

# Test detectie Virus Pesta Porcina Clasica PrioCHECK

Test ELISA in vitro pentru detectia anticorpilor anti-virus pesta porcina clasica in ser si plasma

Numar de catalog 7610600

Pub. No. MAN0013893 Rev. B.0

## Introducere

Virusul pestei porcine clasice (PPC, cunoscuta si sub denumirea de holera porcului) este membru al genului *Pestivirus* (împreună cu *Virusul Diareei Virale Bovine si Virusul Bolii Border*), din familia *Flaviviridae*. PPC este o boala virală contagioasă declarabilă (lista A a OIE), care poate determina pierderi semnificative în industria creșterii porcinelor. Detectia rapida a porcilor infectati este esentiala în prevenirea raspandirii si controlul bolii. Virusul PPC este înrudit îndeaproape cu pestivirusurile care produc diareea virală bovină și boala 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 preveni reacțiile fals pozitive cauzate de virusurile înrudite, testul PrioCHECK detectează anticorpi anti domeniu A din proteina E2 a virusului PPC. Este cunoscut faptul ca acest domeniu este mai specific pentru PPC decât domeniile B, C și D.

Testul PrioCHECK Porcine CSFV Ab 2.0 Strip Kit detectează anticorpi împotriva tulpinilor înalt, moderat și slab virulente ale virusului PPC în fazele incipiente ale infecției. Detectia anticorpilor aparuti în urma infecției cu tulpini slab virulente este foarte importanta pentru stabilirea infecțiilor sub-clinice cu virusul PPC.

Testul PrioCHECK Porcine CSFV Ab 2.0 Strip Kit îmbină o procedură simplă cu o sensibilitate și specificitate ridicate, fiind potrivit screeningului pe populații mari.

## Principiul testului

Reactivul principal al kitului PrioCHECK Porcine CSFV Ab 2.0 Strip Kit este reprezentat de anticorpii monoclonali (mAb) direcționați împotriva unui epitop localizat pe domeniul A din proteina de înveliș E2 (GP-55) a virusului PPC. Desemnarea E1 pentru proteina de înveliș (GP-55) a PPC a fost provizoriu schimbată în E2 de către Comunitatea Internațională pentru Taxonomia Virusurilor (Australia, septembrie, 1995). Domeniul A este ales deoarece acest domeniu antigenic este mult mai specific pentru PPC decât domeniile B, C și D ale E2. Proba de testat și diluentul sunt transferate în godeurile plăcii de testare și incubate la  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Ulterior, placa este spălată cu anticorpii mAb -HRPO este adăugat în godeurile plăcii, apoi este incubată la  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ . După ce placa este spălată, este adăugat substratul cromogen (TMB). După incubare la  $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ , este stopată dezvoltarea culorii. Dezvoltarea culorii este măsurată la o lungime de 450 nm și arată prezența anticorpilor anti-virus PPC.

## Componentele kitului

5 plăci pentru 450 probe. Se păstrează la  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$  până la data expirării. A se vedea eticheta kitului pentru data de expirare. Stabilitatea componentelor diluate, deschise sau reconstituite este notată mai jos, unde este cazul.

| Component                    | Description                                                                                                                                                                          |
|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1: Placa de testare          | 5 plăci de testare în pungi cu desicant.                                                                                                                                             |
| 2: Conjugat (30x)            | Conjugatul concentrat 30x, se diluează înainte de folosire. Un flacon conține 2.5 mL conjugat. Conjugatul diluat nu este stabil, se prepară chiar înainte de utilizare.              |
| 3: Diluent pentru Conjugat   | Gata de utilizare. Un flacon conține 60 mL Diluent pentru Conjugat.                                                                                                                  |
| 4: Solutie de spalare (200x) | Concentrată 200x, diluați înainte de utilizare. Un flacon conține 60 mL Solutie de spalare. Solutia de spalare este stabilă 1 săptămână la $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ după preparare. |
| Diluent proba                | Gata de utilizare. 2 flacoane a 11.0 mL.                                                                                                                                             |
| 6: Control Pozitiv           | Gata de utilizare. Conține 2.2 mL                                                                                                                                                    |
| 7: Control slab pozitiv      | Gata de utilizare. Conține 2.2 mL                                                                                                                                                    |
| 8: Control Negativ           | Gata de utilizare. Conține 2.2 mL                                                                                                                                                    |
| 9: Substrat Cromogen (TMB)   | Gata de utilizare. Conține 60 mL                                                                                                                                                     |
| 10: Solutie de Stopare       | Gata de utilizare. Conține 60 mL                                                                                                                                                     |
| Materiale aditionale         | <ul style="list-style-type: none"> <li>Instructiuni de utilizare</li> <li>10 folii sigilare plăci</li> </ul>                                                                         |

