

VetLine Brucella

ELISA

Enzyme immunoassay for the qualitative determination of antibodies against Brucella in veterinary serum, pooled serum samples and milk samples.

Enzymimmunoassay zur qualitativen immunenzymatischen Bestimmung von Antikörpern gegen Brucella in veterinärem Serum, gepoolten Serumproben und Milchproben.

Enzimoimmunoensayo para la determinación cualitativa de anticuerpos contra Brucella en suero veterinario, muestras del pool de suero y muestras de leche.

English	2
Deutsch	7
Español	12
Bibliography / Literatur / Bibliographie / Bibliografía / Bibliografia	18
Abbreviations / Abkürzungen / Abréviations / Abbreviazioni / Abreviaciones / Abreviaturas	18
Symbols Key / Symbolschlüssel / Explication des Symboles / Legenda / Símbolos / Tabela de símbolos	19
Summary of Test Procedure / Kurzanleitung Testdurchführung / Résumé de la procedure de test / Schema della procedura / Resumen de la técnica / Resumo do Procedimento de Teste	20

Product Number: BRUVT0050 (96 Determinations)

Zum Online-Shop:

DEUTSCH

1. EINLEITUNG

Brucellen sind sehr kleine, gramnegative, unbewegliche Stäbchenbakterien (0,4 - 0,8 µm Durchmesser und 0,4 - 3,0 µm Länge). Sie wurden benannt nach dem englischen Militärarzt Davis Bruce, der die Erreger 1887 auf Malta aus der Milz eines an undulierendem Fieber verstorbenen Soldaten isolierte.

Von Bedeutung sind vor allem die folgenden vier Spezies:

Brucella abortus:	Erreger der Rinderbrucellose
Brucella melitensis:	Erreger der Schaf- und Ziegenbrucellose
Brucella suis:	Erreger der Schweinebrucellose
Brucella canis:	Erreger der Brucellose des Hundes

Die Symptome der Erkrankung sind bei Rindern, Schafen, Ziegen und Schweinen ähnlich, wobei Schafe als weniger empfänglich gelten, sodass es bei dieser Tierart beispielsweise weniger häufig zu Aborten kommt.

Nach der Infektion beginnt die Brucellose mit einer klinisch unauffälligen Phase, die häufig unbemerkt bleibt. Im weiteren Verlauf kommt es oft zu Gelenkentzündungen, seltener zu klinisch auffälligen Euterentzündungen. Die Hauptsymptome der Brucellose sind Aborte, Frühgeburten und Geburt toter oder lebensschwacher Nachkommen.

Infizierte Bullen erkranken an Hodenentzündungen und Nebenhodenentzündungen.

Übertragen wird der Erreger vor allem durch orale Aufnahme und beim Deckakt. Eine Infektion über Milch, Harn und Kot ist ebenfalls möglich. Im Tierbestand verläuft die Brucellose seuchenhaft.

Die Brucellose ist eine auf den Menschen übertragbare Erkrankung (Zoonose). Risikopersonen sind vor allem Schäfer, Landwirte, Tierpfleger, Tierärzte und Laborpersonal.

Infektionen können nachgewiesen werden:

- Mittels gattungsspezifischer PCR
- Serologisch: Nachweis von Antikörpern mittels ELISA

2. VERWENDUNGSZWECK

Der NovaTec VetLine Brucella ELISA ist für den qualitativen Nachweis spezifischer Antikörper gegen Brucella in veterinärem Serum, gepoolten Serumproben und Milchproben bestimmt.

3. TESTPRINZIP

Die qualitative immunenzymatische Bestimmung von spezifischen Antikörpern beruht auf der ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) Technik.

