

SERELISA® PRV g1 Ab Mono Blocking

KIT PENTRU DETECȚIA ANTICORPILOR ANTI-g1 AL
VIRUSULUI BOLII AUJESZKY (PRV)
LA SUINE (INDIVIDUAL)

TEHNICĂ IMUNOENZIMATICĂ DE BLOCARE

384 godeuri cu o singură reacție

Kitul SERELISA® PRV g1 Ab este utilizat pentru:

- diferențierea între porcii infectați față de cei ne-infectați într-o populație vaccinată cu vaccin deolat Aujeszky g1 (gl-);
- identificarea porcilor infectați într-o populație ne-vaccinată.

I. PRINCIPIUL TESTULUI

Kitul "SERELISA® PRV g1 Ab Mono Blocking" este o tehnică imunoenzimatică de blocare ce permite detecția anticorpilor anti-glicoproteina structurală (g1) la suine. Reacția este compusă din trei pași:

1. Fiecare probă este plasată în godeul căptușit cu glicoproteina structurală (g1) a virusului PRV. Anticorpii anti g1 prezenți în probă se vor cupla cu antigenul glicoproteinei ce căptușește godeul.

2. După o etapă de spălare se adaugă un conjugat anticorp monoclonal (Acm) anti-g1 cuplat cu peroxidază. Se fixează la siturile libere ale g1 formând un complex:
(Ag PRV glicoproteină) - (Acm anti-g1 / peroxidază).

3. Conjugatul în exces este eliminat printr-o a doua etapă de spălare. Enzima cuplată la conjugat este evidențiată prin adăugarea unui substrat, ce se transformă într-un produs colorat. După stoparea reacției, se vor măsura densitățile optice. Densitățile optice corespunzătoare sunt măsurate și interpretate în funcție de valorile de cut-off obținute la marorii de control.

- În absența anticorpilor anti g1 din probă se va vedea o reacție de culoare intensă, datorită transformării conjugatului enzimatic legat la siturile libere ale g1, fixate de faza solidă.

- În prezența anticorpilor anti g1 din probă, mai puțin conjugat enzimatic se va lega de siturile g1 fixate de faza solidă și de aceea intensitatea reacției de culoare va fi diminuată.

II. COMPOZIȚIA ȘI CONSERVAREA KITULUI

| NATURA REAGENTULUI | RECONSTITUIRE ȘI CONSERVARE |
|--|--|
| 4 microplăci ce conțin 6 stripuri de 2 x 8 godeuri sensibilizate cu glicoproteinele virusului PRV. | A se utiliza în maxim 4 săptămâni după deschiderea ambalajului, care trebuie să fie închis după utilizare. |
| Soluție de spălare (W) (concentrată de 10X) | Diluți 1/10 în apa distilată sau demineralizată. Utilizați în max. 48 ore după diluție. |
| Diluant pentru probe (SD) | Gata de utilizare. |
| Control negativ (N) | Gata de utilizare. |
| Control pozitiv (P) | Gata de utilizare. |
| Diluant pentru conjugat (CD) | Gata de utilizare. |
| Conjugat (concentrat) anticorpi monoclonali anti-PRV g1 / peroxidază (CJ) | Diluți 1/10 în diluantul de conjugat (CD) și utilizați în max. 24 ore după diluție. |
| Substrat tamponat cu peroxidază (PS) | Gata de utilizare. |
| Soluție de stopare (S) | Gata de utilizare. |
| Folii adezive | 12 folii |

Notă: Păstrați reagenții diluați la +5°C ± 3°C și utilizați-i conform procedurii menționate mai sus.

