

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)

Ir a la tienda:

ESPAÑOL

1. INTRODUCCIÓN

Especies de *Brucella* son muy pequeñas, Son bacterias gram-negativas inmóviles (0.4 - 0.8 micras de diámetro 0.4 - 3.0 micras de longitud). Ellas fueron nombradas después de que el médico militar Inglés Bruce Davis, aisló el patógeno en 1887 en Malta del bazo de un soldado fallecido con fiebre ondulante.

Especialmente después de cuatro especies son de importancia:

<i>Brucella abortus</i> :	agente causal de la brucelosis bovina
<i>Brucella melitensis</i> :	agente causal de la brucelosis ovina y caprina
<i>Brucella suis</i> :	agente causal de la brucelosis porcina
<i>Brucella canis</i> :	agente causal de la brucelosis canina

Los síntomas de la enfermedad son similares en ganado vacuno, ovejas, cabras y cerdos. Las ovejas parecen ser menos susceptibles se ha observado menos frecuencia de aborto en esta especie.

Después de la infección, la brucelosis comienza con una fase clínicamente normal que es a menudo inadvertida. Más tarde, a menudo hay inflamación de las articulaciones, y algunas veces la mastitis. Los principales síntomas de la brucelosis son abortos, nacimientos prematuros y nacimiento de crías muertas o débiles.

Por otro lado los toros infectados pueden desarrollar orquitis y epididimitis.

El patógeno se transmite principalmente por ingestión y en el apareamiento. La infección por la leche, la orina y las heces también es posible. La brucelosis en el ganado puede convertirse en una epidemia.

La brucelosis es una enfermedad que puede transmitirse a los seres humanos (zoonosis). Las personas en riesgo son especialmente pastores, agricultores, criadores de animales, veterinarios y personal de laboratorio.

Las infecciones pueden ser diagnosticadas:

- PCR específica por género
- Serología: Detección de anticuerpos por ELISA

2. USO PREVISTO

El ensayo de inmunoenzima de NovaTec VetLine *Brucella* ELISA se utiliza para la determinación cualitativa de anticuerpos contra *Brucella* en suero de veterinario, muestras del pool de suero y muestras de leche.

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

La determinación inmunoenzimática cualitativa de anticuerpos específicos se basa en la técnica ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay).

Las Placas de Microtitulación están recubiertas con antígenos específicos unen a los anticuerpos de la muestra. Después de lavar los pocillos para eliminar todo el material de muestra no unido, el conjugado de peroxidasa de rábano (HRP) se añade. Este conjugado se une a los anticuerpos capturados. En una segunda etapa de lavado se retira el conjugado no unido. El complejo inmune formado por el conjugado unido se visualizó añadiendo sustrato tetrametilbencidina (TMB), que da un producto de reacción azul.

La intensidad de este producto es proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos en la muestra. se añade ácido sulfúrico para detener la reacción. Esto produce un cambio de color de azul a amarillo. La extinción a 450/620 nm se mide con un fotómetro de Placa de Microtitulación ELISA.

4. MATERIALES

4.1. Reactivos suministrados

- **Placa de Microtitulación:** 12 tiras de 8 pocillos rompibles, recubiertos con antígenos de *Brucella*, en bolsa de aluminio.
- **Tampón de Dilución de Muestras.** 1 botella de 100 mL de solución de tampón de fosfato (10 mM) para diluir la muestra; pH 7,2 ± 0,2; color amarillo; listo para ser utilizado; tapa blanca; ≤ 0,0015% (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Solución de Parada:** 1 botella de 15 mL de ácido sulfúrico, 0,2 mol/L, listo para ser utilizado; tapa roja.
- **Tampón de Lavado (20x conc.):** 1 botella de 50 mL de una solución de tampón de fosfato 20x concentrado (0,2 M) para lavar los pocillos; pH 7,2 ± 0,2; tapa blanca.
- **Conjugado:** 1 botella de 20 mL Proteína A/G conjugada con peroxidasa de rábano (HRP); color amarillo; tapa blanca; listo para ser utilizado; ≤ 0,02% (v/v) MIT.
- **Solución de Sustrato de TMB:** 1 botella de 15 mL 3,3',5,5'-tetrametilbenzindina (TMB), < 0,1 %; listo para ser utilizado; tapa amarilla.
- **Control Positivo:** 1 botella de 2 mL control; color amarillo; tapa roja; listo para ser utilizado; ≤ 0,02% (v/v) MIT.
- **Control Cut-off:** 1 botella de 3 mL control; color amarillo; tapa verde; listo para ser utilizado; ≤ 0,02% (v/v) MIT.
- **Control Negativo:** 1 botella de 2 mL control; color amarillo; tapa azul; listo para ser utilizado; ≤ 0,0015% (v/v) CMIT/MIT (3:1).