## Materiale aditionale neincluse în kit

Dacă nu este specificat, toate materialele sunt furnizate de către [thermofisher.com](http://thermofisher.com)

| Utilizare            | descriere                                                                                                                             |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Generala             | Echipament de laborator în conformitate cu reglementările de siguranță națională.                                                     |
| Incubare             | Incubator pentru microplăci (sa ajunga la cel puțin la $50^{\circ}\text{C}$ ).                                                        |
| Analiza rezultatelor | Cititor de plăci. Cititorul sa aiba un set de filtre corespunzătoare astfel încât sa poată citi plăcile la lungimea de undă de 450 nm |
| Optional             | Spalator de plăci.                                                                                                                    |

## Procedura de testare

### Precauții

- Trebuie respectate cu strictețe reglementările de siguranță națională
- Testul PrioCHECK™ Porcine CSFV Ab 2.0 Strip Kit trebuie realizat în laboratoare acreditate.
- Toate probele trebuie considerate potențial infecțioase și toate articolele care vin în contact cu probele trebuie considerate ca potențial contaminate.

### Observatii

Pentru rezultate optime cu PrioCHECK Porcine CSFV Ab 2.0 Strip Kit, trebuie avute în vedere următoarele:

- Protocolul de testare trebuie urmat cu strictețe.
- Toți reactivii trebuie aduși la temperatura camerei înainte de utilizare ( $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ ).
- Varfurile de pipetă trebuie schimbate înainte de fiecare pas de pipetare.
- Pentru fiecare reactiv trebuie utilizată o tavă separată.
- Componentele kitului nu trebuie utilizate după data de expirare sau dacă se observă o modificare a aspectului.
- Componentele kitului din loturi diferite nu trebuie utilizate împreună.
- Pentru realizarea testului trebuie utilizată apă demineralizată sau similar.

## Solutii care trebuie pregatite in avans

### Diluarea Conjugatului

Diluati Conjugatul (30x) (Componenta 2) 1:30 in Diluent pentru Conjugat (Componenta 3); ex. pentru o placa sunt necesari 12 mL (adaugati 0.4 mL Conjugat (30x) la 11.6 mL Diluent pentru Conjugat).

**Nota: Trebuie diluat chiar inainte de utilizare.**

### Solutie pentru spalare

Lichidul de spalare (200x) (Componenta 4) trebuie diluat 1:200 in apa demineralizata si este suficient pentru un volum final de 12 litri de lichid de spalare.

Poate fi pastrat 1 saptamana la 22±3°C.

Remarca: spalarea inadecvata a placii de testare poate duce la un fond intens. Este de preferat un sistem automat de spalare (dar nu obligatoriu) fata de spalarea cu micropipeta multicanal sau fata de introducerea placii in solutie de spalare. Pentru toate metodele nu este obligatorie umezirea placii de testare intre spalari. Pentru o spalare adecvata a placii este necesar un volum minim de 200µl per godeu.

### Incubarea serului

1. Distribuiti 20 µL de Diluent pentru proba (Componenta 5) in toate godeurile placii de testare (Componenta 1).
2. Distribuiti 80 µL de Control Negativ (Componenta 8) in godeurile A1 si B1.
3. Distribuiti 80 µL de Control slab pozitiv (Componenta 7) in godeurile C1 si D1.
4. Distribuiti 80 µL de Control Pozitiv (Componenta 6) in godeurile E1 si F1.
5. Distribuiti 80 µL de proba de testare intr-un godeu (test simplu) sau doua (test in duplicat) adiacente din placa de testare.
6. Sigilati placa cu o folie.
7. Agitati placa usor.
8. Incubati placa 60±5 minute la 37±1°C.