Die Mikrotiterplatten sind mit spezifischen Antigenen beschichtet, an welche die korrespondierenden Antikörper aus der Probe binden. Ungebundenes Probenmaterial wird durch Waschen entfernt. Anschließend erfolgt die Zugabe eines Meerettich-Peroxidase (HRP) Konjugates. Dieses Konjugat bindet an die an der Mikrotiterplatte gebundenen spezifischen Antikörper. In einem zweiten Waschschriff wird ungebundenes Konjugat entfernt. Die Immunkomplexe, die durch die Bindung des Konjugates entstanden sind, werden durch die Zugabe von Tetramethylbenzidin (TMB)-Substratlösung und eine resultierende Blaufärbung nachgewiesen.

Die Intensität des Reaktionsproduktes ist proportional zur Menge der spezifischen Antikörper in der Probe. Die Reaktion wird mit Schwefelsäure gestoppt, wodurch ein Farbumschlag von blau nach gelb erfolgt. Die Absorption wird bei 450/620 nm mit einem Mikrotiterplatten-Photometer gemessen.

4. MATERIALIEN

4.1. Mitgelieferte Reagenzien

- **Mikrotiterplatte:** 12 teilbare 8er-Streifen, beschichtet mit Brucella Antigenen; in wieder verschließbarem Aluminiumbeutel.
- **Probenverdünnungspuffer:** 1 Flasche mit 100 mL Phosphatpuffer (10 mM) zur Probenverdünnung; pH 7,2 ± 0,2; gelb gefärbt; gebrauchsfertig; weiße Verschlusskappe; ≤ 0,0015 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Stopplösung:** 1 Flasche mit 15 mL Schwefelsäure, 0,2 mol/L; gebrauchsfertig; rote Verschlusskappe.
- **Waschpuffer (20x konz.):** 1 Flasche mit 50 mL eines 20-fach konzentrierten Phosphatpuffers (0,2 M), zum Waschen der Kavitäten; pH 7,2 ± 0,2; weiße Verschlusskappe.
- **Konjugat:** 1 Flasche mit 20 mL Peroxidase-konjugierten Protein A/G; gelb gefärbt; gebrauchsfertig; weiße Verschlusskappe; ≤ 0,02 % (v/v) MIT.
- **TMB-Substratlösung:** 1 Flasche mit 15 mL 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB), < 0,1 %; gebrauchsfertig; gelbe Verschlusskappe.
- **Positivkontrolle:** 1 Fläschchen mit 2 mL; gelb gefärbt; rote Verschlusskappe; gebrauchsfertig; ≤ 0,02 % (v/v) MIT.
- **Cut-off Kontrolle:** 1 Fläschchen mit 3 mL; gelb gefärbt; grüne Verschlusskappe; gebrauchsfertig; ≤ 0,02 % (v/v) MIT.
- **Negativkontrolle:** 1 Fläschchen mit 2 mL; gelb gefärbt; blaue Verschlusskappe; gebrauchsfertig; ≤ 0,0015 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).

Für Gefahren- und Sicherheitshinweise siehe 12.1.

Für potenzielle Gefahrstoffe überprüfen Sie bitte das Sicherheitsdatenblatt.

Zum Online-Shop:



4.2. Mitgeliefertes Zubehör

- 1 selbstklebende Abdeckfolie
- 1 Arbeitsanleitung
- 1 Plattenlayout

4.3. Erforderliche Materialien und Geräte

- Mikrotiterplatten-Photometer mit Filtern 450/620 nm
- Inkubator 37 °C
- Manuelle oder automatische Waschvorrichtung
- Mikropipetten (10 - 1000 µL)
- Vortex-Mischer
- Destilliertes Wasser
- Plastikröhrchen für den einmaligen Gebrauch

5. STABILITÄT UND LAGERUNG

Testkit bei 2...8 °C lagern. Die geöffneten Reagenzien sind bis zu den auf den Etiketten angegebenen Verfallsdaten verwendbar, wenn sie bei 2...8 °C gelagert werden.

6. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Es ist sehr wichtig, alle Reagenzien und Proben vor ihrer Verwendung auf Raumtemperatur (20...25 °C) zu bringen und zu mischen!

6.1. Mikrotiterplatte

Die abbrechbaren Streifen sind mit Brucella Antigenen beschichtet. Nicht verbrauchte Vertiefungen im Aluminiumbeutel zusammen mit dem Trockenmittel sofort wieder verschließen und bei 2...8 °C lagern.

