

BRUCELLA FPA

BRASIL
 Kit de teste para anticorpos contra
Brucella abortus
BRUCELLA FPA
 Código do Produto B1001BRA
 Modelo de Bula 02.03.2021

Uso Veterinário

O BRUCELLA S ANTIBODY TEST KIT é um teste qualitativo, baseado no método da Polarização Fluorescente (FPA), que determina a presença de anticorpos contra *Brucella abortus* em soro bovino. A presença de anticorpos é indicativa de infecção prévia por *Brucella abortus* ou vacinação com a vacina cepa B19. Bovinos vacinados com vacina RB51 não são reagentes positivos no teste.

Este teste diagnóstico utiliza O-polissacarídeo (OPS), extraído da *Brucella abortus* e conjugado com fluoresceína. Para aferir a intensidade da polarização, emitida pelo conjugado OPS, utiliza-se equipamento especialmente desenhado para a leitura da polarização fluorescente.

Quando não há anticorpos presentes, a polarização é baixa. Já quando os anticorpos se ligam ao conjugado, a polarização aumenta.

Componentes do kit

	250 Testes	1000 Testes
Controle Positivo	1 mL	1 mL
Controle Negativo	2 mL	2 mL
Diluyente de Amostra 25X	50 mL	50 mL
Conjugado (Tracer)	2,5 mL	10 mL

Nota: os componentes contém azida sódica 0,095% como conservante.

Material necessário, mas não fornecido

- Equipamento Leitor FPA de tubo único;
- Tubos de ensaio de borossilicato 10 x 75 mm;
- Placas de microtitulação de fundo plano preto de 96 poços para instrumento FPA Sentry 2000;
- Micropipeta de volume ajustável;
- Ponteiros para micropipeta;
- Vórtex para tubo (opcional);
- Agitador de placa de microtitulação;
- Água destilada ou deionizada para a reconstituição do tampão.

Estabilidade e Armazenamento

Os reagentes FPA devem ser armazenados em geladeira (2-8°C) e mantidos à temperatura ambiente (18-25°C) antes do uso. A temperatura deve ser monitorada. (Instrução Normativa Nº 34, de 8 de setembro de 2017).

O tampão, após diluído, deve ser armazenado em temperatura ambiente e terá validade de 1 mês, a partir da data de diluição. Não use o kit de teste após a data de vencimento impressa na caixa. Durante o uso, evite expor o controle negativo, a temperaturas superiores à 25 °C

Recomendações

1. A tecnologia FPA funciona em líquidos homogêneos claros e turvos. Evite práticas que possam contaminar os controles do teste, tampão ou conjugado.

2. As leituras de polarização são afetadas pela temperatura. Leituras de polarização podem diminuir em 3 mP (unidades de milipolarização) em função da elevação da temperatura em 4°C dos componentes do teste, incluindo a amostra.

3. O Controle Negativo deve ser executado em triplicata. Faça novas leituras após cada 60 amostras. Use a média do controle negativo para a avaliação do status das amostras subsequentes.

4. Evite variações de temperatura superiores à 1°C enquanto estiver realizando o teste em um lote de amostras.

5. Todos os materiais neste kit devem ser tratados como outros produtos químicos de laboratório.

6. Evite a ingestão, o contato com os olhos e outras possíveis exposições prejudiciais. Não use kits com vencimento expirado ou componentes contaminados, ou de outros kits.

7. Não misture componentes de diferentes lotes.

Etapas preliminares

Reagente e preparação de amostra

1. Deixe os reagentes à temperatura ambiente (18 – 25°C) antes da utilização. Monitore a temperatura.
2. Dilua o diluyente de amostra, misturando uma parte do Diluyente de 25X com 24 partes de água destilada ou deionizada. O diluyente preparado deve estar livre de partículas e deve ser armazenado à temperatura ambiente, podendo ser utilizado por um mês.
3. As amostras devem estar livres de partículas. Centrifugue todas as amostras contendo quaisquer partículas visíveis. As amostras hemolisadas são aceitáveis para testes.

4. Amostras com hemólise escura ou alto conteúdo bacteriano, não devem ser utilizadas

5. As amostras liofilizadas devem ser reconstituídas completamente e amostras congeladas devem ser completamente descongeladas e homogeneizadas.

