

PrioCHECK® CSFV Ab 2.0

ELISA pentru detectia *in vitro* a anticorpilor anti Virus Febra Porcina Clasica în ser și plasmă la porci

Kit cu 5 plăci pentru 450 de probe
©Prionics AG
Versiunea 1.0_e

Introducere

Virusul Febrei Porcine Clasice (PPC, cunoscută și sub denumirea de holera porcilor) este membru al genului pestivirus (împreună cu Virusul Diareei Virale Bovine și Virusul Maladiei Border) din familia Flaviridae. PPC este o boală virală contagioasă a porcilor, declarabilă (lista A a OIE) și izbucnirile acestora duc la pierderi economice importante în țările crescătoare de porcine. O detecție rapidă a porcilor infectați este esențială în prevenirea răspândirii virusului și în controlul bolii. Virusul PPC este înrudit cu pestivirusurile care produc diareea virală bovină și maladia Border. Reacții încrucișate între anticorpii împotriva BVDV sau BD pot genera rezultate ELISA fals pozitive mai ales în cadrul fermelor de porci care sunt aproape de ferme în al căror efectiv există BVDV sau BD. Pentru a prevenii apariția rezultatelor fals pozitive PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 detectează anticorpii anti domeniu A a proteinei E2 a virusului PPC. PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 detectează anticorpii împotriva tulpinilor înalt-, moderat-, și slab virulente ale virusului PPC imediat după infectare. Detecția anticorpilor împotriva tulpinilor slab virulente a virusului PPC este de o importanță mare în urmărirea infecțiilor subclinice cu virusul PPC. PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 combină o procedură de testare simplă și convenabilă cu o specificitate și sensibilitate crescută. Prezentarea actuală permite folosirea ușoară pe sistemele ELISA automate. PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 este potrivit pentru testarea pe scară largă.

Principiul testului

Reactivul cheie folosit în PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 este anticorpii monoclonal (mAb) direcționat împotriva unui epitop localizat pe domeniul A al proteinei E2 (GP-55) al virusului PPC. Domeniul A este ales deoarece acest domeniu antigenic este mult mai specific pentru PPC decât domeniile B, C și D ale E2. Proba și diluantul pentru proba sunt repartizate în godeurile plăcii de testare și incubate la 37±1°C. După aceea, placa este spălată și mAb HRP0 este repartizat în toate godeurile plăcii test. După ce placa este spălată Substratul cromogen (TMB) este dispersat peste godeurile plăcii de testare. După incubarea la 22±3°C reacția de culoare este stopată. Reacția de culoare dezvoltată este măsurată optic la lungimea de undă de 450 nm și arată prezența anticorpilor antivirului PPC.

Componentele kitului

A se depozita kit-ul la 5±3°C până la data expirării. A se vedea etichetă kitului pentru valabilitate. Stabilitatea componentelor diluate, deschise sau reconstituite este notată mai jos, unde este cazul. Datele privitoare la riscul chimic sunt disponibile în secțiunea "Măsur de siguranță și Declarații R&S" – Appendix II.

Componenta 1 Placa test

Cinci plăci test livrate în pungi cu saculeți desicanti.

Componenta 2 Conjugatul (30x)

(În concentrație de 30x, a se dilua înainte de folosire)
O fiolă conține 2,5 ml Conjugat.
Conjugatul diluat nu este stabil, a se prepara chiar înainte de folosire.

† Denumirea E1 pentru proteina capsulară "GP-55" a CSFV a fost schimbată în E2 de către Comitetul pentru Taxonomia Virusurilor (Australia, septembrie, 1995).

INSTRUCIUNI DE FOLOSIRE

Componenta 3

Diluant conjugat (gata de folosire)

O fiolă conține 60 ml Soluție tampon pentru diluare

Componenta 4

Lichid de spălare (200x)

(200x concentrat, se diluează înainte de folosire). O fiolă conține 60 ml Lichid de spălare.

Stabilitate: soluție de spălare: 1 săptămână la 22±3°C

Componenta 5 (gata de folosire)

Diluant proba

Două fiole, fiecare conține 11.0 ml diluant proba.