6.2. Waschpuffer (20x konz.)

Der Waschpuffer ist im Verhältnis 1 + 19 zu verdünnen; z.B. 10 mL Waschpuffer + 190 mL destilliertes Wasser.

Der verdünnte Puffer ist bei Raumtemperatur (20...25 °C) 5 Tage haltbar. Sollten Kristalle im Konzentrat auftreten, die Lösung z.B. in einem Wasserbad auf 37 °C erwärmen und vor dem Verdünnen gut mischen.

6.3. TMB-Substratlösung

Die gebrauchsfertige Lösung ist bei 2...8 °C vor Licht geschützt aufzubewahren. Die Lösung ist farblos, kann aber auch leicht hellblau sein. Sollte die TMB-Substratlösung blau sein, ist sie kontaminiert und kann nicht im Test verwendet werden.

7. ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN

Es sollten Serum- oder Milchproben verwendet werden.

- Serum: Es sollten bovine oder porcine Serumproben verwendet werden.
- Gepoolte Serumproben: Es sollen maximal 5 Proben gepoolt werden.
- Milch: Es sollten bovine Milchproben mit diesem Test verwendet werden.

Nach einer Zentrifugation für 15 Minuten bei 2000 x g oder für 2 Minuten bei 10.000 x g können Vollmilchproben verwendet werden. Die Probe sollte unterhalb der Cremeschicht genommen werden.

Wiederholtes Tiefgefrieren und Auftauen vermeiden!
Hitzeinaktivierung der Proben wird nicht empfohlen.

7.1. Probenverdünnung

Serumproben vor Testbeginn im Verhältnis 1+100 mit Probenverdünnungspuffer verdünnen, z.B. 10 µL Probe und 1 mL Probenverdünnungspuffer in die entsprechenden Röhrchen pipettieren, um eine Verdünnung von 1+100 zu erhalten; gut mischen (Vortex).

Gepoolte Serumproben vor Testbeginn mit Probenverdünnungspuffer verdünnen:

z.B. 10 µL pro Probe (max. 5 Proben) zusammen in 1 mL Probenverdünnungspuffer in das entsprechenden Röhrchen pipettieren; gut mischen (Vortex).

Milchproben vor Testbeginn im Verhältnis 1+10 mit Probenverdünnungspuffer verdünnen, z.B. 100 µL Milch und 1 mL Probenverdünnungspuffer in die entsprechenden Röhrchen pipettieren, um eine Verdünnung von 1+10 zu erhalten; gut mischen (Vortex).

Die optimale Verdünnung der Milchproben kann zwischen den Regionen und Tierspezies variieren. Sie kann zwischen unverdünnt und 1+20 variieren und muss von jedem Labor bestimmt werden. Die beschriebene 1+10 Verdünnung sollte als der Startpunkt der Evaluierung betrachtet werden.

Zum Online-Shop:



8. TESTDURCHFÜHRUNG

Arbeitsanleitung **vor** Durchführung des Tests sorgfältig lesen. Für die Zuverlässigkeit der Ergebnisse ist es notwendig, die Arbeitsanleitung genau zu befolgen. Die folgende Testdurchführung ist für die manuelle Methode validiert. Beim Arbeiten mit ELISA Automaten empfehlen wir, um Wascheffekte auszuschließen, die Zahl der Waschschriffe von drei auf bis zu fünf und das Volumen des Waschpuffers von 300 µL auf 350 µL zu erhöhen. Kapitel 12 beachten. Vor Testbeginn auf dem mitgelieferten Plattenlayout die Verteilung bzw. Position der Proben und der Standards/Kontrollen (Doppelbestimmung empfohlen) genau festlegen. Die benötigte Anzahl von Mikrotiterstreifen (Kavitäten) in den Streifenhalter einsetzen.

Den Test in der angegebenen Reihenfolge und ohne Verzögerung durchführen.

