



Sistemul de management certificat



ID Screen[®]

Indirect Pestă Porcină Africană

Test de screening

ELISA indirectă pentru detecția anticorpilor anti-pestă porcină africană în ser de porcine, probe de plasmă, suc de carne și probe de sânge pe hârtie de filtru

Pentru utilizare *in vitro*

➔ Aprilie 2014: Cut-off modificat la 30-40% pentru probe de ser, plasmă și hârtie de filtru.

ASFS versiunea 1113 GB

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

NOACK

NOACK ROMANIA SRL
Ion Urdareanu 3A, Sect. 5
Bucuresti
Tel: +40 / 21 / 317 66 70
Fax: +40 / 21 / 316 66 68
www.noackgroup.com ①

Informații generale

Acest set ELISA indirectă detectează anticorpilor anti-virusul pestei porcine africane (ASFV) în probe de ser de porc, plasmă, suc de carne și sânge pe hârtie de filtru.

Descriere și principiu

Godeurile sunt căptușite cu proteine recombinante ASFV p32, p62 și p72.

Probele de testat și controalele se adaugă în microgodeuri. Anticorpilor anti-ASFV, dacă sunt prezenți, formează un complex antigen-anticorp.

După spălare, se adaugă în godeuri conjugatul anti-multi-specii cuplat cu peroxidaza din hrean (HRP). Acesta se fixează la anticorpi, formând un complex antigen-anticorp-conjugat-peroxidază.

După eliminarea excesului de conjugat prin spălare, se adaugă soluția substrat (TMB).

Colorația rezultată este proporțională cu cantitatea de anticorpi specifici prezenți în probă :

- în prezența anticorpilor, apare o soluție albastră care devine galbenă după adăugarea soluției de stopare.
- în absența anticorpilor, nu apare nici o colorație.

Microplaca se citește la 450nm.

Notă: Acest kit nu conține materiale infecțioase.

Componentele setului

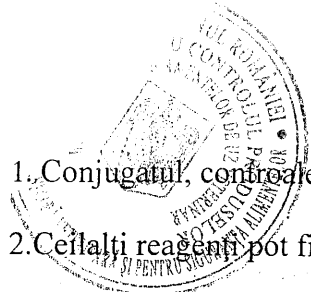
Reagenți*
Microplăci căptușite cu proteine recombinante ASFV p32, p62 și p72
Conjugat concentrat (10x)
Control pozitiv
Control negativ
Tampon de diluție 14
Tampon de diluție 3
Soluție de spălare concentrată (20x)
Soluție Substrat
Soluție de Stopare (H ₂ SO ₄ 0.5M)

*Cantitățile furnizate sunt indicate pe etichetele din set.

ASFS ver 1113 GB

NOACK

NOACK ROȘARIE S.R.L.
Ion Urdareanu 84, Sect. 5
București
Tel. +40 / 31 / 317 66 70
Fax +40 / 31 / 317 66 58
www.noack.ro

- 
1. Conjugatul, controalele și soluția substrat trebuie păstrate la 5°C ($\pm 3^\circ\text{C}$).
 2. Cei alți reagenți pot fi stocați între +2°C și +26°C.
 3. Componentele cu același nume (*soluția de spălare, tampoanele de diluție*) pot fi utilizate pentru toată gama de produse IDvet.

Materiale necesare dar nefurnizate

1. Micropipete mono sau multi-canal cu volume de 10μl, 100μl și 200μl.
2. Vârfuri de micropipetă.
3. Cititor de microplăci de 96 de godeuri.
4. Apă distilată sau deionizată.
5. Spălător manual sau automat.

Precauții

1. Nu pipetați cu gura.
2. Soluția substrat poate fi iritantă pentru piele.
3. Soluția de stopare (H_2SO_4 0.5M) poate cauza arsuri grave (**R35**). În cazul contactului cu pielea sau ochii, spălați imediat și din abundență cu apă și consultați un doctor (**S26**).
4. Nu expuneți soluția substrat la lumină sau la agenți oxidanți.
5. Toate materialele de unică folosință utilizate în această metodă trebuie decontaminate prin imersie în soluție proaspăt preparată de hipoclorit de sodiu 5% timp de minim 1 oră înainte de eliminare, sau prin autoclavare la 120°C.

Prepararea probelor

Pentru a evita diferențele între timpii de incubare ai probelor, puteți prepara o placă cu 96 de godeuri conținând probele de testat și controalele, înainte de a le transfera în microplaca ELISA utilizând o micropipetă multicanal.

Prepararea soluției de spălare

Dacă este necesar, aduceți Soluția de spălare concentrată (**20x**) la temperatura camerei și agitați ușor pentru a vă asigura că este complet solubilizată.