Componenta 6

Control pozitiv (gata de folosire)

O fiolă conține 2.2 ml control pozitiv

Componenta 7

Control slab pozitiv (gata de folosire)

O fiolă conține 2.2 ml control slab pozitiv

Componenta 8

Control negativ (gata de folosire)

O fiolă conține 2.2 ml control negativ.

Componenta 9

Substrat cromogen (TMB) (gata de folosire)

O fiolă conține 60 ml Substrat cromogen (TMB)

Componenta 10

Soluție de stopare (gata de folosire)

Un flacon conține 60 ml Soluție de stopare

Componente adiționale kit-ului

- Instrucțiunile de folosire
- 10 folii pentru sigilare plăcilor
- Certificat de Analiză

Material adițional necesare

Generale:

Echipamente de laborator conform măsurilor de siguranță raționale

Incubare

Incubator pentru microplăci (care să atingă cel puțin 50°C)

Analiza rezultatelor:

Cititor de plăci ex. Multiscan EX sau echivalent. Cititorul trebuie să dispună de un filtru adecvat care să citească plăci la 450 nm.

Opțional:

Spălător pentru plăci ex. Tecan EIA sau echivalent.

Proceduri de testare

Precauțiuni

Trebuie strict măsurile naționale impuse pentru lucrul cu probe de natură animală. Testul PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 trebuie realizat în laboratoare specializate în acest scop.

Probele trebuie considerate drept potențial infecțioase și toate articolele care vin în contact cu probele trebuie considerate ca potențial contaminate.

Strict pentru diagnostic veterinar *in-vitro*
A se depozita la 5±3°C
Nr. produs: 7610600

Datele privitoare la riscul chimic sunt disponibile în secțiunea "Măsur de siguranță și Declarații R&S" – Appendix II.

Note:

Pentru a atinge rezultatele optime cu PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 trebuie luate în considerare următoarele aspecte:

- **Procedul de testare trebuie urmat strict.**
- Toți reactivii trebuie aduși la temperatura camerei (22±3°C) înainte de folosire
- Vârful pipetelor trebuie schimbate după fiecare pas de pipetare
- Trebuie folosiți recipienti diferiți pentru fiecare soluție.
- Componentele kit-ului nu trebuie folosite după data expirării sau dacă se observă modificări.
- Componente din loturi diferite nu trebuie utilizate împreună.
- Trebuie folosită apă demineralizată sau de calitate asemănătoare

Soluțiile de pregătit înainte

Diluarea conjugatului

Se diluează conjugatul (30x) (Componenta 2) 1/30 cu Soluție tampon de diluare (Componenta 3); de ex. pentru o placă se prepară 12 ml (se adaugă 0.4 ml Conjugat (30x) la 11.6 ml de Soluție tampon de diluare).

Notă: Conjugatul diluat trebuie preparat chiar înainte de folosire.

Soluția de spălare

Lichidul de spălare (200x) (Componenta 4) trebuie diluat 1/200 cu apă demineralizată și este suficient pentru un volum final de 12 litri de soluție de spălare

Soluția de spălare poate fi depozitată o săptămână la 22±3°C

Observație: O spălare inadecvată a plăcii de testare poate duce la un fond intens. Este de preferat un sistem automat de spălare față de spălare cu ajutorul pipetei multicanal (dar nu obligatoriu) sau față de introducerea plăcii în soluția de spălare. Pentru toate metodele nu este obligatorie umplerea plăcii între spălări. Un volum minim de 200 μl per godeu este necesar pentru o spălare adecvată a plăcii.

Incubarea serului, conjugatului și antigenului

- 1.1 Se repartizează 20 μl din Componenta 5 în toate godeurile plăcii de testare (Componenta 1)
- 1.2 Se repartizează 80 μl din Controlul negativ (Componenta 8) în godeurile A1 și B1.
- 1.3 Se repartizează 80 μl DI Control slab pozitiv (Componenta 7) în godeurile C1 și D1.
- 1.4 Se repartizează 80 μl din Control pozitiv (Componenta 6) în godeurile E1 și F1.
- 1.5 Se repartizează 80 μl de probă într-una (test simplu) sau două (test duplicat) din godeurile adiacente ale plăcii test.
- 1.6 Se acoperă placa.
- 1.7 Se agită placa ușor.
- 1.8 Se incubează placa timp de 60±5 minute la 37±1°C.

