

Kit pentru determinarea anticorpilor anti virusul sindromului respirator si reproductiv porcine

Denumirea si Scopul utilizarii

Kitul IDEXX PRRS X3 este un test imunoenzimatic pentru detectia anticorpilor anti-virusului Sindromului Respirator si de Reproductie la Suine (PRRSV) in probe de ser si plasma de la suine.

Informatii Generale

Virusul Sindromului Respirator si de Reproductie la Suine, este un arterivirus care a fost pentru prima data identificat in Europa si Statele Unite in 1980, avand tulpini distincte cu variabilitate antigenica. Virusul determina tulburari de reproductie (avort, produsi neviabili, morbiditate la femele), tulburari respiratorii (pneumonie, dificultati respiratorii, performante scazute si moarte) si tulburari neurologice de intensitate medie. PRRS este considerata o boala ce determina pierderi economice semnificative in industria cresterii suinelor. O evaluare a expunerii la acest virus atat in cazul infectiei naturale cat si postvaccinal se poate face prin masurarea anticorpilor din ser sau plasma. Este important ca metoda imunoenzimatica ce determina anticorpilor sa fie sensibila fata de diferitele tulpini ale acestui virus. Acest kit se foloseste doar pentru diagnosticul *in-vitro*.

Descriere si Principii

IDEXX PRRS X3 este un test bazat pe metoda imunoenzimatica, ce identifica prezenta anticorpilor anti PRRSV in probe de ser sau plasma de la suine. A fost conceput un format de placa de microtitrare captusita cu antigene PRRSV recombinante. Dupa incubarea probei pe placa captusita, anticorpilor specifici pentru PRRSV formeaza un complex cu antigenele ce captureaza placa de reactie. Dupa etapele de spalare, materialele nelegate sunt indepartate, apoi se adauga un conjugat anti-suin marcat cu peroxidaza ce se va lega la anticorpilor legati in godeuri. Conjugatul nelegat este indepartat in etapa de spalare iar in etapa urmatoare se va adauga substratul TMB. Culoarea ce se va dezvolta este direct proportionala cu cantitatea de anticorpi specifici anti - PRRSV prezenti in proba.

Reagenti

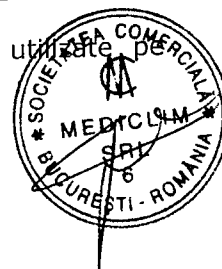
Conservarea tuturor reagentilor se face la 2-8°C

Reagenti

Volume

		2	5
1	Placi captusite cu antigen recombinat PRRSV		
2	Control Pozitiv	3 ml	4 ml
3	Control Negativ	3 ml	4 ml
4	Conjugat	25 ml	60 ml
5	Diluant Probe	50 ml	120 ml
A	Substrat TMB	20 ml	60 ml
B	Solutie Stopare	20 ml	60 ml
C	Solutie de Spalare concentrata (x10)	125 ml	235 ml
Alte componente: pungi cu sistem de inchidere		1	1

Nota: vezi tabelul de la pag.37 pentru descrierea simbolurilor internationale utilizate pe etichetele componentelor.



Materiale necesare dar nefurnizate in kit

- Pipete automate monocanal si multicanal cu volume de 5µl pana la 1000µl (volumele reagentilor listati in „Protocolul de lucru” necesita pipete de precizie mai mica sau egala cu 5%)
- Vârfuri de pipeta de unica folosinta
- Cilindrii gradati de 500ml pentru solutia de spalare
- Cititor de microplaci cu 96 de godeuri echipat cu filtru de 650 nm
- Apa distilata sau deionizata
- Dispozitiv de aspirare si pipetare a solutiei de spalare
- Recipient pentru dezinfectant si pentru solutia aspirata
- Tuburi pentru dilutia probelor