Ajuste do Instrumento

Os instrumentos devem ser configurados e calibrados de acordo com as especificações do fabricante. Para informações detalhadas consulte o manual do equipamento ou entre em contato com o suporte técnico, pelo e-mail info@vpdiagnostico.com.br

Procedimento de ensaio

1. Protocolo para equipamento de tubo único (série Sentry):

1. Posicione os tubos de ensaio no suporte. Use **1 tubo** por amostra, **1 tubo** para controle positivo e **3 tubos** para **controle Negativo** (ver nota sobre manuseio dos tubos). Por segurança, o tubo deve ser utilizado apenas uma vez;
2. Identifique os tubos na parte superior correspondentes à amostra, ao controle positivo e cada um dos tubos controles negativos;
3. **Adicione 1 mL** de diluyente diluído em todos os tubos;
4. **Adicione 10 µL** da amostra no tubo identificado AMOSTRA;
5. **Adicione 10 µL** do controle negativo em 3 tubos identificados como CONTROLE NEGATIVO;
6. **Adicione 10 µL** do controle positivo no tubo identificado como **CONTROLE POSITIVO**;
7. Homogenize com cuidado. Preferencialmente em agitador
8. Incube os tubos de ensaio à temperatura ambiente entre 5 e 60 minutos;

- Coloque cada tubo no leitor FPA e obtenha a leitura inicial (leitura em branco);
- Adicione **10 µL** do Tracer/ Conjugado nos tubos e homogenize em vórtex;
- Incube os tubos à temperatura ambiente controlada durante pelo menos 2 a 60 minutos;
- Realize a leitura "Tracer" de cada tubo e anote os resultados em mP (unidades de milipolarização);
- Calcule a média mP dos resultados da leitura dos 3 tubos do controle negativo;
- Se estiver realizando testes com grande número de amostras, faça novos controles após cada 50 amostras ou pelo menos a cada 60 minutos. Use a média do controle negativo para a avaliação do status das amostras subsequentes (Resultados e interpretação).

Procedimento para equipamento de placa de microtitulação

- Adicione **20 µL** dos controles e amostras nos poços da placa de microtitulação preta de 96 poços. Três controles negativos e um Controle Positivo. Evite bolhas durante o procedimento;
- Adicione **180 µL** de diluente diluído em todos os poços com controles e amostras. Agite. Tenha cuidado para não misturar solução entre os poços;
- Incube a placa por 3 a 5 minutos à temperatura ambiente;
- Coloque a placa de microtitulação no leitor de FPA e obtenha uma leitura inicial do diluente + amostra, denominada leitura em branco;
- Adicione imediatamente **10 µL** do conjugado em todos os poços contendo controles ou amostras. Misture com cuidado;
- Incube a placa durante 2 minutos à temperatura ambiente;
- Anote a leitura da amostra.

Validação do teste

- O resultado da leitura do **controle positivo** deve estar compreendido entre 120 e 250 mP.
- A média da leitura dos **controles negativos** deve estar compreendido entre 70 e 95 mP.

Nota: Se a leitura do Controle Negativo ou do Controle Positivo resultar em valor não compreendido nas faixas mínima ou máxima acima, o equipamento deverá ser recalibrado de acordo com os procedimentos descritos no manual do equipamento.

Resultados e Interpretação

Cálculo do valor ΔmP

Subtraia o valor em mP da amostra do valor da média do controle negativo:

$\Delta mP = \text{valor em mP da amostra} - \text{média do valor em mP dos controles negativos}$

$$\Delta mP = (\text{Amostra mP} - \text{CN Medio mP})$$

Interpretação:

Utilize a tabela abaixo

$\Delta mP \leq 10 \text{ mP}$	$\Delta mP \text{ de } 10.1 \text{ a } 20 \text{ mP}$	$\Delta mP > 20 \text{ mP}$
NEGATIVO	SUSPEITO	POSITIVO

RETESTE

O reteste serve como confirmação de que os procedimentos, durante o teste, foram realizados corretamente.

As amostras com resultados suspeitos e positivos, devem ser retestadas EM DUPLICATA, utilizando agora 20 µL da amostra em cada tubo.

Interpretação do RETESTE

NEGATIVO :

Se os resultados em ΔmP dos 2 tubos lerem $\leq 10 \text{ mP}$

INCONCLUSIVO :

Se o resultado em ΔmP de um dos tubos permanecer de 10.1 a 20 mP

POSITIVO :

Se o resultado em ΔmP de ambos os tubos forem superiores a 20 mP

NOTA:

Para obter-se resultado final seguro:

Os ensaios em duplicata de amostras suspeitas e positivas, se faz necessário devido à contaminação de amostras com artefatos, riscos nos tubos de borossilicato, sujidades e fragmentos que às vezes podem causar leituras falso-positivas.