Incubarea cu CONJUGATUL

- 2.1 Se golește placa și se spală de 6 ori cu 200 – 300 μl soluție de spălare. Se scutură bine placa după ultima spălare.
- 2.2 Se repartizează 100 μl din Conjugatul diluat în toate godeurile.
- 2.3 Se sigilează placa
- 2.4 Se incubează placa 30±1 minute la 37±1°C



Appendix III

Referințe

- 1) Holm Jensen, M. Acta Vet. Scand. 22:85-98, 1981.
- 2) Wensvoort, G., Bloemraad, M. Si Terpstra, C. Vet. Microb. 17, 129-140, 1988.
- 3) Wensvoort, G. J. Gen. Virol. 70, 2865-2876, 1989.
- 4) Wensvoort, G., Boonstra, J. Si Bodzinga, B. G. J. Gen. Virol. 71, 531-540, 1990.
- 5) Colijn, E., Bloemraad, M. Si Wensvoort G. Vet. Microbiol. 59, 15-25, 1997.

Contact

Prionics Lelystad B.V.
Platinastraat 33
P.O. Box 2271
NL-8203 AG Lelystad
Olanda
Tel.: +31 320 714 000
Fax: +31 320 214 379

Prionics AG
Wagistrasse 27a
CH-8952 Schlieren-Zurich
Switzerland
Tel. +41 44 200 2000
Fax +41 44 200 2010
www.prionics.com
info@prionics.com

For our distribution network, please refer to
www.prionics.com

Incubarea cu substratul cromogen (TMB)

- 3.1 Se golește placa și se spală de 6 ori cu 200 – 300 μ l soluție de spălare. Se scutură bine placa după ultima spălare.
- 3.2 Se repartizează 100 μ l din Substratul Cromogen (TMB) în toate godeurile.
- 3.3 Se incubează placa 20 minute la $22 \pm 3^\circ\text{C}$.
- 3.4 Se repartizează 100 μ l din Soluția de stopare în toate godeurile.
- 3.5 Se amesteca conținutul godeurilor prin pipetare

Notă: Se începe adăugarea Soluției de stopare la 20 după ce primul godeu a fost umplut cu Substratul cromogen (TMB). Se adaugă Soluția de stopare în aceeași ordine și în același loc în care a fost pus Substratul cromogen (TMB).

Citirea și calcularea rezultatelor

- 4.1 Se măsoară densitatea optică (OD) a godeurilor la 450 nm de preferință în 15 min după ce dezvoltarea culorii a fost oprită.
- 4.2 Se calculează DO_{450} medie a controlului negativ (godeu A1 si B1). Aceasta este val. Max. a DO_{450}
- 4.3 Calculați procentul de blocare (PI) al Controlului Slab Pozitiv, Controlului Pozitiv si al probelor conform formulei de mai jos.

DO_{450} corectă a tuturor probelor este exprimată ca și procent inhibitor (PI) corelat DO_{450} max

$$PI = 100 - \left[\frac{DO_{450} \text{ a probei}}{DO_{450} \text{ max}} \right] \times 100$$

Interpretarea rezultatelor

Criteriile de validare

- 5.1 Valoarea medie a DO_{450} a Controlului Negativ trebuie să fie >1.0
- 5.2 Procentul de blocare al Controlului Slab Pozitiv trebuie să fie $>50\%$
- 5.3 Procentul de blocare al Controlului Pozitiv trebuie să fie $>80\%$
- 5.4 Neîndeplinirea acestor criterii este motiv pentru a anula rezultatele acelei plăci test.

Notă:

- Dacă DO_{450} a unei probe este mai mare decât DO_{450} max , procentul inhibitor poate fi interpretat ca 0%.
- Dacă valoarea medie DO_{450} a Controlului Negativ este sub 1.000 este posibil ca substratul cromogen să fie prea rece. În acest caz preîncălziți soluția la $23 \pm 3^\circ\text{C}$ sau incubați până la 30 min.
- Dacă valoarea medie DO_{450} a Controlului Negativ este peste 2000 este recomandată o perioadă mai scurtă de incubare cu substratul cromogen.

