

ID Screen® Bruceloza în Lapte Indirect

Set de diagnostic prin tehnica ELISA pentru detecția anticorpilor împotriva *Brucella abortus* sau *melitensis* în laptele de bovine, ovine și caprine.

Lapte de la bovine (probe de ser individuale sau vrac.)

Incubare scurtă și peste noapte.

Informații generale:

Set de diagnostic prin tehnica ELISA pentru detecția anticorpilor împotriva *Brucella abortus* sau *melitensis* în laptele de bovine, ovine și caprine

Testul poate fi utilizat pe lapte de la bovine (probe de ser individuale sau vrac.) *

Evaluarea performanței de diagnosticare a acestui kit ELISA, ținând cont de mostrele de teren, au demonstrat că probele de lapte de bovine pozitive pot fi detectate în grupuri de până la 250.

*Notă: Analiza laptelui de la rumegătoare mici și analiza laptelui individual nu sunt teste oficiale ale UE.

Descriere și principii:

Godeurile sunt acoperite cu *Brucella abortus* LPS purificat.

Specimenele care urmează să fie testate și controalele sunt adăugate în microgodeuri. Anticorpii anti-*Brucella*, dacă sunt prezenți, formează un complex anticorp-antigen.

La microgodeuri se adaugă un conjugat de peroxidază de hrean anti-rumegătoare (HRP). Se fixează de anticorpii anti-*Brucella*, formând un complex antigen-anticorp-conjugat-HRP.

După spălare pentru a elimina excesul de conjugat, se adaugă soluția de substrat (TMB).

Colorația rezultată depinde de cantitatea de anticorpi specifici prezenți în proba de testat:

- În prezența anticorpilor, apare o soluție albastră care devine galbenă după adăugarea Soluției Stop.
- În lipsa anticorpilor nu apare nici o colorare.

Microplaca este citită la 450 nm.

Componentele kitului:

Reactivi*
Microplăci (benzi de 12 x 8 godeuri) acoperite cu purificat <i>Brucella</i> LPS
Conjugat concentrat (10X)
Control pozitiv
Control negativ
Tampon de diluare 3
Concentrat de spălare(20X)
Soluție de substrat (TMB)
Soluție stop (0,5 M)

*Cantitățile furnizate sunt indicate pe eticheta kitului.

1. Conjugatul, controalele și soluția de substrat trebuie să fie păstrate la 5°C ($\pm$ 3°C).
2. Ceilalți reactivi se pot păstra între +2°C și +26°C.
3. Componentele care poartă același nume (soluție de spălare, soluții tampon de diluare) pot fi utilizate pentru întreaga gamă de produse IDvet.

Notă: Dacă este necesar, IDvet vă poate furniza volume suplimentare ale componentelor de mai sus.

Materiale necesare, dar nu sunt furnizate:

1. Micropipetoare mono sau multi-canale capabile să livreze în volum de 10 µl, 100 µl și 200 µl.
2. Sfaturi de unica folosință.
3. Cititor de microplăci cu 96 de godeuri.
4. Apă distilată sau deionizată.
5. Sistem de spălare manuală sau automată.
6. Microplacă de pre-diluție cu 96 de godeuri.

Precauții:

1. Nu introduceți pipeta în gură.
2. Soluția de substrat poate fi iritantă pentru piele.
3. Soluția stop (0,5 M) poate fi dăunătoare dacă este înghițită. Aceasta poate provoca sensibilizare prin contactul cu pielea (R22-43). A se evita contactul cu pielea (S24-37).
4. Nu expuneți soluția de substrat la lumină puternică și nici la agenți oxidanți.
5. Toate materialele de unică folosință utilizate pentru teste, trebuie să fie decontaminate prin imersare în hipocloritul de sodiu de 5% proaspăt preparat, cu cel puțin 1 oră înainte de eliminare, sau prin autoclavare la 120°C.

Prepararea soluției de spălare:

Dacă este necesar, aduceți Concentratul de Spălare (**20X**) la temperatura camerei și amestecați-l bine, pentru a vă asigura că Concentratul de Spălare este complet solubilizat. Preparați Soluția de Spălare (**1X**) prin diluarea Concentratului de Spălare (**20X**) în apă distilată/deionizată.

Procedura de testare:

Lăsați toți reactivii să ajungă la temperatura camerei (21°C $\pm$ 5°C) înainte de utilizare. Omogenizați toți reactivii prin inversare sau Vortex.

Centrifugați fiecare probă de lapte, sau lăsați probele să stea, astfel încât crema să se separe de lactoser (cremă în partea de sus, lactoserul în partea de jos): Se pipetează sub cremă, astfel încât doar lactoserul să intre în con (anticorpii se găsesc în lactoser).

1. Adăugați:

- **100 µl** de control negativ în godeurile A1 și B1.

- **100 µl** de control pozitiv în godeurile C1 și D1.

- **100 µl** din fiecare lapte sau probe reunite pentru a fi testate în godeurile rămase.

2. Se incubează **45 min** ± 4 min la 21°C (± 5°C) (incubare scurtă) sau **peste noapte** (timp de 16 până la 20 ore) la 4°C (± 2°C).

3. Goliți godeurile. Spălați fiecare godeu de 3 ori cu aproximativ 300 µl de **Soluție de Spălare**.

Evitați uscarea godeurilor între spălări.

Aveți grijă ca după spălare să nu rămână inel gras în godeu. Pentru a evita reziduurile de grăsime, este posibil să includeți un timp de înmuiere de 2 – 5 minute între spălări.

4. Pregătiți **Conjugatul** diluând **Conjugatul concentrat 10X** până la 1/10 în **Diluția Tampon 3** (incubare scurtă) sau la 1/20 (incubare peste noapte) în **Tampon de Diluție 3**.

5. Adăugați 100 µl de **conjugat 1X** în fiecare godeu.

6. Se incubează **30 min** ± 3 min la 21°C (± 5°C).

7. Goliți godeurile. Spălați fiecare godeu de 3 ori cu aproximativ 300 µl de **Soluție de Spălare**.

8. Adăugați 100 µl de **Soluție de Substrat** în fiecare godeu.

9. Se incubează 15 min ± 2 min la 21°C (±5°C) în întuneric.

10. Adăugați 100 µl de Soluție Stop în fiecare godeu pentru a opri reacția.

11. Citiți și înregistrați O.D. la 450 nm.

Validare:

☐ Testul este validat dacă: valoarea medie corectată a Controlului Pozitiv OD (ODPC) este mai mare de 0,350.

$$\text{ODPC} > 0.350$$

☐ Raportul dintre valorile medii corectate ale controalelor pozitive și negative (ODPC și ODNC) este mai mare de 3.

$$\text{ODPC} / \text{ODNC} > 3$$

Interpretare:

Pentru fiecare probă, calculați procentul S/P după cum urmează, utilizând eşantionul corectat și valorile de control:

$$\text{S/P} = \frac{\text{ODsample} - \text{ODNC}}{\text{ODPC} - \text{ODNC}} \times 100$$

Pentru incubatie scurtă și peste noapte:

Mostre cu un S/P:

- mai mici sau egale cu 45% sunt considerate negative.

- mai mare de 45% și mai mic sau egal cu 50% sunt considerate îndoielnice.

- mai mult de 50% sunt considerate pozitive

Rezultat	Stare
$\text{S/P} \% \leq 45\%$	NEGATIV
$45\% < \text{S/P} \% \leq 50\%$	INCERT
$\text{S/P} \% > 50\%$	POZITIV