Preparați Soluția de spălare (**1x**) prin diluarea Soluției de spălare concentrată (**20x**) 1/20 în apă distilată /deionizată.

Procedura de testare

Aduceți toți reagenții la temperatura camerei ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) înainte de utilizare.
Omogenizați toți reagenții prin agitare sau răsturnare.

A. Probe de ser și plasmă

1. Adăugați:

- 190μl **Tampon de diluție 14** în fiecare godeu
- 10 μl **Control negativ** în godeurile A1 și B1
- 10 μl **Control pozitiv** în godeurile C1 și D1
- 10 μl din fiecare probă de testat în godeurile rămase.

2. Incubați **45 ± 4 minute** la $21^{\circ}\text{C} (\pm 5^{\circ}\text{C})$.

3. Treceți la Partea D.

B. Suc de carne

Probele de suc de carne trebuie să fie cât de curate este posibil.

Scoateți lipidele și părțile solide din probe când pipetați.

1. Adăugați:

- 190μl **Tampon de diluție 14** și 10 μl **Control negativ** în godeurile A1 și B1
- 190μl **Tampon de diluție 14** și 10 μl **Control pozitiv** în godeurile C1 și D1
- 50 μl **Tampon de diluție 14** și 50 μl din fiecare probă de testat în godeurile rămase.

2. Incubați **45 ± 4 minute** la $21^{\circ}\text{C} (\pm 5^{\circ}\text{C})$.

3. Treceți la Partea D.

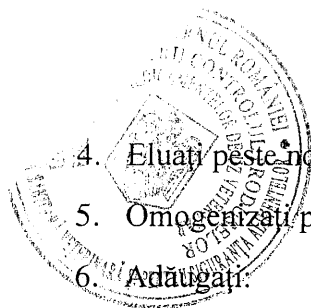
C. Probe pe hârtie de filtru (Whatman #1 sau #3)

1. Puneți 2 discuri de hârtie de filtru ($\varnothing$ 6mm) per animal într-un tub sau o placă adâncă. Contactați IDvet pentru mai multe informații.
2. Adăugați 200μl **Tampon de diluție 14**.
3. Omogenizați prin agitare sau răsturnare. Asigurați-vă că fiecare disc este complet imersat în **Tampon de diluție 14**. Închideți fiecare tub.

ASFS ver 1113 GB

NOACK

NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Urdareanu 34, Sect 5
Bucuresti
tel: +40 721 731766 70
fax: +40 721 731655 55
www.noack.ro



4. Eluați peste noapte (16-20 ore) la $21^{\circ}\text{C} (\pm 5^{\circ}\text{C})$.
5. Omogenizați prin agitare, sau răsturnare la finalul eluției.
6. Adăugați:

- 190 μl **Tampon de diluție 14** și 10 μl **Control negativ** în godeurile A1 și B1.
- 190 μl **Tampon de diluție 14** și 10 μl **Control pozitiv** în godeurile C1 și D1.
- 50 μl din fiecare eluat de probă pe hârtie de filtru în godeurile rămase.

7. Incubați 45 ± 4 minute la $21^{\circ}\text{C} (\pm 5^{\circ}\text{C})$.

8. Treceți la Partea D.

D. Etape comune pentru probele de ser, plasmă, suc de carne și hârtie de filtru:

1. Goliți godeurile. Spălați fiecare godeu de 3 ori cu aproximativ 300 μl **Soluție de spălare**. Evitați uscarea godeurilor între spălări.
2. Preparați **Conjugatul 1X** prin diluarea **conjugatului concentrat 10X** la 1/10 în **Tampon de diluție 3**.
3. Adăugați 100 μl **Conjugat 1X** în fiecare godeu.
4. Incubați 30 ± 3 minute la $21^{\circ}\text{C} (\pm 5^{\circ}\text{C})$.
5. Goliți godeurile. Spălați fiecare godeu de 3 ori cu aproximativ 300 μl **Soluție de spălare**. Evitați uscarea godeurilor între spălări.
6. Adăugați 100 μl **Soluție substrat** în fiecare godeu.
7. Incubați 15 ± 2 minute la $21^{\circ}\text{C} (\pm 5^{\circ}\text{C})$ la întuneric.
8. Adăugați 100 μl **Soluție de stopare** în fiecare godeu, pentru stoparea reacției.
9. Citiți și înregistrați D.O. la 450nm.

Validarea

Testul este validat dacă:

✓ media valorii DO a controlului pozitiv (DO_{CP}) este mai mare decât 0,350

$\text{DO}_{\text{CP}} > 0,350$

ASFS ver 1113 GB

NOACK
NOACK ROMANIA
Ion Urdușanu 24, Sector
București
Tel: +40 711 317 68 70
Fax: +40 21 316 66 68
www.noackgroup.com

✓ Raportul mediilor valorilor controalelor pozitiv și negativ (DO_{CP} și DO_{CN}) este mai mare decât 3.