III. MATERIALE ȘI REAGENȚI NECESARI (NU SUNT FURNIZAȚI)

- Apă distilată sau demineralizată.
- Pipete ajustabile sau fixe pentru a măsura și doza între 0 și 1000 μl. Deviația măsurătorii trebuie să fie ≤ 10% pentru volume ≤ 100 μl și ≤ 5% pentru toate celelalte volume.
- Cilindri gradatți (100 ml și 1000 ml)
- Spălator manual, automat sau semi-automat pentru plăci de microtitrare
- Cititor de microplaci, cu filtre pentru citiri bicromatice la 450 și 630 nm. Se poate utiliza și un cititor monocromatic cu filtru de 450 nm.
- Incubator la +37°C ± 3°C.

IV. PRECAUȚII PENTRU UTILIZARE

Calitatea rezultatelor depinde de respectarea regulilor și procedurilor bune practice de laborator (vedeți paragraful VI).

1. Nu amestecați sau asociați reagenți din loturi cu numere diferite.
2. Nu utilizați reagenții după data expirării.
3. Plasați reagenții la temperatura laboratorului cu cel puțin o oră înainte de utilizare.
4. Manipulați toți reagenții și probele ca materiale cu risc biologic.
5. Țineți toți reagenții departe de piele și ochi. Dacă apare expunerea, spălați imediat suprafețele afectate cu apă rece.
6. Nu pipetați niciodată cu gura.
7. Evitați contaminarea între probe în timpul recoltării, depozitării sau transportului probelor. Utilizați vârfuri de pipetă de unică folosință, separate pentru fiecare probă.
8. Evitați contaminarea soluției substrat cu ioni metalici, agenți de oxidare sau detergenți. Asigurați-vă că toți recipientii sunt curați. Nu utilizați același recipient sau același vârf de pipetă pentru conjugat și substrat.
9. Se recomandă ca eliminarea reagenților și a materialului contaminat să se facă în funcție de reglementările în vigoare. Fișele cu datele de securitate ale produsului sunt disponibile la cerere.

Fraze de risc:

R35: Cauzează arsuri grave.

S26: În cazul contactului cu ochii clătiți imediat cu apă din abundență și solicitați sfatul medicului.

S30: Niciodată nu adăugați apă peste produs.

S45: În caz de accident sau dacă nu vă simțiți bine, solicitați imediat sfatul medicului.

V. PROBE

Testul poate fi utilizat pe probe decantate de ser sau plasmă diluate 1:2 cu diluant pentru probe (SD).

VI. PROCEDURĂ

Respectați cu strictețe procedura descrisă mai jos. Utilizați marorul de control negativ și pozitiv în duplicat pentru fiecare testare, pentru fiecare placă.

A. ETAPE PRELIMINARE

1. Acordați atenție la distribuția și identificarea marorilor și probelor.
2. Preparați probele ce vor fi testate. Diluția se poate face fie înainte în tuburi de hemoliză, microplăci blank, fie direct în godeurile de testare.

B. PROCEDURA DE TESTARE

I - DISTRIBUIREA MARTORILOR DE CONTROL ȘI A PROBELOR

1. Distribuția marorilor de control:

Martorii de control sunt gata de utilizare.

După agitarea flacoanelor, adăugați 100 μl de control negativ (N) în godeurile A1 și A2 și 100 μl de control pozitiv (P) în godeurile B1 și B2.

2. Distribuția probelor:

Plasați 100 μl de probe de ser sau plasmă diluată 1:2 în prealabil în fiecare godeu.

VIII. EXPRIMAREA ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

Sunt posibile două metode de calcul și interpretare a rezultatelor. Prima este recomandată pentru a compara și compara rezultatele obținute pe plăci diferite în testări diferite.

Metoda 1: CALCULAREA PROCENTAJULUI DE COMPETIȚIE (% Probă)

Pentru fiecare probă:

$$\% S = \frac{\overline{DO}_N - \overline{DO}_S}{\overline{DO}_N - \overline{DO}_P} \times 100$$

\overline{DO} : media DO dacă probele sunt testate în duplicat.