Para indicaciones de peligro y consejos de prudencia consulte el cap. 12.1.

Para sustancias potencialmente peligrosas por favor revise la ficha de datos de seguridad.

Ir a la tienda:



4.2. Accesorios suministrados

- 1 lámina autoadhesiva
- 1 instrucciones de uso
- 1 esquema de la placa

4.3. Materiales e instrumentos necesarios

- Fotómetro de Placa de Microtitulación con filtros de 450/620 nm
- Incubadora 37 °C
- Dispositivo de lavado manual o automático para Placa de Microtitulación
- Micropipetas para uso de (10-1000 µL)
- Mezcladora Vortex
- Agua destilada
- Tubos de plástico desechables

5. ESTABILIDAD Y ALMACENAJE

Almacene el kit a 2...8 °C. Los reactivos abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta cuando se almacena a 2...8 °C.

6. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Es muy importante llevar todos los reactivos y las muestras para a la temperatura ambiente (20...25 °C) y mezclarlos antes de serem utilizados!

6.1. Placa de Microtitulación

As tiras rompibles están recubiertas con antígenos del Brucella; Inmediatamente después de la eliminación de las tiras, las tiras restantes deben sellarse de nuevo en el papel de aluminio junto con la bolsita di dióxido de silicio y almacenar a 2...8 °C.

6.2. Tampón de Lavado (20x conc.)

Diluir la Tampón de Lavado 1+19; por ejemplo 10 mL de la Tampón de Lavado + 190 mL de agua destilada. La Tampón de Lavado diluido es estable durante 5 días a temperatura ambiente o a 2...8 °C. Caso aparecen cristales en el concentrado, calentar la solución a 37 °C, por ejemplo, en un baño María. Mezclar bien antes de la dilución.

6.3. Solución de Sustrato de TMB

La solución está listo para su uso y debe almacenarse a 2...8 °C, protegida de la luz. La solución debe ser incolora o podría tener un color ligeramente azul claro. Si el sustrato se convierte en azul, es posible que haya sido contaminado y no puede ser utilizada en el ensayo.

7. TOMA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Usar muestras de suero o leche para este ensayo.

- Suero: Usar muestras de suero bovino o porcino.
- Pool de suero: Usar hasta 5 muestras agrupadas. Se puede hacer un pool de sueros máximo con cinco muestras.
- Leche: Usar muestras de leche bovino.

Las muestras de leche completas pueden ser usadas después de 15 minutos de centrifugación a 2000 x g o por 2 minutos a 10000 x g. La muestra debe extraer debajo de la capa de nata.

Evitar congelar y descongelar las muestras repetidamente.

No se recomienda la inactivación por calor de las muestras.

7.1. Dilución de las muestras

Antes de ejecutar el ensayo, todas las **muestras de suero** deben ser diluidas 1+100 con el Tampón de Dilución de Muestras. P.ej. dispensar 10 µL de muestra y 1 mL de Tampón de Dilución de Muestras en un tubo y mezclar bien con vórtex.

Las **muestras sueros combinados (pool)** deben ser diluidas con el Tampón de Dilución de Muestras:

Por ejemplo, dispensar en un tubo 1 mL de Tampón de Dilución de Muestras y 10 µL de cada muestra (máximo 5 muestras) y mezclar bien con vórtex.

Todas las **muestras de leche** deben ser diluidas 1+10 con el Tampón de Dilución de Muestras, antes de ejecutar el ensayo. P.ej. dispensar 100 µL de muestra y 1 mL de Tampón de Dilución de Muestras en un tubo y mezclar bien con vórtex.

La dilución ideal de la leche puede diferir de una región a región y entre especies animales. Puede variar desde muestras sin diluir hasta muestras con diluciones 1+20 y debe ser determinado individualmente por cada laboratorio. La dilución 1+10 descrita debe considerarse como punto de partida para la evaluación.

Ir a la tienda:



8. PROCEDIMIENTO

Por favor, leer cuidadosamente las instrucciones de uso del ensayo **antes** de realizarlo. Para el buen funcionamiento de la técnica es necesario seguir las instrucciones. El siguiente procedimiento es válido solamente para el método manual. Si se realiza el ensayo en los sistemas automáticos de ELISA es aconsejable elevar el número de lavado de tres hasta cinco veces y el volumen de Tampón de Lavado de 300 µL a 350 µL para excluir efectos de lavado. Preste atención al capítulo 12. Antes de comenzar, especificar exactamente la repartición y posición de las muestras y de los estándares/controles (recomienda determinar en doble) en lo esquema de la placa suministrada. Usar la cantidad necesaria de tiras o pozos e insertarlos en el soporte.