### Incubarea cu conjugatul

1. Goliti placa si spalati-o de 6 ori cu 200 pana la 300 µL solutie de spalare. Scuturati bine placa dupa ultima spalare.
2. Adaugati 100 µL conjugat diluat in toate godeurile.
3. Sigilati placa cu o folie.
4. Incubati placa 30±1 minut la 37±1°C.

### Incubarea cu substratul cromogen (TMB)

1. Goliti placa si spalati-o de 6 ori cu 200 pana la 300 µL solutie de spalare. Scuturati bine placa dupa ultima spalare.
2. Distribuiti 100 µL de Substrat Cromogen (TMB) (Componenta 9) in toate godeurile.
3. Incubati placa 20 minute la 22±3°C.
4. Adaugati 100 µL de Solutie de Stopare (Componenta 10) in toate godeurile.
5. Agitati continutul godeurilor placii.

**Nota: Se incepe adaugarea solutiei de spalare la 20 de minute dupa ce primul godeu a fost umplut cu Substratul Cromogen (TMB). Adaugati solutia de stopare in aceeasi ordine si in acelasi loc in care a fost pus Substratul Cromogen (TMB).**

### Citirea testului si calcularea rezultatului

1. Masurati densitatea optica (DO) din 450 nm din godeuri in 15 minute dupa ce s-a stopat dezvoltarea culorii.
2. Calculati valoarea medie DO<sub>450</sub> a Controlului Negativ (godeurile A1 si B1). Aceasta este valoarea OD<sub>450</sub> max.
3. Calculati procentul de inhibitie (PI) al controlului slab pozitiv controlului pozitiv si al probelor de testat conform formulei de mai jos.

DO<sub>450</sub> pentru toate probele se exprima ca procentul de inhibitie (PI) raportat la DO<sub>450</sub> max.

$$PI = 100 - (DO_{450} \text{ proba} / DO_{450} \text{ max}) \times 100$$

## Interpretarea rezultatului

### Criterii de validare

1. DO<sub>450</sub> medie a Controlului Negativ (godeurile A1 si B1) trebuie sa fie >1.0.
2. PI al controlului slab pozitiv trebuie sa fie >50%.
3. PI al controlului pozitiv trebuie sa fie >80%.

Neindeplinirea acestor criterii duce la invalidarea rezultatelor.

**Nota:**

- Daca DO<sub>450</sub> al probei este mai mare decat DO<sub>450</sub> max, PI poate fi interpretat ca 0%.
- Daca DO<sub>450</sub> medie a controlului negativ este sub 1.00 arata posibilitatea ca TMB- Substratul cromogen sa fie prea rece. In acest caz incalziti solutia la 22±3°C sau incubati pana la 30 minute.
- Daca OD<sub>450</sub> medie a controlului negativ este peste 2.00 se recomanda o incubare mai scurta cu cromogenul.

### Interpretarea procentului de inhibitie

|           |         |                                                        |
|-----------|---------|--------------------------------------------------------|
| PI = <40% | Negativ | Anticorpii anti-CSFV sunt absenti in proba de testat.  |
| PI = ≥40% | Pozitiv | Anticorpii anti-CSFV sunt prezenti in proba de testat. |

## Referinte

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

## Support tehnic

Support tehnic: vizitati [thermofisher.com/askaquestion](http://thermofisher.com/askaquestion)

Vizitati [thermofisher.com/support](http://thermofisher.com/support) pentru cele mai recente servicii si suport incluzand:

- Contact numere de telefon
- suport web
- Ghiduri de utilizare, manuale si protocoale
- Certificate de analiza
- Fise Tehnice de Securitate

**NOTA:** Pentru Fise Tehnice de Securitate pentru reagenti si chimicale proveniti de la alti producatori, contactati producatorul

