

BRUCELLA FPA

O kit para diagnóstico de Brucelose é um teste qualitativo, que usa tecnologia de polarização da fluorescência, designado para determinar a presença de anticorpos em soro, plasma ou leite, contra as várias espécies do gênero *Brucella* (*B. melitensis*, *B. abortus* e *B. suis* - Rev. sci. tech., OIE 1982). A presença de anticorpos é indicativa de infecção primária de Brucelose. Essa bula é direcionada para ruminantes e suínos. *Brucella* FPA foi adicionalmente validado para testes em amostras em muitas outras espécies, entre elas estão cervídeos, bisões, búfalos e camelos. Entre em contato para mais detalhes.

O teste é baseado em um polissacarídeo (OPS) extraído da *Brucella abortus* e marcado com fluoresceína. Um instrumento de polarização da fluorescência é usado para mensurar o estado de polimerização da luz emitida pelo conjugado OPS. Quando anticorpos não estão presentes, a polarização é baixa. A polarização aumenta quando anticorpos se ligam aos conjugados.

BRUCELLA FPA

Código do Produto B1001BRA • Bula 1016

*ellie*Ellie LLC • N114 W19320 Clinton Drive, Unit 5,
German town, WI 53022, U.S.A.
Phone/fax: (800) 556-6953 • support@ellielab.com

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

Este produto não apresenta risco ao meio-ambiente ou à saúde humana, por não conter atividade de bactéria aeróbica ou anaeróbica ou vírus.

Materiais necessários não fornecidos

Outros materiais necessários, mas não fornecidos são: instrumento FPA, tubos teste de vidro borossilicato 10 x 75 ou 12 x 75 mm para instrumentos FPA de tubo único, placas pretas de microtitulação de 96 pocinhos chatos, pipetadores, ponteiros e água destilada ou deionizada. Em caso de testes em leite, usar ampolas Ellie's ClearMilk™ para clarificar as amostras de leite. Contate-nos para a aquisição de tubos de borossilicato, placas de microtitulação e ampolas ClearMilk™.

Armazenamento e estabilidade

Reagentes FPA devem ser armazenados em geladeira (2-8°C) e trazidos à temperatura ambiente para o uso. Evitar exposição prolongada dos controles do kit a temperaturas elevadas. Fazer alíquotas dos controles em ampolas estéreis e usá-las conforme necessário. O kit deve ser transportado em uma caixa térmica na faixa de temperatura entre 0 e 15°C. Evite transporte que exceda uma semana sem refrigeração.

Precauções

Leituras de polarização são afetadas por temperatura, todos os reagentes usados no teste devem estar na mesma temperatura que as amostras. Evite variações de temperatura durante o teste. Evite a formação de bolhas ao pipetar. Use pipetas de boa qualidade e calibradas. Evite práticas que possam contaminar os reagentes. Todos os materiais nesse kit devem ser tratados de acordo com MSDS – "Material Safety Data Sheet" (Ficha de Dados de Segurança de

Material). Evite a ingestão, contato com os olhos, contato com a pele e outra possível exposição prejudicial. Todos os componentes contêm 0,1% de azida de sódio. Não use componentes vencidos ou contaminados ou componentes de outros kits. Não misture componentes de diferentes lotes de fabricação. Os instrumentos usados para a leitura dos testes devem ser obtidos ou aprovados pela Ellie. Nenhuma garantia ou eficácia garantida é fornecida se outros instrumentos forem utilizados. Todos os instrumentos vendidos ou aprovados pela Ellie são testados e ajustados para garantir os melhores resultados possíveis.

Etapas preliminares

1. Prepare o diluyente de amostras misturando uma parte do Diluyente de Amostra 25X com 24 partes de água destilada ou deionizada. O diluyente de amostras assim preparado deve ser livre de partículas e deve ser armazenado em temperatura ambiente; pode ser utilizado por um mês.
2. Espere os reagentes alcançarem temperatura ambiente antes de usar. É importante que as amostras e os componentes do kit estejam na mesma temperatura.
3. Amostras devem estar livres de partículas. Ce trifugue todas as amostras que contenham partículas visíveis. Amostras hemolisadas são aceitáveis para teste, amostras liofilizadas devem ser antes reconstituídas completamente e amostras congeladas devem ser completamente descongeladas e homogeneizadas.
4. Clarificar amostras de leite usando o ClearMilk™ de acordo com o procedimento especificado nas ampolas, após isso, proceder com os testes. Lipídios devem ser retirados de amostras de colostro antes do uso de ClearMilk™.

Procedimento de Teste

1. Pipete **10µl** dos controles e amostras nos pocinhos de microtitulação de 96 células, nos tubos para Sentry instrumento de tubo único, nos pocinhos de tiras para Sentry instrumento de tiras, Pipete três Controles Negativo e um Controle Positivo. Seja cuidadoso para

evitar bolhas em qualquer momento do experimento.