Interpretarea:

| PROBE | NEGATIVE | DUBIOASE | POZITIVE |
|--------------|-----------|------------------|-----------|
| Ser / plasmă | %S < 40 % | 40 % ≤ %S < 50 % | %S ≥ 50 % |

Metoda 2: ANALIZA DENSITĂȚILOR OPTICE

Calculați valoarea cut off a DO corespunzătoare la 40 % și 50 % procentaj de competiție și comparați DO a fiecărei probe cu valoarea DO a valorilor de cut off.

$$DO_{CO\ 40} = 0,60 \overline{DO}_N + 0,40 \overline{DO}_P$$

$$DO_{CO\ 50} = 0,50 \overline{DO}_N + 0,50 \overline{DO}_P$$

Interpretarea rezultatelor:

| | DO CO 50 | DO CO 40 | |
|-------------|----------|----------|----------|
| Ser, plasmă | + | +/- | Probă DO |

- Probele pozitive corespund cu: fie porci infectați, fie porci vaccinați cu vaccin Aujeszky (g1+).
- Probele negative corespund cu porci ne-infectați, posibil vaccinați cu vaccin Aujeszky deletat (g1-).
- Probele dubioase trebuie re-testate. Dacă rezultatul dubios persistă, se recomandă efectuarea unui al doilea test dintr-o probă nouă de ser sau plasmă, de la același animal.

Dacă aveți întrebări, vă rugăm contactați:
 ZOETIS FRANCE – Gerland Plaza –
 23 rue Pierre Gilles de Gennes, 69007 LYON – France,
 Tel : +33 4.72.76.11.11 - Fax : +33 4.72.76.11.10
www.zoetis.com/products-services/diagnostics

DiagnosicsTechSupport@zoetis.com

NUMAI PENTRU UZ VETERINAR/
 NUMAI PENTRU UTILIZARE IN VITRO

Producător: DELPHARM BIOTECH,
 2 rue Alexander Fleming,
 69366, LYON Cedex 07
 Franța



Pentru diluția direct în godeu, pipetați 50 μl de diluant de probă și 50 μl de probă de ser sau plasmă, în godeu și amestecați bine.

Probele pot fi testate individual sau în duplicat.

Stripurile trebuie plasate întotdeauna pe rama plăcii astfel încât ambele dispozitive spălătorului și cititorului să poată fi utilizate.

Acoperiți godeurile cu folie adezivă tăiată conform numărului de godeuri utilizate.

Amestecați manual placa prin agitare ușoară sau utilizând un agitator de placă.

3. Incubarea plăcii

Incubați placa fie peste noapte (14-18 ore) la +5°C ± 3°C sau timp de 2 ore ± 5 min. la +37 ± 3°C.

SPĂLAREA:

Soluția tampon de spălare: diluați soluția concentrată de spălare (W) 1:10 în apă distilată sau demineralizată.

Îndepărtați cu atenție folia adezivă și spălați de 4 ori.

II – ADĂUGAREA CONJUGATULUI

1. Prepararea conjugatului:

Pregătiți soluția de conjugat prin diluarea conjugatului concentrat (CJ) 1:10 în diluant de conjugat (DC). 2 ml sunt necesari pentru un strip, adică 200 μl de CJ la 1,8 ml de DC.

2. Distribuția conjugatului:

Adăugați 100 μl conjugat diluat în toate godeurile și acoperiți-le cu o noua bucată de film adeziv.

3. Incubarea conjugatului:

Incubați timp de 1 oră ± 5 min la + 37°C ± 3°C.

SPĂLARE:

Îndepărtați cu atenție folia adezivă și spălați de 4 ori.

III – DEZVOLTAREA CULORII

1. Adăugarea substratului:

Adăugați 100 μl de substrat tamponat cu peroxidază (SP) în fiecare godeu. Nu acoperiți cu folia adezivă în această etapă. Amestecați manual placa prin agitare ușoară sau utilizând un agitator de placă pentru a asigura o corectă omogenizare.

