 525 to 526 to 527 to 528 to 529 to 530 to 531 to 532 to 533 to 534 to 535 to 536 to 537 to 538 to 539 to 540 to 541 to 542 to 543 to 544 to 545 to 546 to 547 to 548 to 549 to 550 to 551 to 552 to 553 to 554 to 555 to 556 to 557 to 558 to 559 to 560 to 561 to 562 to 563 to 564 to 565 to 566 to 567 to 568 to 569 to 570 to 571 to 572 to 573 to 574 to 575 to 576 to 577 to 578 to 579 to 580 to 581 to 582 to 583 to 584 to 585 to 586 to 587 to 588 to 589 to 590 to 591 to 592 to 593 to 594 to 595 to 596 to 597 to 598 to 599 to 600 to 601 to 602 to 603 to 604 to 605 to 606 to 607 to 608 to 609 to 610 to 611 to 612 to 613 to 614 to 615 to 616 to 617 to 618 to 619 to 620 to 621 to 622 to 623 to 624 to 625 to 626 to 627 to 628 to 629 to 630 to 631 to 632 to 633 to 634 to 635 to 636 to 637 to 638 to 639 to 640 to 641 to 642 to 643 to 644 to 645 to 646 to 647 to 648 to 649 to 650 to 651 to 652 to 653 to 654 to 655 to 656 to 657 to 658 to 659 to 660 to 661 to 662 to 663 to 664 to 665 to 666 to 667 to 668 to 669 to 670 to 671 to 672 to 673 to 674 to 675 to 676 to 677 to 678 to 679 to 680 to 681 to 682 to 683 to 684 to 685 to 686 to 687 to 688 to 689 to 690 to 691 to 692 to 693 to 694 to 695 to 696 to 697 to 698 to 699 to 700 to 701 to 702 to 703 to 704 to 705 to 706 to 707 to 708 to 709 to 710 to 711 to 712 to 713 to 714 to 715 to 716 to 717 to 718 to 719 to 720 to 721 to 722 to 723 to 724 to 725 to 726 to 727 to 728 to 729 to 730 to 731 to 732 to 733 to 734 to 735 to 736 to 737 to 738 to 739 to 740 to 741 to 742 to 743 to 744 to 745 to 746 to 747 to 748 to 749 to 750 to 751 to 752 to 753 to 754 to 755 to 756 to 757 to 758 to 759 to 760 to 761 to 762 to 763 to 764 to 765 to 766 to 767 to 768 to 769 to 770 to 771 to 772 to 773 to 774 to 775 to 776 to 777 to 778 to 779 to 780 to 781 to 782 to 783 to 784 to 785 to 786 to 787 to 788 to 789 to 790 to 791 to 792 to 793 to 794 to 795 to 796 to 797 to 798 to 799 to 800 to 801 to 802 to 803 to 804 to 805 to 806 to 807 to 808 to 809 to 810 to 811 to 812 to 813 to 814 to 815 to 816 to 817 to 818 to 819 to 820 to 821 to 822 to 823 to 824 to 825 to 826 to 827 to 828 to 829 to 830 to 831 to 832 to 833 to 834 to 835 to 836 to 837 to 838 to 839 to 840 to 841 to 842 to 843 to 844 to 845 to 846 to 847 to 848 to 849 to 850 to 851 to 852 to 853 to 854 to 855 to 856 to 857 to 858 to 859 to 860 to 861 to 862 to 863 to 864 to 865 to 866 to 867 to 868 to 869 to 870 to 871 to 872 to 873 to 874 to 875 to 876 to 877 to 878 to 879 to 880 to 881 to 882 to 883 to 884 to 885 to 886 to 887 to 888 to 889 to 890 to 891 to 892 to 893 to 894 to 895 to 896 to 897 to 898 to 899 to 900 to 901 to 902 to 903 to 904 to 905 to 906 to 907 to 908 to 909 to 910 to 911 to 912 to 913 to 914 to 915 to 916 to 917 to 918 to 919 to 920 to 921 to 922 to 923 to 924 to 925 to 926 to 927 to 928 to 929 to 930 to 931 to 932 to 933 to 934 to 935 to 936 to 937 to 938 to 939 to 940 to 941 to 942 to 943 to 944 to 945 to 946 to 947 to 948 to 949 to 950 to 951 to 952 to 953 to 954 to 955 to 956 to 957 to 958 to 959 to 960 to 961 to 962 to 963 to 964 to 965 to 966 to 967 to 968 to 969 to 970 to 971 to 972 to 973 to 974 to 975 to 976 to 977 to 978 to 979 to 980 to 981 to 982 to 983 to 984 to 985 to 986 to 987 to 988 to 989 to 990 to 991 to 992 to 993 to 994 to 995 to 996 to 997 to 998 to 999 to 1000