Precauții si avertismente pentru utilizatori

- Manipulati toate materialele biologice avand in vedere potentialul infectios al acestora.
- Nu pipetati cu gura.
- Nu mâncați, beți sau fumați atunci când manipulați reagentii.
- Solutia substrat este iritanta pentru ochi, sistemul respirator si piele. Evitati contactul cu pielea si ochii.
- Purtati manusi de protectie/ echipament de protectie/ ochelari de protectie/masca de protectie.
- Nu expuneti solutia TMB la lumina puternica sau la agenti oxidanti. Manevrati solutia TMB utilizand sticlaria sau recipiente de plastic curate
- Reagentii se conserva la 2-8° C. Acestia se aduc la temperatura camerei înainte de folosire si după utilizare se readuc la 2-8° C.
- Toate reziduurile se neutralizeaza inainte de a fi eliminate. Eliminati continutul in concordanta cu reglementarile locale, regionale si nationale.
- O atentie deosebita trebuie acordata prevenirii contaminarii componentelor kitului.
- Nu utilizati componente ale kitului care au expirat si nu utilizati componente din kituri diferite.
- Rezultate optime se obtin daca se urmeaza protocolul de testare cu strictete. Pipetarea atenta, timpii de lucru si etapele de spalare se vor urma cu strictete pentru a se pastra acuratetea si precizia testului.
- Cele doua controale trebuiesc folosite pentru fiecare serie testata.
- Folositi doar apa distilata sau deionizata pentru prepararea reagentilor utilizati in test.
- Godeurile de microtitrare nefolosite trebuiesc pastrate sigilate in interiorul pungii de plastic la 2-8°C.
- Acest kit este exclusiv de uz veterinar.

Prepararea reagentilor

Solutia de Spalare

Determinati cantitatea de Solutie de Spalare necesara pentru spalarea microplacilor. Solutia de spalare concentrata (10X) trebuie diluata de 10 ori (1/10) cu apa distilata/ deionizata inainte de utilizare (o parte concentrat si 9 parti apa, de exemplu : 30ml solutie de spalare concentrata (10x) cu 270ml de apa distilata /deionizata).

Cand se prepara in conditii sterile (apa sterila si flacoane sau containere sterile) aceasta solutie poate fi utilizata timp de 7 zile daca este pastrata la 2-8°C.

Prepararea probelor

Diluati proba 1:40 cu Diluant pentru Proba (ex: 5 µl Proba cu 195 µl din Diluantul pentru Proba).

Nota: **Nu diluati controalele.**



Schimbați vârful pentru fiecare proba în parte și înregistrați poziția fiecărei probe pe microplacă folosind fișa de lucru. Probele trebuie omogenizate înainte de a fi distribuite pe placă de microtitrare captusită cu antigen viral PRRS.

Protocol de testare

Toți reagentii se aduc la temperatura camerei înainte de utilizare (18-26 °C) apoi se omogenizează înainte de utilizare prin agitare manuală ușoară sau pe un agitator la o viteză mică. Se va utiliza un varf de pipetă de unică folosință pentru fiecare probă.

1. Scoateți microplăcile căptușite cu antigen și înregistrați poziția fiecărei probe în fișa de lucru
2. Pipetați 100 μl de control negativ nediluat în 2 godeuri
3. Pipetați 100 μl de pozitiv control nediluat în 2 godeuri
4. Pipetați 100 μl din probă diluată în restul godeurilor
5. Incubați pentru 30 de minute (± 2 minute) la 18-26 °C
6. Aspirati conținutul godeurilor într-un recipient special de reziduuri
7. Fiecare godeu se spală cu aproximativ 300 μl de soluție de spălare de 3-5 ori. Lichidul din godeuri se aspiră după fiecare spălare. Evitați uscarea plăcii între etapele de spălare și înainte de adăugarea conjugatului. După ultima aspirare a lichidului din godeuri, placă de microtitrare se scutură pe un material absorbant pentru îndepărtarea urmelor de lichid ce ar mai putea fi în godeuri.
8. Se adaugă 100 μl de Conjugat în fiecare godeu
9. Se incubează 30 minute (± 2 minute) la 18-26 °C
10. Se repetă etapele 6 și 7
11. Se adaugă 100 μl de soluție substrat TMB în fiecare godeu
12. Se incubează 15 minute (± 1 minut) la 18-26 °C
13. Se adaugă 100 μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu pentru a stopa reacția
14. Se măsoară și se înregistrează absorbanta A(650) a probelor și a controalelor
15. Calcularea rezultatelor

Rezultatele

Pentru ca testarea să fie validată trebuie respectate următoarele specificații:

Diferența dintre Media controlului pozitiv și Media controlului negativ (PCx-NCx) trebuie să fie mai mare sau egală cu 0.150. Adicional, media controlului negativ (NCx) trebuie să fie mai mică sau egală cu 0.150. Pentru teste invalide, metoda de lucru poate fi suspectată, iar procedeul se va repeta urmărind cu acuratețe prospectul kitului. Prezența sau absența anticorpilor anti PRRSV se determină prin calcularea raportului probă (S)- Pozitiv (P) (S/P). Pentru exemple cautați la secțiunea Calcule.