Für jeden Pipettierschritt der Standards/Kontrollen und Proben saubere Einmalspitzen verwenden.

Den Inkubator auf 37 ± 1 °C einstellen.

1. Je 100 µL Standards/Kontrollen und vorverdünnte Proben in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren. Vertiefung A1 ist für den Substratleerwert vorgesehen.
2. Die Streifen mit der mitgelieferten Abdeckfolie bedecken.
3. **1 h ± 5 min bei 37 °C inkubieren.**
4. Am Ende der Inkubationszeit Abdeckfolie entfernen und die Inkubationsflüssigkeit aus den Teststreifen absaugen. Anschließend dreimal mit 300 µL Waschpuffer waschen. Überfließen von Flüssigkeit aus den Vertiefungen vermeiden. Das Intervall zwischen Waschen und Absaugen sollte > 5 sec betragen. Nach dem Waschen die Teststreifen auf Fließpapier ausklopfen, um die restliche Flüssigkeit zu entfernen.
Beachte: Der Waschvorgang ist wichtig, da unzureichendes Waschen zu schlechter Präzision und falschen Messergebnissen führt!
5. 100 µL Konjugat in alle Vertiefungen, mit Ausnahme der für die Berechnung des Leerwertes A1 vorgesehenen, pipettieren.
6. **30 min bei Raumtemperatur (20...25 °C) inkubieren.** Nicht dem direkten Sonnenlicht aussetzen.
7. Waschvorgang gemäß Punkt 4 wiederholen.
8. 100 µL TMB-Substratlösung in alle Vertiefungen pipettieren.
9. **Genau 15 min im Dunkeln bei Raumtemperatur (20...25 °C) inkubieren.** Bei enzymatischer Reaktion findet eine Blaufärbung statt.
10. In alle Vertiefungen 100 µL Stopplösung in der gleichen Reihenfolge und mit den gleichen Zeitintervallen wie bei Zugabe der TMB-Substratlösung pipettieren, dadurch erfolgt ein Farbwechsel von blau nach gelb.
11. Die Extinktion der Lösung in jeder Vertiefung bei 450/620 nm innerhalb von 30 min nach Zugabe der Stopplösung messen.

8.1. Messung

Mit Hilfe des Substratleerwertes den **Nullabgleich** des Mikrotiterplatten-Photometers vornehmen.

Falls diese Eichung aus technischen Gründen nicht möglich ist, muss nach der Messung der Extinktionswert des Substratleerwertes von allen anderen Extinktionswerten subtrahiert werden, um einwandfreie Ergebnisse zu erzielen!

Extinktion aller Kavitäten bei **450 nm** messen und die Messwerte der Standards/Kontrollen und Proben in das Plattenlayout eintragen.

Eine **bichromatische** Messung mit der Referenzwellenlänge 620 nm wird empfohlen.

Falls Doppel- oder Mehrfachbestimmungen durchgeführt wurden, den **Mittelwert der Extinktionswerte** berechnen.

9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

9.1. Testgültigkeitskriterien

Der Test wurde richtig durchgeführt, wenn er folgende Kriterien erfüllt:

- **Substrat-Leerwert:** Extinktionswert < **0,100**
- **Negativkontrolle:** Extinktionswert < **0,200** und < **Cut-off**
- **Cut-off Kontrolle:** Extinktionswert **0,150 – 1,300**
- **Positivkontrolle:** Extinktionswert > **Cut-off**

Sind diese Kriterien nicht erfüllt, ist der Testlauf ungültig und muss wiederholt werden.

9.2. Messwertberechnung

Der Cut-off ergibt sich aus dem Mittelwert der gemessenen Extinktionen der Cut-off Kontrolle.

