

ID Screen[®] African Swine Fever Indirect Screening Test



Kit ELISA indirect pentru detectia anticorpilor anti-Pesta Porcina Africana.

Pentru utilizare in vitro

ASFS ver 0115 EN

*Transportul se efectueaza in conditii necontrolate de temperatura și umiditate ambientala
pana la 6 saptamani, pentru fiecare etapa de transport.*

Innovative Diagnostics, 310, rue Louis Pasteur – Grabels - FRANCE
Tel: + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: + 33 (0)4 67 45 36 95
www.innovative-diagnostics.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com

Informatii Generale

Kitul ELISA indirect detecteaza anticorpilor virusului anti-Pesta Porcina Africana (ASFV) in probe de ser de porcine, plasma, suc de carne si sange pe hartie de filtru.

Descriere si Principiu

Microgodeurile sunt captusite cu proteine recombinante ASFV p32, p62 si p72.

Probele care urmeaza sa fie testate si controalele sunt adaugate in microgodeuri. Anticorpilor anti-ASFV, daca sunt prezenti, formeaza un complex antigen-anticorp.

Dupa spalare, se adauga in godeuri conjugatul anti-multi-specii cuplat cu peroxidaza din hrean (HRP). Acesta se fixeaza la anticorpi, formand un complex antigen-anticorp-conjugat-HRP.

Dupa eliminarea excesului de conjugat prin spalare, se adauga solutia de substrat (TMB).

Coloratia rezultata este proportionala cu cantitatea de anticorpi specifici prezenti in proba:

- in prezenta anticorpilor, apare o solutie albastra care devine galbena dupa adaugarea solutiei de stopare.
- in absenta anticorpilor, nu apare nicio coloratie.

Placa se citeste la 450 nm.

Nota: Acest kit nu contine materiale infectioase.

Componentele kit-ului

Reagenti*
Microplaci captusite cu proteine recombinante ASFV p32, p62 si p72
Conjugat Concentrat (10X)
Control Pozitiv
Control Negativ
Tampon de Dilutie 14
Tampon de Dilutie 3
Solutie de Spalare Concentrata (20X)
Solutie Substrat
Solutie de Stopare (0,5 M)

*Cantitatile furnizate sunt indicate pe etichetele din kit.

1. Conjugatul, controalele si solutia substrat trebuie sa fie stocate la 5°C ($\pm$ 3°C).
2. Alti reagenti pot fi depozitati intre +2°C si +26°C.
3. Pentru conditiile detaliate de depozitare a componentelor deschise si/sau diluate, va rugam sa consultati <https://www.id-vet.com/fr/support/faq>.
4. Solutiile de Spalare si Stopare pot fi utilizate pentru intreaga gama de produse IDvet. Solutiile Substrat si Tampon de dilutie cu aceleasi numere de lot sunt interschimbabile..

Materiale necesare dar nefurnizate

1. Micropipete mono sau multi-canal cu volume de 10 µl, 100 µl si 200 µl.
2. Varfuri de micropipeta.
3. Microplaca cu 96 godeuri pentru pre-dilutie.
4. Apa distilata sau deionizata.
5. Sistem manual sau automat de spalare.
6. Cititor de microplaci de 96 godeuri.

Precautii

1. Nu pipetati cu gura.
2. Conține componente care pot fi daunatoare pielii și ochilor și pot provoca sensibilizare la contactul cu pielea. Evitați contactul cu pielea și ochii. Folosiți halat de protecție de laborator, manșuri de unica folosinta și ochelari de protecție. Soluția de Stopare (acid 0,5 M) poate fi daunatoare daca este inghițita.
3. Nu expuneți soluția de Substrat la lumina puternica și nici la agenți oxidanți.
4. Toate deșeurile trebuie decontaminate in mod corespunzator inainte de eliminare. Aruncați in conformitate cu reglementările locale.