## Garantie

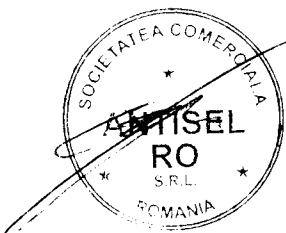
Life Technologies Corporation si afiliatele sale warrant their products as set forth in the Life Technologies' General Terms and Conditions of Sale found on Life Technologies' website at garantează produsele lor așa cum sunt prevăzute în Termenii și condițiile generale de vânzare din Life Technologies găsite pe site-ul web Life Technologies la

[www.thermofisher.com/us/en/home/global/terms-and-conditions.html](http://www.thermofisher.com/us/en/home/global/terms-and-conditions.html). Daca aveti intrebari, va rog sa contactati Life Technologies at [thermofisher.com/support](http://thermofisher.com/support).

Prionics Lelystad B.V. | Platinastraat 33 | 8211 AR Lelystad | The Netherlands. Informațiile din acest ghid pot fi modificate fără notificare prealabilă.  
BUTENI, 2019-09-25 10:00:00  
Revision history of Pub. No. MAN0013893 (English)

| Revizie | Data               | Descriere                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|---------|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| B.0     | 25 septembrie 2019 | S-a corectat descrierea pentru Revizuirea A.0 din acest tabe                                                                                                                                                                                                                                  |
|         |                    | Document nou. A convertit documentul (PrioCHECK csfv Ab 2.0 7610600_v1.0_e.doc) in documentul curent (CSFV Ab 2.0 7610600_v1.0_e.doc) la documentul curent, cu actualizari asociate cu numarul de lucrari publicate, informatii de licenta limitate, garantie, marci inregistrate si logo-uri |
|         |                    | Numele produsului a fost schimbat din PrioCHECK® CSFV Ab A.0 in PrioCHECK® Porcine CSFV Ab 2.0 Strip Kit                                                                                                                                                                                      |

©2019 Thermo Fisher Scientific Inc. Toate drepturile rezervate. Toate marcele inregistrate sunt proprietatea Thermo Fisher Scientific si subsidiarelor sale daca nu se specifica altceva subsidiaries unless otherwise specified.



*afatu*

Etichete: 7610600

PrioCHECK™ porcine CSFV Ab 2.0 Strip Kit, 5 plăci de testare,  
450 probe

Eticheta laterală: (Etichetele afișate pot să nu fie exact la dimensiune.)

|                                                                                                                                                                                  |            |           |     |                                                 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|-----------|-----|-------------------------------------------------|
| REF                                                                                                                                                                              | 7610600    | Ch.-B.    | LOT | AA000000A000<br>Zul.-Nr.: BFAV-B 301<br>0975-RD |
| <p>PrioCHECK™ Porcine CSFV Ab 2.0 Strip kit</p> <p>Kit ELISA pentru detectia in vitro a anticorpilor anti virusului<br/>pestei porcine clasice din serul si plasma suinelor.</p> |            |           |     |                                                 |
| 450 teste                                                                                                                                                                        | 0000-00-00 | 2°C - 8°C |     |                                                 |



Etichete: 7610600

PrioCHECK™ porcine CSFV Ab 2.0 Strip Kit, 5 plăci de testare,  
450 probe

Componenta 1:

appliedbiosystems  
by Thermo Fisher Scientific  
1: Placa test  
PrioCHECK CSF 2.0  
Ch.-B. LOT AA000000-AA000  
0000-00-00  
Exclusiv pentru uz veterinar  
Prionics Lelystad B.V Lelystad, NL

REF 7610611  
Zul-Nr. BFAV-B 301  
Placa test  
2-8°C.  
Citeste SDS  
Fabricat in Olanda

Componenta 2:

appliedbiosystems  
by Thermo Fisher Scientific  
2: Conjugat 30X  
PrioCHECK CSF 2.0  
Ch.-B. LOT AA000000-AA000  
0000-00-00  
Exclusiv pentru uz veterinar  
Prionics Lelystad B.V Lelystad, NL