Beispiel: $0,44 \text{ OD Cut-off Kontrolle} + 0,42 \text{ OD Cut-off Kontrolle} = 0,86 : 2 = 0,43$

Cut-off = 0,43

9.2.1. Ergebnisse in Einheiten [NTU]

$\frac{\text{Mittlere Extinktion der Probe} \times 10}{\text{Cut-off}} = [\text{NovaTec Einheiten} = \text{NTU}]$

Beispiel: $\frac{1,591 \times 10}{0,43} = 37 \text{ NTU}$

Zum Online-Shop:



9.3. Interpretation der Ergebnisse

Normwert-Bereiche für diesen ELISA sollten, basierend auf dem entsprechenden Probenkollektiv im jeweiligen Einzugsgebiet, individuell von jedem Labor erstellt werden.

Folgende Angaben gelten als Richtlinien:

Cut-off	10 NTU	-
Positiv	> 11 NTU	Es liegen Antikörper gegen den Erreger vor. Ein Kontakt mit dem Antigen (Erreger bzw. Impfstoff) hat stattgefunden.
Grenzwertig	9 – 11 NTU	Antikörper gegen den Erreger können nicht eindeutig nachgewiesen werden. Es wird empfohlen den Test nach 2 bis 4 Wochen mit einer frischen Patientenprobe zu wiederholen. Finden sich die Ergebnisse erneut im grenzwertigen Bereich, gilt die Probe als negativ .
Negativ	< 9 NTU	Es liegen keine Antikörper gegen den Erreger vor. Ein vorausgegangener Kontakt mit dem Antigen (Erreger bzw. Impfstoff) ist unwahrscheinlich.

Die Diagnose einer Infektionskrankheit darf nicht allein auf der Basis des Ergebnisses einer Bestimmung gestellt werden. Die anamnestischen Daten sowie die Symptomatologie müssen zusätzlich zu den serologischen Ergebnissen in Betracht gezogen werden.

10. TESTMERKMALE

Die Ergebnisse beziehen sich auf die untersuchten Probenkollektive; es handelt sich nicht um garantierte Spezifikationen.

Die Leistungsdaten wurden mit ausgewählten Proben bestimmt. Aufgrund der Eigenschaften des Protein A/G Konjugats sollte der ELISA mit allen Proben von Säugetieren reagieren. Detailliertere Informationen sind auf Nachfrage erhältlich.

10.1. Präzision

Intraassay	n	Mittelwert (E)	Vk (%)
#1	24	0.577	4.14
#2	24	1.276	3.34
#3	24	1.200	2.75

Interassay	n	Mittelwert (NTU)	Vk (%)
#1	12	23.22	4.97
#2	12	20.13	6.05
#3	12	5.10	8.55

10.2. Diagnostische Spezifität

Die diagnostische Spezifität ist definiert als die Wahrscheinlichkeit des Tests, ein negatives Ergebnis bei Fehlen des spezifischen Analyten zu liefern.

Diagnostische Spezifität (bovine und porcine): > 98 % (95% Konfidenzintervall: 88.78 % - 98.62 %)

10.3. Diagnostische Sensitivität

Die diagnostische Sensitivität ist definiert als die Wahrscheinlichkeit des Tests, ein positives Ergebnis bei Vorhandensein des spezifischen Analyten zu liefern.

Diagnostische Sensitivität (bovine und porcine): > 98 % (95% Konfidenzintervall: 63.37 % - 98.62 %)

10.4. Interferenzen

Hämolytische, lipämische und ikterische Proben ergaben bis zu einer Konzentration von 10 mg/mL für Hämoglobin, von 5 mg/mL Triglyceride und von 0,5 mg/mL für Bilirubin keine Interferenzen im vorliegenden ELISA.

10.5. Kreuzreaktivität

Kreuzreaktionen können nicht ausgeschlossen werden.

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Kontamination der Proben durch Bakterien oder wiederholtes Einfrieren und Auftauen können zu einer Veränderung der Messwerte führen.