Va rugam sa consultați Fișa cu date de securitate a materialelor, disponibila la cerere la info@innovative-diagnostics.com, pentru informații mai detaliate.

Prepararea Probelor

Pentru a evita diferentele intre timpii de incubare ai probelor, puteti prepara o placa cu 96 de godeuri care contine probele de testat si controalele, inainte de a le transfera in microplaca ELISA, utilizand o pipeta multicanal.

Prepararea Solutiei de Spalare

Daca este necesar, aduceti Solutia de Spalare concentrata (20X) la temperatura camerei si amestecati bine pentru a va asigura ca Solutia de Spalare concentrata (20X) este complet solubilizata.

Preparati Solutia de Spalare (1X) diluand Solutia de Spalare concentrata (20X) la 1:20 in apa distilata/deionizata.

Calitatea etapei de spalare poate influența rezultatele. Asigurați-va ca godeurile sunt complet goale intre spalari. Daca se foloseste o un spalator automat, este extrem de important sa se parametrizeze corect (mod, tip de aspiratie, inaltime de aspiratie). Pentru mai multe informații, va rugam sa consultați „Ghidul de spalare IDvet”, disponibil la cerere.

Procedura de Testare

Aduceti toti reagentii la temperatura camerei ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) inainte de utilizare. Omogenizati toti reagentii prin inversare sau Vortex.

Probe de Ser si Plasma

1. Adaugati:

- 190 µl **Tampon de Dilutie 14** in fiecare godeu.
- 10 µl **Control Negativ** in godeurile A1 si B1.
- 10 µl **Control Pozitiv** in godeurile C1 si D1.
- 10 µl din fiecare proba de testat in godeurile ramase.

2. Acoperiti placa si incubati **45 min $\pm$ 4 min** la 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$)

Probe pe filtru de hartie (Whatman #1 sau #3)

1. Puneti 2 discuri de hartie de filtru ($\varnothing$ 6 mm) per animal, intr-un tub sau o placa adanca. Contactati IDvet pentru mai multe informatii.
2. Adaugati 200 μ l de **Tampon de Dilutie 14**.
3. Omogenizati prin agitare sau Vortex. Asigurati-va ca fiecare disc este complet imersat in **Tampon de Dilutie 14**. Inchideti fiecare tub.
4. Eluati **peste noapte (16 - 20 ore)** la **21°C ($\pm$ 5°C)**.
5. Omogenizati prin agitare, sau Vortex la sfarsitul elutiei.
6. Adaugati:
 - 190 μ l **Tampon de Dilutie 14** si 10 μ l **Control Negativ** in godeurile A1 si B1
 - 190 μ l **Tampon de Dilutie 14** si 10 μ l **Control Pozitiv** in godeurile C1 si D1
 - 50 μ l din fiecare eluat de proba pe hartie de filtru, in godeurile ramase.
7. Acoperiti placa si incubatie **45 min $\pm$ 4 min** la 21°C ($\pm$ 5°C).

Suc de Carne (protocol sugerat, numai pentru cercetare)

Probele de suc de carne trebuie sa fie cat se poate de curate.

La pipetare indepartati lipidele si resturile din proba.

1. Adaugati:
 - 190 μ l **Tampon de Dilutie 14** si 10 μ l **Control Negativ** in godeurile A1 si B1.
 - 190 μ l **Tampon de Dilutie 14** si 10 μ l **Control Pozitiv** in godeurile C1 si D1.
 - 50 μ l **Tampon de Dilutie 14** si 50 μ l **din fiecare proba** de testat in godeurile ramase.
2. Acoperiti placa si incubati **45 min $\pm$ 4 min** la 21°C ($\pm$ 5°C).