2. Incubarea substratului:

30 min. ± 5 min. la temperatura din laborator (+23°C ± 5°C), protejat de lumină.

3. Adăugarea soluției de stopare:

Adăugați 50 μl soluție de stopare (S) în fiecare godeu. Amestecați manual placa prin agitare ușoară sau utilizând un agitator de placă. Asigurați-vă ca nu apar bule în godeuri.

4. Măsurarea densității optice:

Măsurați densitatea optică (DO) bicromatic la 450 și 630 nm sau monocromatic la 450 nm (în banda galbenă).

Este preferată citirea bicromatică. Dacă va fi utilizat un cititor monocromatic, asigurați-vă de curățenia fundului fiecărui godeu înainte de citire.

VII. VALIDAREA TESTULUI

Rezultatele fiecărui test efectuat sunt valide dacă:

\overline{DO} a matorului de control negativ (N) ≥ 0,500 și procentul de competiție a matorului de control pozitiv (P) este ≥ 80 %.

Acest procentaj poate fi calculat astfel:

$$\% P = \frac{\overline{DO}_N - \overline{DO}_P}{\overline{DO}_N} \times 100$$

\overline{DO} : media densităților optice

A se depozita la +2°C/+8°C. A nu se congela.
Pentru diagnostic in-vitro. Pentru uz veterinar.

SERELISA® PRV gl Ab Mono Blocking (ASPRV1)

Kit pentru detecția anticorpilor anti-gl ai virusului bolii AUJESZKY (PRV) la suine

384 godeuri cu o singură reacție

| | |
|----------|---|
| 4 | Microplacă cu 6 stripuri de 16 godeuri sensibilizate cu glicoproteina de anvelopă PRV |
| 1X200 ml | W Soluție de spălare concentrată 10x |
| 1X100 ml | SD Diluant pentru probe |
| 1X5 ml | N Control negativ |
| 1X5 ml | P Control pozitiv |
| 1X50 ml | CD Diluant pentru conjugat |
| 1X5 ml | CJ Conjugat concentrat |
| 1X50 ml | PS Substrat tamponat cu peroxidază |
| 1X 25 ml | S Soluție de stopare |
| 12 | Folii adezive |

Lot:
Exp:

Zoetis France – Gerland Plaza – 23 rue Pierre Gilles de Gennes – 69007 LYON – FRANȚA



zoetis

Soluție de spălare concentrată X 10

Diag. in-vitro **W** Zul.Nr.K 020
200 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.

Lot:
Exp/:

zoetis

SERELISA® PRV gl

Ab Mono Blocking

Zul.-Nr.BGAF-B 031

1microplacă cu 6 strip-uri de 16 godeuri

A se depozita la +2°C/+8°C.

Lot/:

Exp/:

Diag. in-vitro

zoetis

Substrat tamponat de peroxidază

Zul.Nr.K 028
Diagn. in-vitro **PS** 50 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.

zoetis

(4N H₂SO₄)

Soluție de stopare

Zul.Nr.K 021
Diagn. in-vitro **S** 25 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.



H314
P260
P264
P280



zoetis

Diluant pentru probe

Diagn. in-vitro **SP** Zul.Nr.K024
100 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.

zoetis

Diluant pentru conjugat

Diagn. in-vitro **DC** Zul.Nr.K070
50 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.

zoetis

(-) Control

Diag. in-vitro **N** 5 ml

Exp/:

Lot /

Zul.Nr.K 030

A se depozita la +2°C/+8°C.

zoetis

AB Mono Blocking

Conc. Conjugat

Diag. in-vitro **CJ** 5 ml

Exp/

Lot /

Zul.-Nr.BGAF-B 031

A se depozita la +2°C/+8°C.

zoetis

(+) Control

Diag. in-vitro **P** 5 ml

Exp/:

Lot/:

Zul.- Nr.BGAF-B 031

A se depozita la +2°C/+8°C.