NOTA : IDEXX detine echipamente și software-ul pentru calcularea mediilor, raportului Proba/Pozitiv pentru a oferi rezultate finale.

Calcule

Calculul mediei controlului Negativ (NCx)

$$NCx = \frac{NC1 A(650) + NC2(650)}{2}$$

$$\text{Exemplu: } \frac{0.064 + 0.08}{2} = 0.072$$



Calculul mediei controlului Pozitiv, (PCx)

$$PCx = \frac{PC1 A(650) + PC1 A(650)}{2}$$

$$\text{Exemplu : } \frac{0.560 + 0.596}{2} = 0.578$$

Calculul pentru probele testului

$$S/P = \frac{\text{PROBA } A(650) - NCx}{(PCx - NCx)}$$

$$\text{Daca Proba la } A(650) = 0.750$$

$$S/P = \frac{(0.750 - 0.072)}{(0.578 - 0.072)} = 1.34$$

Interpretarea rezultatelor

Prezenta sau absenta anticorpilor anti PRRV se determina prin calcularea raportului S/P pentru fiecare proba.

1. Daca raportul S/P este **mai mic de 0,40**, proba se considera **NEGATIVA** pentru anticorpi anti PRRSV.

2. Daca raportul S/P este **mai mare sau egal cu 0,40**, proba se considera **POZITIVA** pentru anticorpi anti PRRSV.

Avand in vedere studiile efectuate de IDEXX putem publica valorile relative ale sensibilitatii si specificitatii cu un interval de incredere (CL) de 95% pentru detectia anticorpilor in proba, utilizand acest kit.

Sensibilitatea si specificitatea relativa a kitului IDEXX PRRS X3							
Utilizand probe pozitive si negative caracterizate							
STUDIU ID	MARIMEA PROBEI KIT/REFERINTA				TIP PROBA	SENSIBILITATE SI SPECIFICITATE RELATIVA LIMITA DE INCREDERE 95%	Kappa Statis.
	+/+	-/+	+/-	-/-	SER		
1	1029	13	1	1446		Sens.98,8% (95% CL97,8%-99,3%) Spec. 99,9% (95%CL99,6%-100%)	0,99
1.Probele pozitive sunt obtinute de la animale infectate experimental si de la animale infectate natural identificate prin : date anamnetice, rezultate PRR S2XR si/sau IFA. Probele negative sunt obtinute de la efective cunoscute ca fiind indemne.							

Referinte

1. J.Zimmerman si K-J Yoon Editors , THE PRRS COMPEDIUM (SECOND ED) NATIONAL PORK BOARD, DES MOINES, IA (2003)

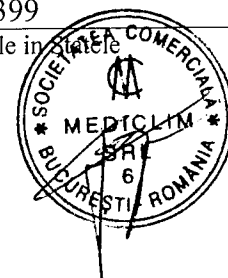


PROCEDURA DE LUCRU - REZUMAT

IDEXX recomanda sa fie citite instructiunile de lucru cu mare atentie inainte de a efectua acest test pentru prima data.