- Use tubos limpos e sem resíduos
- Evite utilizar tubos de ensaio riscados, com defeitos próximos à área de medição ou com detritos ou fragmentos de vidro dentro.
- Segure os tubos de ensaio pela parte superior, manchas podem causar incertezas na medição.
- Identifique o tubo de ensaio, com o número da amostra, na parte superior para garantir orientação consistente, nas diferentes leituras do mesmo tubo.
- Use micropipetas precisas.
- Os instrumentos devem ser configurados e calibrados de acordo com as especificações dos fabricantes.

Credenciamento

No Brasil: "Para a realização de testes diagnósticos de brucelose e de tuberculose, o MAPA credencia laboratórios que integram a Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária." – Instrução Normativa nº 19, de 10 de outubro de 2016, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Licenciado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento sob nº10.343/2020 em 25/06/2020.

Responsável Técnica:

Margareth Carvalho Santos Agottani
CRMV-PR nº 3288

CONSERVAR ENTRE 2 e 8°C

Número do catálogo: B1001-250 (250 testes),
B1001-1000 (1.000 testes)

Ellie LLC
10437 Innovation drive;
Wauwatosa;
WI 53226 – USA

Representante, Importador e Distribuidor:

JMR Trading LTDA.. Rua Mandaguari, 1752,
Pinhais – Paraná
Fone: (41) 3434-2721
info@vpdiagnostico.com.br
www.vpdiagnostico.com.br

PRODUTO IMPORTADO

SUORTE TÉCNICO

Para suporte técnico e todas as questões regulatórias, vendas e marketing, favor contatar:



VP Diagnóstico Distribuidora
Rua Mandaguari, 1752, Pinhais – PR
CNPJ: 11.857.347/0001-71
info@vpdiagnostico.com.br
www.vpdiagnostico.com.br

ellie

Ellie LLC – N114 W19320 Clinton Drive, Unit 5,
Germantown, WI 53022, USA
Phone/Fax: (800) 556-6953 – support@ellielab.com

Esse produto foi desenvolvido em colaboração entre a Agência de Inspeção de Alimentos Canadense e a Diachemix LLC. É exclusivamente licenciado para a Ellie LLC.

GARANTIA

O fabricante Ellie LLC garante ao comprador que substituirá, total ou parcialmente, produtos defeituosos sob uso normal descritos nesta embalagem, exceto em casos listados em "Exclusões". A obrigação de Ellie LLC sob esta garantia está limitada a substituição, por opção da empresa, dos produtos aplicáveis. Esta garantia só se aplica a defeitos que são relatados e após a análise da empresa Ellie LLC. A garantia se estende apenas ao comprador do produto, e não é transferível ou atribuível e aplicável a apenas a produtos dentro da validade.

Entre em contato com o Serviço Técnico da Ellie LLC para consultas ou problemas de serviço de garantia através de seu Distribuidor no Brasil VPDiagnóstico pelo e-mail info@vpdiagnostico.com.br.

EXCLUSÕES

Não há cobertura de garantia e o fabricante não será responsável nas seguintes circunstâncias:

- Qualquer produto que tenha sido alterado, modificado ou adulterado por qualquer pessoa ou entidade que não seja o fabricante Ellie LLC;
- Defeitos, danos ou outras condições causadas, total ou parcialmente, por uso indevido, abuso, negligência, alteração, acidente, adulteração ou substituição em tempo hábil;
- Produtos que não foram usados, ou devidamente armazenados e mantidos conforme exigido neste manual, rótulos, invólucros, etc.
- Representações e garantias feitas por qualquer pessoa ou entidade que não seja o fabricante Ellie LLC.

LIMITAÇÃO DE RESPONSABILIDADE

Em nenhuma circunstância, o fabricante Ellie LLC ou qualquer de suas afiliadas será responsável por você ou qualquer outra pessoa por perda de lucro ou uso, especial, incidental, consequente, indireto, exemplar, punitivo ou múltiplos danos, incluindo sem limitação para perda ou interrupção de negócios, decorrentes da fabricação, venda, fornecimento ou uso de nossos produtos ou serviços ou falha ou atraso na entrega de tais produtos ou serviços, seja com base em garantia, contrato, delito ou de outra forma, mesmo que tenhamos sido avisados da possibilidade de tais danos ou perdas. Toda a nossa responsabilidade por um produto ou serviço, seja com base na garantia, contrato, delito ou de outra forma, não deve exceder o valor que você pagou por tal produto ou serviço.