Etape comune pentru probele de ser, plasma, hartie de filtru sau suc de carne (RUO):

1. Goliti godeurile. Spalati fiecare godeu de 3 ori cu aproximativ 300 μ l **Solutie de Spalare**. Evitati uscarea godeurilor intre spalari.
2. Preparati **Conjugatul 1X** prin diluarea **Conjugatului Concentrat 10X** la 1:10 in **Tampon de Dilutie 3**.
3. Adaugati 100 μ l de **Conjugat 1X** in fiecare godeu.
4. Acoperiti placa si incubati **30 min $\pm$ 3 min** la 21°C ($\pm$ 5°C).
5. Goliti godeurile. Spalati fiecare godeu de 3 ori cu cel putin 300 μ l de **Solutie de Spalare**. Evitati uscarea godeurilor intre spalari.
6. Adaugati 100 μ l de **Solutie Substrat** in fiecare godeu.

7. Acoperiți placa și incubati **15 min ± 2 min** la 21°C (±5°C) la întuneric.
8. Adăugați 100 µl de **Soluție de Stopare** în fiecare godeu în aceeași ordine ca la pasul nr. 6, pentru a opri reacția.
9. Citiți și înregistrați D.O. la 450 nm.

Validarea

Testul este valid dacă:

- ✓ Media valorii DO a Controlului Pozitiv (DO_{CP}) este mai mare decât 0.350.

$$DO_{CP} > 0.350$$

- ✓ Raportul mediilor valorilor DO ale Controalelor Pozitiv și Negativ (DO_{CP} și DO_{CN}) este mai mare decât 3.

$$DO_{CP} / DO_{CN} > 3$$

Interpretarea

Pentru fiecare proba, calculați procentul S/P%:

$$S/P \% = \frac{DO_{\text{proba}} - DO_{CN}}{DO_{CP} - DO_{CN}} \times 100$$

Pentru toate tipurile de probe (ser, plasma, hartie de filtru sau suc de carne):

Rezultate	Status
S/P % ≤ 30%	NEGATIV
30% < S/P % < 40%	DUBIOS
S/P % ≥ 40%	POZITIV

Nota: Programul de analiză a datelor IDSoft™ este disponibil gratuit. Va rugăm să contactați, pentru mai multe informații, support.software@innovative-diagnostics.com.

Acest program software poate calcula mulți parametri (criterii de validare, valori S/P sau S/N, titruri, vârsta de vaccinare, grupe) și oferă o reprezentare grafică a profilurilor serologice ale animalelor testate).

**Costela
Musat**

Digitally signed
by Costela Musat
Date: 2024.12.20
09:02:02 +02'00'

Microplaci captusite	5 x (12x8)	699-010
Control Pozitiv	1 x 1 mL	399-009
Control Negativ	1 x 1 mL	39-007
Tampon de Dilutie 14	2 x 60 mL	14-201
Coniugat 10X	1 x 6 mL	499-009
Tampon de Dilutie 3	1 x 60 mL	3-103
Solutie de Spalare 20X	1 x 60 mL	15-101
Solutie Substrat	1 x 60 mL	7-017
Solutie de Stopare	1 x 60 mL	10-102

ID.vet

ASFS

Microplaci Captusite

Test in vitro



+2°



+26°

LOT

699-010



06/2026

ID.vet

ASFS

Control Pozitiv

1 mL

Test in vitro



+2°C



+8°C

LOT

399-009



06/2026

ID.vet

ASFS

Control Negativ

1 mL

Test in vitro



+2°C



+8°C

LOT

39-007



06/2026



ID.vet **Tampon de Dilutie 14**

Tampon de Dilutie 14

60 mL

Test in vitro



ID.vet **Conjugat Concentrat**

Conjugat Concentrat 10X

6 mL

Test in vitro



ID.vet **Tampon de Dilutie 3**

Tampon de Dilutie 3

60 mL

Test in vitro



ID.vet **Solutie de Spalare 20X**

Solutie de Spalare 20X

60 mL

Test in vitro



ID.vet **Solutie Substrat**

Solutie Substrat

60 mL

Test in vitro



ID.vet

Solutie de Stopare

Solutie de Stopare

60 mL

Test in vitro