Interpretarea procentului de blocare

$PI = <40\%$ (negativ)
Anticorpii specifici PPC sunt absenți în probă.

$PI \geq 40\%$ (pozitiv)
Anticorpii specifici PPC sunt prezenți în probă.

Appendix I

Avizare

Acest manual este considerat ca fiind complet și exact la timpul publicării. Prionics AG nu se face răspunzătoare de deteriorările ca urmare a folosirii acestui manual.

Răspunderea

Prionics AG garantează că produsele îndeplinesc specificațiile publicate atunci când sunt folosite conform instrucțiunilor date și în termenul de valabilitate declarat. Prionics AG nu oferă alte garanții, exprimate sau subînțelese. Nu există garanții pentru vânzarea sau distribuția în scopuri particulare. Garanția oferită în acest manual precum și datele, specificațiile sau descrierile produselor companiei Prionics AG se

regăsesc în cataloagele publicate de companie și literatura aferentă produselor nu poate fi schimbată cu excepția acordului scris și semnat de către un reprezentant al Prionics AG. Relațiile, scrisă sau verbală, a unei incompatibilități care nu este acoperită de către garanție sau care nu apare în publicațiile companiei nu este luată în calcul.

În cazul apariției unei probleme anterioare garanției, Prionics AG se obligă să repare sau să înlocuiască produsul, opțional, sau părți din acesta sesizate prin notificarea Prionics AG de către client. Dacă Prionics AG, în urma unor eforturi rezonabile, nu reușește să remedieze sau să înlocuiască produsul, se returnează banii clientului.

Prionics AG nu este responsabilă de pagubele sau incidentele precum și de pierderile economice susținute de clienți în urma folosirii produselor companiei.

Prionics AG și Prionics Lelystad B.V. sunt companii certificate ISO 9001:2000.

Appendix II

Măsurile de siguranță și declarații de R&S

Măsurile de siguranță naționale trebuie strict.

Declarații R&S

Componenta 1

Placa de testare

Codul de risc : acest produs nu este clasificat conform reglementărilor UE

Componenta 2

Conjugatul (30x)

Codul de risc : acest produs nu este clasificat conform reglementărilor UE

Componenta 3

Soluția tampon pentru diluare (gata de folosire)

Codul de risc : acest produs nu este clasificat conform reglementărilor UE

Componenta 4

Lichid de spălare (200x)

Codul de risc : acest produs nu este clasificat conform reglementărilor UE

Componenta 5

Diluant proba

Codul de risc : acest produs nu este clasificat conform reglementărilor UE

Componenta 6

Control pozitiv

Codul de risc : acest produs nu este clasificat conform reglementărilor UE

Componenta 7

Control slab pozitiv

Codul de risc : acest produs nu este clasificat conform reglementărilor UE

Componenta 8

Control negativ

Codul de risc : acest produs nu este clasificat conform reglementărilor UE

Componenta 9

Substrat cromogen (TMB) (gata de folosire)

Codul de risc : acest produs nu este clasificat conform reglementărilor UE

Componenta 10

Soluție de stopare (gata de folosire)

Codul de risc : R35 : Produce arsuri severe
S26 : În cazul contactului cu ochii, se spală cu apă din abundență și se cere sfatul medicului.
S36/37/39 : A se purta îmbrăcăminte specială, mănuși și ochelari de protecție.
S45 : În caz de accidentare sau stare de rău, se cere sfatul medicului urgent (a se vedea eticheta de pe flacon)



u'Fatu

PRIONICS

PrioCHECK® CSFV Ab 2.0
Test ELISA detecție anticorpi CSFV
Kit cu 5 plăci

Prod. Nr. 7610600

ELISA pentru detecția *in vitro* a anticorpilor
anti virusul Pestei Porcine Clasice în probe
de ser sau plasmă de suine