REF 7610606  
Zul-Nr. BFAV-B 301  
2.5ml  
2-8°C.  
Citeste SDS  
Fabricat in Olanda

Componenta 3:



appliedbiosystems  
by Thermo Fisher Scientific  
3: Conjugat diluent  
PrioCHECK CSF 2.0  
Ch.-B. LOT AA000000-AA000  
0000-00-00  
Exclusiv pentru uz veterinar  
Prionics Lelystad B.V Lelystad, NL

REF 7610607  
Zul-Nr. BFAV-B 301  
60ml  
2-8°C.  
Citeste SDS  
Fabricat in Olanda

Componenta 4:

appliedbiosystems  
by Thermo Fisher Scientific  
4: Fluid de spalare 200x  
PrioCHECK CSF 2.0  
Ch.-B. LOT AA000000-AA000  
0000-00-00  
Exclusiv pentru uz veterinar  
Prionics Lelystad B.V Lelystad, NL

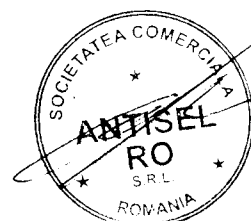
REF 7610301  
Zul-Nr. BFAV-B 301  
60ml  
2-8°C.  
Citeste SDS  
Fabricat in Olanda

Componenta 5:

appliedbiosystems  
by Thermo Fisher Scientific  
5: diluent proba  
PrioCHECK CSF 2.0  
Ch.-B. LOT AA000000-AA000  
0000-00-00  
Exclusiv pentru uz veterinar  
Prionics Lelystad B.V Lelystad, NL

REF 7610605  
Zul-Nr. BFAV-B 301  
11 ml  
2-8°C.  
Citeste SDS  
Fabricat in Olanda

Componenta 6:



appliedbiosystems  
by Thermo Fisher Scientific  
6: control pozitiv  
PrioCHECK CSF 2.0  
Ch.-B. LOT AA000000-AA000  
0000-00-00  
Exclusiv pentru uz veterinar  
Prionics Lelystad B.V Lelystad, NL

REF 7610604  
Zul-Nr. BFAV-B 301  
2.2 ml  
2-8°C.  
Citeste SDS  
Fabricat in Olanda

Componenta 7:

appliedbiosystems  
by Thermo Fisher Scientific  
7: control pozitiv scazut  
PrioCHECK CSF 2.0  
Ch.-B. LOT AA000000-AA000  
0000-00-00  
Exclusiv pentru uz veterinar  
Prionics Lelystad B.V Lelystad, NL

REF 7610603  
Zul-Nr. BFAV-B 301  
2.2 ml  
2-8°C.  
Citeste SDS  
Fabricat in Olanda

Componenta 8:

appliedbiosystems  
by Thermo Fisher Scientific  
8: control negativ  
PrioCHECK CSF 2.0  
Ch.-B. LOT AA000000-AA000  
0000-00-00  
Exclusiv pentru uz veterinar  
Prionics Lelystad B.V Lelystad, NL

REF 7610602  
Zul-Nr. BFAV-B 301  
2.2 ml  
2-8°C.  
Citeste SDS  
Fabricat in Olanda

Componenta 9:



appliedbiosystems  
by Thermo Fisher Scientific  
9: Substrat cromogen TMB  
PrioCHECK CSF 2.0  
Ch.-B. LOT AA000000-AA000  
0000-00-00  
Exclusiv pentru uz veterinar  
Prionics Lelystad B.V Lelystad, NL

REF 7588925  
Zul-Nr. BFAV-B 301  
60 ml  
2-8°C.  
Citeste SDS  
Fabricat in SUA

Componenta 10:

appliedbiosystems  
by Thermo Fisher Scientific  
10: Solutie stop  
PrioCHECK CSF 2.0  
Ch.-B. LOT AA000000-AA000  
0000-00-00  
Exclusiv pentru uz veterinar  
Prionics Lelystad B.V Lelystad, NL

REF 7610302  
Zul-Nr. BFAV-B 301  
60 ml  
2-8°C.  
Citeste SDS  
Fabricat in Belgia