2. Pipete **1ml** do Tamonante nos tubos, nos tiras ou nos pocinhos de placa de microtitulação. Misture cuidadosamente.

Pipete **190µl** do Temonante nos pocinhos ou nos tiras contendo controle ou amostras. Misture cuidadosamente.
3. Incubate por 3 - 30 em temperatura ambiente.
4. Obtenha a leitura do branco de todas as amostras e controles.
5. Imediatamente pipete **10µl** do conjugado nos pocinhos, nos tiras e nos tubos contendo controle ou amostras. Misture cuidadosamente.
6. Incube por 3 - 5 minutos em temperatura ambiente.
7. Obtenha a leitura do conjugado (Tracer) de todas as amostras e controles. Procedimento de teste em instrumento de.

Validação do teste

1. O Controle Positivo deve ler entre 120 e 250 mP
2. O Controle Negativo deve ler entre 70 e 95 mP
3. Se o controle negativo ou positivo produzirem valores fora das especificações mínimas e máximas, favor contatar o suporte técnico.

Resultados e interpretação

Unidade de medida para polarização da fluorescência é mP (pronunciado mili-P). O cálculo do mP é feito pelo instrumento para cada amostra. Instrumentos medem as intensidades de fluorescência em dois planos, paralelo e perpendicular, e a unidade mP é a relação entre essas intensidades. Ambas as intensidades, paralela e perpendicular, são normalizadas para remover interferências das fluorescências naturais das amostras. Para determinar se a amostra é positiva e negativa, primeiro calcule a média mP do controle negativo. Aí subtraia esse valor do valor de mP de cada amostra, que vai gerar a ΔmP para essa amostra:
 $\Delta mP = mP \text{ da Amostra} - \text{Média mP do Controle Negativo.}$

Os resultados são interpretados de acordo com a seguinte tabela, que foi concebida somente para gado, ovelhas e cabras:

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

Negativo	Suspeito	Positivo
≤ 10	10 - 20	> 20

Amostras suspeitas devem ser testadas em duplicata. Se ambos os testes lerem < 10 ΔmP a amostra é reportada Negativa. Se um dos testes permanecer 10 ΔmP ou mais, a amostra é reportada Positiva. É recomendado retestar amostras positivas devido à contaminação de amostras com artefatos que podem, às vezes, causar leituras falso-positivas. Notas de corte podem variar de país para país, ou devido a usos diferentes. O Brucella FPA é um teste mais específico quando usado em animais vacinados. Notas de corte talvez precisem ser reajustadas quando o rebanho testado é vacinado.

Referências

US Patent No. 5,976,820; 1999.

OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines, 2004. USDA APHIS

Doc# 91-45-013, UM&R, 2003.

EU Council Directive 64/432/EEC, 2008.

Nielsen, K. et al, OIE Sci. and Tech. Review. 2004. Gall, D. et al,

OIE Sci and Tech. Review. 2004.

McGiven, J. et al, J of Imm Methods. 2003.

Suporte técnico

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



Distribuidor:

DiVita diagnósticos LTDA
CNPJ: 17.165.026/0001-92
Campinas - São Paulo
contato@divita.com.br
www.divita.com.br

ellie

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

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

Notes:

SCOPE OF WARRANTY

Ellie LLC ("Ellie") warrants to the original purchaser that it will replace in full or in part, products that are defective under normal use described in this Package Insert, except in cases listed under "Exclusions". Ellie's obligation under this warranty is limited to the repair or replacement, at Ellie's option, of applicable products. This limited warranty shall only apply to defects that are reported to Ellie within the applicable warranty period and which, upon examination by Ellie, prove to be defective. This warranty extends only to the original purchaser of a product, and is not transferable or assignable. The applicable warranty period for the full period until the expiration date of the product serial. Warranty service must be obtained through Ellie. Contact Ellie Technical Service for warranty service inquiries or issues by phone at +1-800-556-6953, or via email at support@ellielab.com.

EXCLUSIONS

This warranty does not cover and Ellie shall not be liable for the following:

- any product that has been repaired, modified, or tampered with by any person or entity other than Ellie;
- defects, damage, or other conditions caused, in whole or in part, by misuse, abuse, negligence, alteration, accident, tampering, or failure to seek and obtain repair or replacement in a timely manner;
- products which are not used, or properly stored and maintained as required in this Package Insert
- representations and warranties made by any person or entity other than Ellie.

LIMITATION OF LIABILITY

UNDER NO CIRCUMSTANCES WILL ELLIE OR ANY OF ITS AFFILIATES BE LIABLE TO YOU OR ANY OTHER PERSON FOR LOSS OF PROFIT OR USE, SPECIAL, INCIDENTAL, CONSEQUENTIAL, INDIRECT, EXEMPLARY, PUNITIVE OR MULTIPLE DAMAGES, INCLUDING WITHOUT LIMITATION FOR LOSS OF, OR INTERRUPTION OF BUSINESS, ARISING OUT OF THE MANUFACTURE, SALE, SUPPLY OR USE OF OUR PRODUCTS OR SERVICES OR FAILURE OR DELAY IN DELIVERING SUCH PRODUCTS OR SERVICES, WHETHER BASED ON WARRANTY, CONTRACT, TORT OR OTHERWISE, EVEN IF WE WERE ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES OR LOSSES. OUR ENTIRE LIABILITY FOR A PRODUCT OR SERVICE, WHETHER BASED ON WARRANTY, CONTRACT, TORT OR OTHERWISE, SHALL NOT EXCEED THE AMOUNT YOU PAID FOR SUCH PRODUCT OR SERVICE.