Trusa TeSeE™ SAP Combi

REF: 3551191



(01)03510500418974
 (17)191018
 (10)8M0072

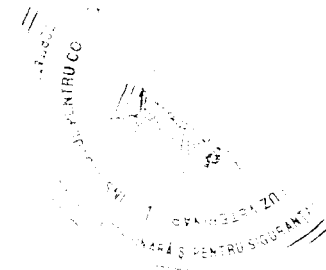


Lot	BM0072	2019-10-18
A	8K0122	2019-11-05
B	8K0122	2019-11-05
C	8M0121	2019-11-04
PK	8M0121	2019-11-04
R1	8K0312	2019-10-18
R2	8K0312	2019-10-18
R3	8M0072	2019-11-05
R4	8K0312	2019-11-05
R5	8K0312	2019-11-05
R6	8K0312	2019-11-05
R7	8M0072	2019-11-05
R8	8K0312	2019-11-05
R9	8K0312	2019-11-05
R10	8K0312	2019-11-05



01 03510500418974 10 8M0072 175

8K0122



TeSeE™ Trusa de purificare A

Soluție tampon de denaturare 240 ml

TEST IN VITRO

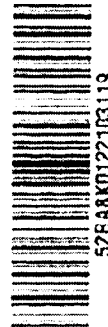


Bio-Rad
 F-92430 Marnes-la-Coquette



LOT 8K0122

2019-03-31



52R48K0122103119

883210

TeSeE™ Trusa de purificare B

Soluție tampon de precipitare 120 ml

TEST IN VITRO



Bio-Rad
 F-92430 Marnes-la-Coquette



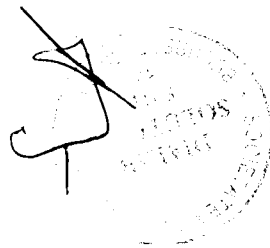
LOT 8K0122

2019-11-25



52R8K0122112519

883206



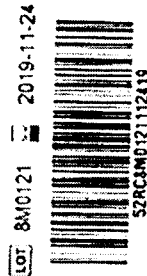
TeSeE™ Trusa de purificare C

Solutie tampon de solubilizare 28 ml

TEST IN VITRO

+2°C  +8°C

BIO-RAD Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette



LOT 8M0121 2019-11-24

883210

TeSeE™ Trusa de purificare PK

Proteinaza K 0.5 ml

TEST IN VITRO

+7°C  +8°C

BIO-RAD Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette



LOT 8M012 2019-11-18




883236

TeSeE™ Trusa de detectie R1

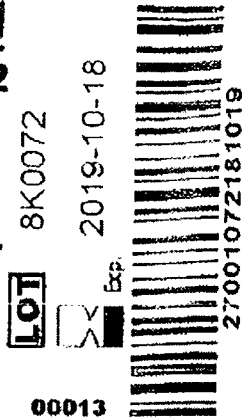
Barete captusite cu anticorpii proteinei prionice Anti-PrP MAb (soarece)

x 12

TEST IN VITRO

+2°C  +8°C

Bio-Rad - F 92430-Marnes la Coquette



LOT 8K0072

2019-10-18

Exp.

27001072181019

00013

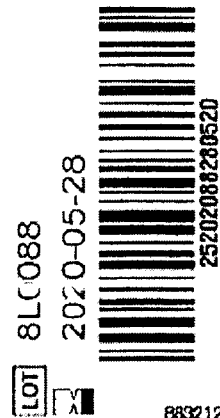
TeSeE™ Trusa de detectie R2

Solutie concentrata de spalare 250 ml

TEST IN VITRO

+2°C  +25°C

BIO-RAD Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette



LOT 8LC088

2020-05-28

25202088280520

883212



TeSeE™ Trusa de detectie R3
Control negativ 4 ml

TEST IN VITRO

+2°C

Bio-Rad



LOT

8MCC072
2019-11-23



25206072231119

883217

TeSeE™ Trusa de detectie R4
Lyoph /Liof
Controlul pozitiv qsp/ta 4 ml

IN VITRO TEST

+2°C

Bio-Rad



LOT

8MCC072
2019-11-23



25206072231119

TeSeE™ Trusa de detectie R6
Diluentul pentru probe 140 ml

TEST IN VITRO

+2°C

BIO-RAD

Bio-Rad

F-92430 Marnes-la-Coquette



LOT

8MCC072
2019-11-23



25206072231119

883219

TeSeE™ Trusa de detectie R7
Conjugatul (10x) 2.8 ml

TEST IN VITRO

+2°C

BIO-RAD

Bio-Rad

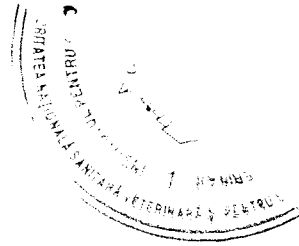


LOT

8MCC072
2019-11-23



25206072231119



TeSeE™ Trusa de detectie R8

Tampon substrat 120 ml

TEST IN VITRO

+2°C  +8°C

BIO-RAD Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette

2020-06-02

LOT 8M0553




PR3213

TeSeE™ Trusa de detectie R9

Cromogen: solutie TMB 20 ml

TEST IN VITRO

BIO-RAD Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette

+2°C  +8°C 

LOT 8L0323
2020-05-19



883236



TeSeE™ Trusa de detectie R10

Solutie de stopare 112 ml

TEST IN VITRO

+2°C  +8°C

BIO-RAD Bio-Rad
F-92430 Marnes-la-Coquette



LOT 6L0487
2020-11-25



883216