ETAPA	ACTIUNE
1. PREPARAREA REAGENTILOR	Determinati cantitatea de Solutie de Spalare necesara pentru spalarea microplacilor. Soluția de spalare concentrata (10X) trebuie diluata de 10 ori (1/10) cu apa distilata/ deionizata inainte de utilizate (1 parte concentrat si 9 parti apa, de exemplu : 30ml solutie de spalare concentrata (10x) cu 270ml de apa distilata /deionizata).
2. PREPARAREA PROBELOR	Diluati proba 1:40 cu Diluant pentru Proba (ex: 5 µl Proba cu 195 µl din Diluantul pentru Proba).
3. DISTRIBUIREA PROBELOR	Se pipeteaza 100 µl de CONTROL NEGATIV NEDILUAT in 2 godeuri. Se pipeteza 100 µl de CONTROL POZITIV in 2 godeuri. Se pipeteaza cate 100 µl de proba in godeurile ramase
4. INCUBAREA PROBELOR	Se incubeaza 30 de minute (± 2 minute) la 18-26°C.
5. SPALAREA PLACII	Aspirati continutul godeurilor intr-un recipient special de reziduuri. Fiecare godeu se spala cu aproximativ 300 µl de solutie de spalare de 3-5 ori. Lichidul din godeuri se aspira dupa fiecare spalare. Evitati uscarea placii intre etapele de spalare si inainte de adaugarea conjugatului. Dupa ultima aspirare a lichidului din godeuri, placa de microtitrare se scutura pe un material absorbant pentru indepartarea urmelor de lichid din placa.
6. ADAUGAREA CONJUGATULUI	Se adauga 100 µl Conjugat in fiecare godeu.
7. INCUBAREA PLACII CU CONJUGAT	Se incubeaza 30 de minute (± 2 minute) la 18-26°C.
8. REPETAREA ETAPEI 5	
9. ADAUGAREA SUBSTRATULUI	Se pipeteaza 100 µl de solutie substrat TMB in fiecare godeu.
10. INCUBAREA PLACII CU SUBSTRAT	Se incubeaza 15 de minute (± 1 minut) la 18-26°C
11. STOPAREA REACTIEI	Se adauga 100 µl de Solutie de Stopare in fiecare godeu pentru a stopa reactia.
12. CITIREA PLACII	Se masoara si se inregistreaza citirea probelor respectiv al controalelor la A(650). Se calculeaza rezultatele.
13. INTERPRETARE	Daca raportul S/P este mai mic de 0,40 proba se considera NEGATIVA pentru anticorpi anti PRRSV. Daca raportul S/P este mai mare sau egal cu 0,40 proba se considera POZITIVA pentru anticorpi anti PRRSV.
PRODUS DE IDEXX SWITZERLAND AG STATIONSTRASSE 12 3097 LIEBENFELD BERN SWITZERLAND	SUPORT TEHNIC CONTACTATI DISTRIBUTORUL LOCAL IDEXX SAU VIZITATI WWW.IDEXX.COM/PRODUCTION/CONTACT IDEXX TECHNICAL SUPPORT:00-800-727-43399

*IDEXX si test with Confidence sunt marci inregistrate ale IDEXX laboratories, Inc. Sau ale afiliatelor sale in Statele Unite si /sau alte state.



1	Placă căptușită cu antigen PRRSV	IDEXX
IDEXX PRRS X3		LOT
1 x 96 godeuri		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD	i	PC
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebfeld-Bern		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-40950-01		49-40950

99-40959
IDEXX PRRS X3

2	CONTROL +	IDEXX
IDEXX PRRS X3		LOT
4,0 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD	i	PC
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebfeld-Bern		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-40951-01		44-40952

3	CONTROL -	IDEXX
IDEXX PRRS X3		LOT
4,0 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD	i	PC
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebfeld-Bern		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-40952-01		44-40952

4	Conjugat	IDEXX
IDEXX PRRS X3		LOT
60 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD	i	PC
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12CH		3097 Liebfeld-Bern
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130		EK Hoofddorp, Olanda
04-40953-01		42-40953

5	Diluant Probe	IDEXX
IDEXX PRRS X3		LOT
120 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD	i	PC
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12CH		3097 Liebfeld-Bern
IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130		EK Hoofddorp, Olanda
04-40954-01		45-40954

A	Substrat TMB	IDEXX
		LOT
60 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD	i	PC
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebfeld-Bern		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
04-42783-01		45-42783



B	Soluție de stopare	IDEXX
60 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebfeld-Bern 04-40594-01		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 40-40594

C	Soluție de spălare concentrată (10x)	IDEXX
235 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebfeld-Bern 04-40590-01		IDEXX Europe U.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 40-40590



1	Placă câptușită cu antigen PRRSV	IDEXX
IDEXX PRRS X3		LOT
1 x 96 godeuri		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		PC/PC
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern 04-40950-01		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 49-40950

99-41289
IDEXX PRRS X3 2PL

2	CONTROL +	IDEXX
IDEXX PRRS X3		LOT
3,0 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		PC/PC Nr.: FLI-B 504
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 04-41281-00		44-41281

3	CONTROL -	IDEXX
IDEXX PRRS X3		LOT
3,0 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		PC/PC Nr.: FLI-B 504
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 04-41282-00		44-41282