Kit pentru detecția a 450 probe
Strict pentru diagnostic veterinar *in-vitro*

CONȚINUTUL KITULUI

Componenta 1:
Plăci de testare, 5 bucăți
Componenta 2:
Conjugat(30x), 2.5 ml
Componenta 3:
Diluant conjugat (gata de utilizare), 60 ml
Componenta 4:
Lichid de spălare(200x), 60 ml
Componenta 5:
Diluant probe (gata de utilizare), 11 ml,
2 flacoane
Componenta 6:
Control pozitiv (gata de utilizare), 2.2 ml
Componenta 7:
Control slab pozitiv (gata de utilizare), 2.2 ml
Componenta 8:
Control negativ (gata de utilizare), 2.2 ml
Componenta 9:
Substrat (TMB) cromogen (gata de utilizare),
60 ml
Componenta 10:
Soluție de stopare, (gata de utilizare), 60 ml
10 folii de sigilare

VERSIONE LIMBA ENGLEZĂ

VERSIONE LIMBA GERMANA

VERSIONE LIMBA SPANIOLĂ

VERSIONE LIMBA FRANCEZĂ

PRODUS DE
Thermo Fisher Scientific
Prionics Lelystad B.V.
P.O. Box 2271
NL-8203 AG Lelystad
Olanda
Telefon +31 320 714000



LOT



5 ± 3 °C



MASTERLAYOUT PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 kit cu 5 placi cu strip-uri

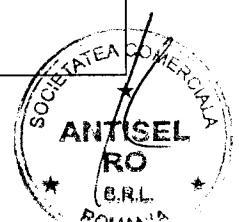
V 11/07

PRIONICS www.PRIONICS.COM Nr.Autorizare BFAV-301 Art. nr. 7610611 PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 Componenta 1 Placa test LOT xxxxxxxx dd-Mmm-yyy 5 ±3 °C	PRIONICS www.PRIONICS.COM Nr.Autorizare BFAV-301 Art. nr. 7610606 PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 Componenta 2 Conjugat (30X) 2,5 ML LOT xxxxxxxx dd-Mmm-yyy 5 ±3 °C
PRIONICS www.PRIONICS.COM Nr.Autorizare BFAV-301 Art. nr. 7610605 PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 Componenta 5 Diluant proba (gata de utilizare) 11,0 ml LOT xxxxxxxx dd-Mmm-yyy 5 ±3 °C	PRIONICS www.PRIONICS.COM Nr.Autorizare BFAV-301 Art. nr. 7610604 PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 Componenta 6 Control pozitiv (gata de utilizare) 2,2 ml LOT xxxxxxxx dd-Mmm-yyy 5 ±3 °C
PRIONICS www.PRIONICS.COM Nr.Autorizare BFAV-301 Art. nr. 7610603 PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 Componenta 7 Control slab pozitiv (gata de utilizare) 2,2 ml ml LOT xxxxxxxx dd-Mmm-yyy 5 ±3 °C	PRIONICS www.PRIONICS.COM Nr.Autorizare BFAV-301 Art. nr. 7610602 PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 Componenta 8 Control negativ (gata de utilizare) 2,2 ml LOT xxxxxxxx dd-Mmm-yyy 5 ±3 °C

PRIONICS www.PRIONICS.COM Nr.Autorizare BFAV-301 Art. nr. 7610607 PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 Componenta 3 Diluant conjugat (gata de utilizare) 60 ml LOT xxxxxxxx dd-Mmm-yyy 5 ±3 °C
--

PRIONICS www.PRIONICS.COM Nr.Autorizare BFAV-301 Art. nr. 7610301 PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 Componenta 4 Lichid de spalare (200x) 60 ml LOT xxxxxxxx dd-Mmm-yyy 5 ±3 °C
--

PRIONICS www.PRIONICS.COM Nr.Autorizare BFAV-301 Art. nr. 7588925 PrioCHECK® CSFV Ab 2.0 Componenta 9 Cromogen (TMB) substrat (gata de utilizare) 60 ml LOT xxxxxxxx dd-Mmm-yyy 5 ±3 °C



PRIONICS www.PRIONICS.COM

Nr.Autorizare BFAV-301

Art. nr. 7610302

PrioCHECK® CSFV Ab 2.0

Componenta 10

Solutie stopare (gata de utilizare)

60 ml

LOT xxxxxxx dd-Mmm-yyyy 5 ±3 °C