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

Interpretarea

Pentru fiecare probă, calculați procentajul S/P% :

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

⇒ Pentru toate tipurile de probe (ser, plasmă, suc de carne sau hârtie de filtru):

Rezultat	Status
$S/P \% \leq 30\%$	NEGATIVE
$30\% < S/P \% < 40\%$	DUBIOASE
$S/P \% \geq 40\%$	POZITIVE

RODACK

RODACK ROMANIA S.R.L.
Ion Uribeanu 34, Sect. 5
Bucuresti
TEL +40 / 21 / 316 66 70
Fax +40 / 21 / 316 66 58
www.rodackgroup.com

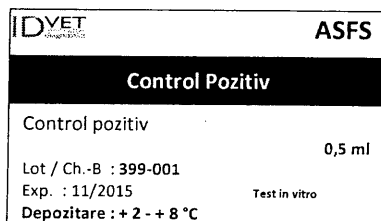
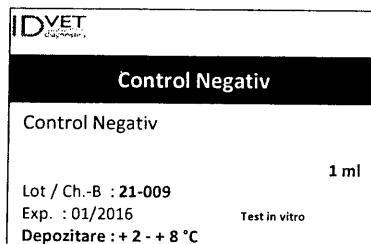
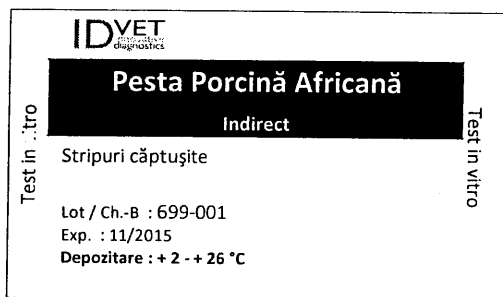
ID Screen® African Swine Fever
Indirect screening test

(TEST SCREENING)

ELISA indirectă pentru detecția anticorpilor anti-pesta porcină africană în probe de ser porcin, plasmă, suc de carne și sânge pe hârtie de filtru

Cod ASFS-4P
Instrucțiuni 1113
Lot 595
Exp 11/2015

Componente	Lot	Exp.
2 x 1 Microplăci căptușite cu proteine recombinante P32 P62 P72	699-001	11/2015
0,5 ml Control pozitiv	399-001	11/2015
1 ml Control negativ	21-009	01/2016
60 ml Tampon diluție 14	14-003	06/2016
6 ml Conjugat concentrat 10X	499-001	11/2015
60 ml Tampon diluție 3	3-008	12/2015
60 ml Soluție spălare concentrată 20X	15-004	01/2019
60 ml Soluție substrat	7-011	01/2016
60 ml Soluție stopare	10-004	05/2016



NOACK
NOACK ROMANIA S.R.L.
Ion Udărenu 44 / Sect. 5
București
Tel: +40 / 21 / 317 66 70
Fax: +40 / 21 / 316 66 58
www.noackgroup.com

IDVET diagnostics		ASFS
Conjugat concentrat		
Conjugat concentrat		6 ml (10X)
Lot / Ch.-B : 499-001 Exp. : 11/2015 Depozitare : + 2 - + 8 °C		Test in vitro

IDVET diagnostics		
Tampon de diluție 14		
Tampon de diluție 14		60 ml
Lot / Ch.-B : 14-003 Exp. : 06/2016 Depozitare : + 2 - + 26 °C		Test in vitro

IDVET diagnostics		
Tampon de diluție 3		
Tampon de diluție 3		60 ml
Lot / Ch.-B : 3-008 Exp. : 12/2015 Depozitare : + 2 - + 26 °C		Test in vitro

IDVET diagnostics		
Soluție de spălare 20 X		
Soluție de spălare 20X		60 ml
Lot / Ch.-B : 15-004 Exp. : 12/2015 Depozitare : + 2 - + 26 °C		Test in vitro

IDVET diagnostics		
Soluție Substrat		
Soluție substrat		60 ml
Lot / Ch.-B : 7-011 Exp. : 01/2016 Depozitare : + 2 - + 8 °C		Test in vitro

IDVET diagnostics		
Soluție Stopare		
Soluție stopare		60 ml
Lot / Ch.-B : 10-004 Exp. : 05/2016 Depozitare : + 2 - + 26 °C		Test in vitro

NOACK
 NOACK ROMANIA S.R.L.
 Ion Ureanu nr. 24, Sect. 5
 Bucuresti
 Tel : +40 / 01 / 317 66 70
 Fax : +40 / 01 / 315 66 58
 www.noackrom.com ①