4	Conjugat	IDEXX
IDEXX PRRS X3		LOT
25 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		PC/PC Nr.: FLI-B 504
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12 CH IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 04-41283-00		3097 Liebefeld-Bern EK Hoofddorp, Olanda 42-41283

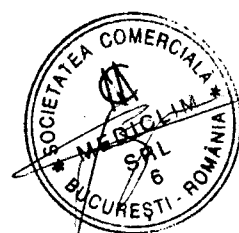
5	Diluant Probe	IDEXX
IDEXX PRRS X3		LOT
50 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		PC/PC Nr.: FLI-B 504
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12 CH IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 04-41284-00		3097 Liebefeld-Bern EK Hoofddorp, Olanda 45-41284

A	Substrat TMB	IDEXX
IDEXX PRRS X3		LOT
20 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
IVD		PC/PC Zul.-Nr.: FLI-B 504
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern 04-42797-02		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 45-42797

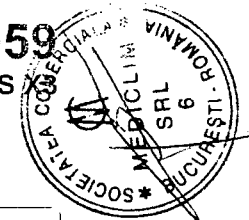


B	Soluție de stopare	IDEXX
IDEXX PRRS X3		LOT
20 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	PC
	i	Zul.-Nr.: FLI-B 504
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebfeld-Bern 04-41287-00	IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 46-41287	

C	Soluție de spălare concentrată (10x)	IDEXX
IDEXX PRRS X3		LOT
125 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	PC
	i	Zul.-Nr.: FLI-B 504
IDEXX Elvetia AG, Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebfeld-Bern 04-41287-00	IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda 46-41287	



99-40959
IDEXX PRRS X3



Kit pentru determinare
anticorpi anti Virusul
Sindromului Respirator
si de Reproductie la
Suine

IDEXX PRRS X3

5 x 96 godeuri

REF

LOT | SN



IDEXX PRRS X3

Utilizati cu ser sau plasma de la suine.

Nota: Doar pentru uz veterinar.

Reagenti	Volum
1. Placi capsi/a cu antigen PRRSV	5
2. Control Pozitiv	1 x 4.0 mL
3. Control Negativ	1 x 4.0 mL
4. Conjugat	1 x 60 mL
5. Diluant Probe	1 x 120 mL
A. Substrat TMB	1 x 60 mL
B. Solutie de Stopare	1 x 60 mL
C. Solutie de spalare concentrata (10X)	1 x 235 mL

LOT

IDEXX



EC REP

IVD

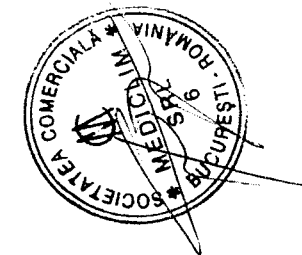


IDEXX Elvelia AG
Säulmattstrasse 12, CH-3097 Liebfeld-Bern
Tel: +41 31 9705280
Fax: +41 31 9706279

IDEXX Europa B.V.
P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
Tel: 08800 727 4359
Fax: 08800 727 90329

6°C

04-40959-01



Kit pentru determinare anticorpi anti Virusul Sindromului Respirator si de Reproductie la Suine

IDEXX PRRS X3

2 x 96 Godeuri

REF



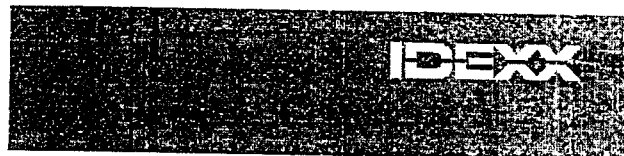
LOT SN

IDEXX PRRS X3

Utilizati cu ser sau plasma de la suine.

Nota: Doar pentru uz veterinar.

Reagenti	Volum
1 Placi captusite cu antigen PRRSV	2
2 Control Pozitiv	1 x 3.0 mL
3 Control Negativ	1 x 3.0 mL
4 Conjugat	1 x 25 mL
5 Diluant probe	1 x 50 mL
A Substrat TMB	1 x 20 mL
B Solutie de Stopare	1 x 20 mL
C (10X)	1 x 125 mL



IDEXX Elvetia AG
Stationsstrasse 12, CH-3097 Liebefeld-Bern
Tel: +41 31 9706260
Fax: +41 31 9706279

EC REP

IDEXX Europa B.V.
P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda
Tel: 09800 727 43399
Fax: 00800 433 99329

IVD