Realizar el ensayo en el orden indicado y sin retraso.

Para cada paso de pipeteado en los estándares/controles y en las muestras, usar siempre puntas de pipeta de un solo uso.

Graduar la incubadora a $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

1. Pipetear 100 µL de estándares/controles y muestras en los pocillos respectivos. Dejar el pocillo A1 para el blanco.
2. Recubrir las tiras con los autoadhesivos suministrados.
3. **Incubar 1 h \pm 5 min a $37 \pm 1^\circ\text{C}$.**
4. Después de la incubación, retirar el autoadhesivo, aspirar el líquido de la tira y lavarla tres veces con 300 µL de la Tampón de Lavado. Evitar el rebosamiento de los pocillos. El intervalo entre lavado y aspiración debe ser > 5 segundos. Para sacar el líquido restante de las tiras, es conveniente sacudirlas sobre papel absorbente.
Nota: El lavado es muy importante! Un mal lavado insuficiente provoca una baja precisión y resultados falsamente elevados!
5. Pipetar 100 µL de Conjugado en cada pocillo con excepción del blanco sustrato A1.
6. **Incubar 30 min a la temperatura ambiente ($20\text{...}25^\circ\text{C}$).** Evitar la luz solar directa.
7. Repetir el lavado como en el paso numero 4.
8. Pipetar 100 µL de la Solución de Sustrato de TMB en todos los pocillos.
9. **Incubar exactamente 15 min en oscuridad a temperatura ambiente ($20\text{...}25^\circ\text{C}$).** Un color azul se produce en las muestras positivas debido a la reacción enzimática.
10. Pipetear en todos los pocillos 100 µL de la Solución de Parada en el mismo orden y mismo intervalo de tiempo como con la Solución de Sustrato de TMB, por lo tanto un cambio de color de azul a amarillo se produce.
11. Medir la extinción con 450/620 nm en un periodo de 30 min después de añadir la Solución de Parada.

8.1. Medición

Ajustar el fotómetro de Placa de Microtitulación ELISA **al cero** utilizando **el Blanco**.

Si por razones técnicas el fotómetro de Placa de Microtitulación de ELISA no se puede ajustar a cero utilizando el Blanco, el valor de la absorbancia de esto debe ser sustraído de los demás valores de absorbancia medidos con el fin de obtener resultados fiables!

Medir la **extinción** de todos los pocillos con **450 nm** y anotar los resultados de los estándares/controles y de las muestras en la **esquema de la placa**.

Es aconsejable realizar la medición **bicromática** a una longitud de onda de referencia de 620 nm.

Si se efectuaron análisis en duplicado o múltiples, hay que calcular **el promedio de los valores de extinción** de los pocillos correspondientes.

9. CALCULO DE LOS RESULTADOS

9.1. Criterios de validez del ensayo

El ensayo es válido si se cumplen los siguientes criterios:

- **Blanco:** valor de la extinción < **0,100**
- **Control negativo:** valor de la extinción < **0,200** y < **Cut-off**
- **Control cut-off:** valor de la extinción **0,150 – 1,300**
- **Control positivo:** valor de la extinción > **Cut-off**

Si estos criterios no se cumplen, la prueba no es válida y deberá repetirse.

9.2. Calculo del valor de la medición

El Cut-off se obtiene de los valores de la extinción de lo Control cut-off.

Ejemplo: $0,42 \text{ OD Control cut-off} + 0,44 \text{ OD Control cut-off} = 0,86:2 = 0,43$

Cut-off = 0,43

9.2.1. Resultados en unidades [NTU]

Promedio valor de la extinción de la muestra $\times 10$ = [NovaTec-unidades = NTU]
Cut-off

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

Ir a la tienda:



9.3. Interpretación de los resultados

Los intervalos de valores normales para el ELISA deben ser establecidos por cada laboratorio con base en las muestras de la propia población en las áreas geográficas atendidas.

Estos son los datos normativos:

Cut-off	10 NTU	-
Positivo	> 11 NTU	Los anticuerpos contra el patógeno están presentes. Ha producido un contacto con el antígeno (patógeno resp. vacuna).
Zona intermedia	9 – 11 NTU	Los anticuerpos contra el patógeno no se pudieron detectar claramente. Se recomienda repetir la prueba con una muestra fresca en 2 a 4 semanas. Si el resultado es de nuevo en la zona intermedia, la muestra se considera como negativa .
Negativo	< 9 NTU	La muestra no contiene anticuerpos contra el patógeno. Un contacto previo con el antígeno (patógeno resp. vacuna) es poco probable.
El diagnóstico de una infección no solamente se debe basar en el resultado del ensayo. Es necesario considerar la anamnesis y la sintomatología junto al resultado serológico.		

10. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

Los resultados están basados en lo grupo de pruebas investigado; no se trata de especificaciones garantizadas.

Los datos de rendimiento se han determinado con muestras de suero seleccionadas. Debido a las propiedades del conjugado proteína A/G, el ELISA debe reaccionar con las muestras de todos mamíferos.

Información más detallada está disponible bajo petición.

10.1. Precisión

<u>Intra ensayo</u>	<u>n</u>	<u>Promedio (E)</u>	<u>CV (%)</u>
#1	24	0.577	4.14
#2	24	1.276	3.34
#3	24	1.200	2.75

<u>Inter ensayo</u>	<u>n</u>	<u>Promedio (NTU)</u>	<u>CV (%)</u>
#1	12	23.22	4.97
#2	12	20.13	6.05
#3	12	5.10	8.55

10.2. Especificad Diagnóstica

La especificidad del ensayo se define como la probabilidad que tiene el ensayo de dar un resultado negativo en ausencia del analítico específico.

Especificad diagnóstica (bovino y porcino): > 98 % (95% Intervalo de confianza: 88.78 % - 98.62 %)

10.3. Sensibilidad de Diagnóstico

La sensibilidad del ensayo se define como la probabilidad que tiene el ensayo de dar un resultado positivo en presencia del analítico específico.

Sensibilidad de diagnóstico (bovino y porcino): > 98 % (95% Intervalo de confianza: 63.37 % - 98.62 %)

10.4. Interferencias

Las muestras lipémicas, ictericas e hemolíticas no mostraron interferencias con este equipo ELISA hasta una concentración de 5 mg/mL para triglicéridos, de 0,5 mg/mL para bilirrubina y de 10 mg/mL hemoglobina.

10.5. Reacción cruzada

Las reacciones cruzadas no pueden ser excluidas.

11. LIMITACIONES DEL ENSAYO

Una contaminación de las muestras con bacterias, o una congelación y descongelación repetida pueden producir cambios en los valores de la extinción.

Ir a la tienda:



12. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- Solo para diagnósticos veterinarios in vitro.
- Todos los materiales de origen humano o animal deberán ser considerados y tratados como potencialmente infecciosos.
- Todos los componentes de origen humano han sido examinados y resultaron no reactivos a anticuerpos contra el VIH, VHC y HbsAG.
- No intercambiar reactivos y placas de microtítulo de cargas diferentes.
- No usar reactivos de otro fabricante para este ensayo.
- No usar después de la fecha de caducidad.
- Sólo usar recambios de pipetas, dispensadores y materiales de laboratorio limpios.
- No intercambiar las tapas de los diferentes reactivos, para evitar la contaminación cruzada.
- Para evitar la evaporación y una contaminación microbiana, cierre inmediatamente las botellas después de usarlas.
- Después de abrirlas y posterior almacenaje, asegurarse de que no existe contaminación microbiana antes de seguir usándolas.
- Para evitar contaminaciones cruzadas y resultados erróneamente aumentados, pipetear cuidadosamente las muestras y los reactivos en los pocillos sin salpicar.
- El ELISA está pensado exclusivamente para su uso por personal especializado que domine perfectamente las técnicas de trabajo.

12.1. Nota de seguridad para los reactivos que contienen sustancias peligrosas

Los reactivos pueden contener CMIT/MIT (3:1) o MIT (consulte el cap. 4.1)

Por lo tanto, se aplican las indicaciones de peligro y consejos de prudencia.

Atención



H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
261	Evitar respirar el aerosol.
P280	Llevar guantes/prendas.
P302+P352	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante jabón agua.
P333+P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
P362+P364	Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

Se puede encontrar más información en la ficha de datos de seguridad.

12.2. Indicaciones para la eliminación de residuos

Por regla general, los productos químicos y las preparaciones son residuos peligrosos. Su eliminación está sometida a las leyes y los decretos nacionales sobre la eliminación de residuos. Las autoridades informan sobre la eliminación de residuos peligroso.

13. INFORMACIONES PARA PEDIDOS

N° del producto: BRUVT0050 VetLine Brucella ELISA (96 determinaciones)

Ir a la tienda:



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., Pallarés, 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

Ir a la tienda:



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

Ir a la tienda:



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

Ir a la tienda: **BRUVT0050-0004-0001-00020-TL**