Zum Online-Shop:



12. SICHERHEITSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

- Nur für veterinärmedizinische in-vitro-Diagnostik.
- Alle Materialien menschlichen oder tierischen Ursprungs sind als potentiell infektiös anzusehen und entsprechend zu behandeln.
- Alle verwendeten Bestandteile menschlichen Ursprungs sind auf Anti-HIV-AK, Anti-HCV-AK und HBsAg nicht-reaktiv getestet.
- Reagenzien und Mikrotiterplatten unterschiedlicher Chargen nicht untereinander austauschen.
- Keine Reagenzien anderer Hersteller zusammen mit den Reagenzien dieses Testkits verwenden.
- Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Nur saubere Pipettenspitzen, Dispenser und Labormaterialien verwenden.
- Verschlusskappen der einzelnen Reagenzien nicht untereinander vertauschen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
- Flaschen sofort nach Gebrauch fest verschließen, um Verdunstung und mikrobielle Kontamination zu vermeiden.
- Nach dem ersten Öffnen Konjugat und Standards/Kontrollen vor weiterem Gebrauch auf mikrobielle Kontamination prüfen.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontamination und falsch erhöhten Resultaten, Reagenzien sorgfältig in die Kavitäten pipettieren.
- Der ELISA ist nur für die Anwendung durch Fachpersonal vorgesehen, welches die Arbeitstechniken einwandfrei beherrscht.

12.1. Sicherheitshinweis für Reagenzien, die Gefahrstoffe enthalten

Die Reagenzien können CMIT/MIT (3:1) oder MIT enthalten (siehe 4.1)

Daher gelten die folgenden Gefahren- und Sicherheitshinweise.

Achtung



H317	Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
P261	Einatmen von Aerosol vermeiden.
P280	Schutzhandschuhe/Schutzkleidung tragen.
P302+P352	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Seife und Wasser waschen.
P333+P313	Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P362+P364	Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen

Weitere Informationen können dem Sicherheitsdatenblatt entnommen werden.

12.2. Entsorgungshinweise

Chemikalien und Zubereitungen sind in der Regel Sonderabfälle. Deren Beseitigung unterliegt den nationalen abfallrechtlichen Gesetzen und Verordnungen. Die zuständige Behörde informiert über die Entsorgung von Sonderabfällen.

13. BESTELLINFORMATIONEN

Produktnummer: BRUVT0050 VetLine Brucella ELISA (96 Bestimmungen)

Zum Online-Shop:



BIBLIOGRAPHY / LITERATUR / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAFIA

Wundt W. Krankheiten durch Brucellen. In: Gsell O. und Mohr W. Infektionskrankheiten. Springer Verlag Berlin Heidelberg (1968).

Godfroid J. Brucellosis in wildlife. Rev Sci Tech. 2002 Aug;21(2):277-86.

Salata, R.A., Ravdin, J.I. (1985) Brucella species (Brucellosis). In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, EDS. Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: John Wiley, 1283-90

Ariza, J., Pellicer, T., Palarés, R., Foz, A. and Gudiol, F. (1992) Specific antibody profile in human brucellosis. Clin Infect Dis. 1992 Jan;14(1):131-40.

Brouqui P, Raoult D. Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. Clin Microbiol Rev. 2001 Jan;14(1):177-207.

Gad El-Rab MO, Kambal AM. Evaluation of a Brucella enzyme immunoassay test (ELISA) in comparison with bacteriological culture and agglutination. J Infect. 1998 Mar;36(2):197-201.

Corbel MJ. Brucellosis: an overview. Emerg Infect Dis. 1997 Apr-Jun;3(2):213-21.






ABBREVIATIONS / ABKÜRZUNGEN / ABRÉVIATIONS / ABBREVIAZIONI / ABREVIACIONES / ABREVIATURAS

CMIT	5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one
MIT	2-methyl-2H-isothiazol-3-one

Zum Online-Shop:



SYMBOLS KEY / SYMBOLSCHLÜSSEL / EXPLICATION DES SYMBOLES / LEGENDA / SIMBOLOS / TABELA DE SIMBOLOS

	Manufactured by / Hergestellt von / Fabriqué par / Prodotto da / Fabricado por / Fabricado por
LOT	Lot Number / Chargenbezeichnung / Numéro de lot / Lotto / Número de lote / Número de lote
	Expiration Date / Verfallsdatum / Date de péremption / Scadenza / Fecha de caducidad / Data de Validade
	Storage Temperature / Lagertemperatur / Température de conservation / Temperatura di conservazione / Temperatura de almacenamiento / Temperatura de Armazenamento
REF	Catalogue Number / Katalog Nummer / Référence du catalogue / Numero di codice / Número de Catálogo / Número de Catálogo
	Consult Instructions for Use / Arbeitsanleitung beachten / Consulter la notice d'utilisation / Consultare le istruzioni per l'uso/ Consulte las Instrucciones de Uso / Consultar as Instruções de Utilização
MTP	Microtiterplate / Mikrotiterplatte / Plaque de Microtitrage / Piastre di Microtitolazione / Placa de Microtitulación / Placa de Microtitulação
CONJL	Conjugate / Konjugat / Conjugué / Coniugato / Conjugado / Conjugado
CONTROL -	Negative Control / Negativkontrolle / Contrôle Négatif / Controllo Negativo / Control Negativo / Controle Negativo
CONTROL +	Positive Control / Positivkontrolle / Contrôle Positif / Controllo Positivo / Control Positivo / Controle Positivo
CUT OFF	Cut-off Control / Cut-off Kontrolle / Contrôle Cut-off / Controllo Cut-off / Control Cut-off / Controle Cut-off
DIL	Sample Dilution Buffer / Probenverdünnungspuffer / Tampon de Dilution d'Échantillon / Tampone di Diluizione del Campione / Tampón de Dilución de Muestras / Tampão de Diluição de Amostra
SOLN STOP	Stop Solution / Stopplösung / Solution d'Arrêt / Soluzione Bloccante / Solución de Parada / Solução de Bloqueio
SUB TMB	TMB Substrate Solution / TMB-Substratlösung / Solution de Substrat TMB / Soluzione Substrato TMB / Solución de Sustrato de TMB / Solução Substrato TMB
WASH BUF 20x	Washing Buffer 20x concentrated / Waschpuffer 20x konzentriert / Tampon de Lavage concentré 20 x / Tampone di Lavaggio concentrazione x20 / Tampón de Lavado concentrado x20 / Tampão de Lavagem concentrada 20x
	Contains sufficient for "n" tests / Ausreichend für "n" Tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenido suficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para "n" tests / Conteúdo suficiente para "n" testes

Zum Online-Shop:



SCHEME OF THE ASSAY

VetLine Brucella ELISA

Test Preparation

Prepare reagents and samples as described.
 Establish the distribution and identification plan for all samples and standards/controls on the plate layout supplied in the kit.
 Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

Assay Procedure

	Substrate Blank (A1)	Negative Control	Cut-off Control	Positive Control	Sample (dilution: refer to point 7.1)
Negative Control	-	100 µL	-	-	-
Cut-off Control	-	-	100 µL	-	-
Positive Control	-	-	-	100 µL	-
Sample (dilution: refer to point 7.1)	-	-	-	-	100 µL
Cover wells with foil supplied in the kit Incubate for 1 h at 37±1 °C Wash each well three times with 300 µL of Washing Buffer					
Conjugate	-	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Incubate for 30 min at room temperature (20...25 °C) Do not expose to direct sunlight Wash each well three times with 300 µL of Washing Buffer					
TMB Substrate Solution	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Incubate for exactly 15 min at room temperature (20...25 °C) in the dark					
Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Photometric measurement at 450 nm (reference wavelength: 620 nm)					



NovaTec Immundiagnostica GmbH

Waldstraße 23 A6
 63128 Dietzenbach, Germany

Tel.: +49 (0) 6074-48760
 Email: info@NovaTec-ID.com
 Internet: www.NovaTec-ID.com

Fax: +49 (0) 6074-487629

Zum Online-Shop: www.pia.com
 BRUVT0050-0004-0001-0002-0003-0004-0005-0006-0007-0008-0009-0010-0011-0012-0013-0014-0015-0016-0017-0018-0019-0020-TL