

SERELISA® PRV g1 Ab Mono Blocking

KIT PENTRU DETECȚIA ANTICORPILOR ANTI-g1 AI
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 delectat Aujeszky g1 (gl-);
- identificarea porcilor infectați într-o populație ne-vaccinată.

I. PRINCIPIUL TESTULUI

Kitul indirect "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 de ser este plasată în godeul captușit cu glicoproteina structurală (g1) a virusului PRV. Anticorpii anti g1 prezenți în probă se vor cupla cu antigenul glicoproteinei ce căpтуșește godeul.

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

(Ag PRV glicoproteină) - (Ac 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 matorii 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 a 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 h după diluție.
Substrat tamponat cu peroxidază (SP)	Gata de utilizat.
Control negativ (N)	Gata de utilizat.
Control pozitiv (P)	Gata de utilizat.
Diluant pentru probe (DP)	Gata de utilizat.
Conjugat anticorpi monoclonali anti-PRV g1 / peroxidază (concentrat 10X) (CJ)	Diluți 1/10 în diluantul de conjugat și utilizați în max 24 h după diluție.
Diluant pentru conjugat (DC)	Gata de utilizat.
Soluție de stopare (S)	Gata de utilizat.
Filme adezive	12 filme

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

Referință: SPRV1.NA versiunea n°19 – 22/09/2015

Capitolul modificat de la ultima versiune este cu caractere italice.. Versiunea n°18 → n°19: Schimbarea părții V-probe.

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 ≤ 10 μl și ≤ 5% pentru toate celelalte volume.
- Cilindrii gradați (100 ml și 1000 ml).
- Spălător manual, automat sau semi-automat pentru plăcile de microtitrare.
- Cititor de microplăci, prevăzut 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 biohazard.
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 (DP).

VI. PROCEDURĂ

Strict conform procedurilor indicate mai jos. Utilizați matorii de control negativi și pozitivi în duplicat pentru fiecare testare, pentru fiecare placă.

A. ETAPE PRELIMINARE

1. Setati cu atenție distribuirea și identificarea matorilor 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. Distribuirea martorilor 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. Distribuirea probelor:

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

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, spălătorul și cititorul, să poată fi utilizate.

Acoperiți godeurile cu film adeziv tăiat 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, fie 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.

Scoateți cu grijă filmul adeziv 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. Distribuirea conjugatului:

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

3. Incubarea conjugatului:

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

SPĂLAREA:

Scoateți cu grijă filmul adeziv de pe godeuri și spălați de 4 ori.

III – DEZOLTAREA CULORII

1. Adăugarea substratului:

Adăugați 100 µl de substrat tamponat cu peroxidază (SP) în fiecare godeu. Nu acoperiți cu film adeziv 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), ferit 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 că nu apar bule în godeuri.

4. Măsurarea densității optice:

Măsurati 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 valabile dacă:

\bar{DO} a martorului de control negativ (N) > 0.500 și procentajul de competiție al martorului de control pozitiv (P) este ≥ 80 %.

Acest procentaj poate fi calculat astfel:

$$\%P = \frac{DO_N - DO_P}{DO_N} \times 100$$

DO = media densităților optice

VIII. EXPRIMAREA ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

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

Metoda 1: CALCULAREA PROCENTAJULUI DE COMPETIȚIE (% Probă)

Pentru fiecare probă:

$$\%S = \frac{DO_N - DO_S}{DO_N - DO_P} \times 100$$

\bar{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 cu valoarea DO a valorilor de cut-off.

$$DO_{CO\ 40} = 0.60 \bar{DO}_N + 0.40 \bar{DO}_P$$

$$DO_{CO\ 50} = 0.50 \bar{DO}_N + 0.50 \bar{DO}_P$$

Interpretarea rezultatelor:

	DO CO 50	DO CO 40	
Ser, plasmă	+	+/-	DO Proba

- 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

DiagnosTechSupport@zoetis.com

NUMAI PENTRU UZ VETERINAR/
NUMAI PENTRU UZ IN VITRO

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





(4N H2SO4)

SYNGENETICS

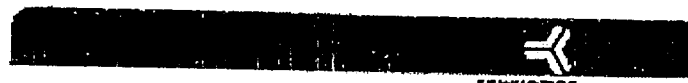


Soluție de stopare

Zul.Nr.K 021

R35
S26
S30
S45
Diagn. in-vitro **S** 25ml

A se depozita la +2°C/+8°C.



SYNGENETICS

Substrat tamponat de peroxidază

Zul.Nr.K 028

Diagn. in-vitro **SP** 50 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.

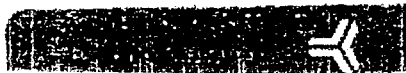


(-) Martor de control

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

Exp/
Lot /

A se depozita la +2°C/+8°C.

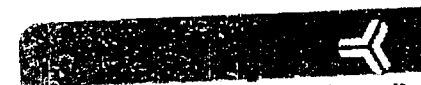


Conjugat

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

Exp/
Lot /

A se depozita la +2°C/+8°C.



(+) Martor de control

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

Exp/
Lot/

A se depozita la +2°C/+8°C.

Etichete pentru componente



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/



Diluant pentru probe

Diagn. in-vitro

DP

Zul.Nr.K024

100ml

A se depozita la +2°C/+8°C.



SERELISA® PRV gl

Ab Mono Blocking

Zul.-Nr.BGAF-B031

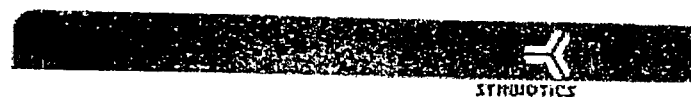
1 microplacă cu 6 strip-uri de 16 godeuri

A se depozita la +2°C/+8°C.

Lot/:

Exp/

Diag. in-vitro



Diluant pentru conjugat

Diagn. in-vitro

DC

50 ml

A se depozita la +2°C/+8°C.

Eticheta ambalajului secundar



A se depozita la +2°C/+8°C. A nu se congela.

Pentru diagnostic in vitro. Pentru uz veterinar.

Serelisa® PRV gI Ab Mono Blocking (ASPRV1)

Kit pentru detecția anticorpilor anti-g1 (glicoproteină) ai virusului Bolii Aujeszky (PRV) la suine

384 godeuri cu o singură reacție

Microplacă cu 6 stripuri de 16 godeuri sensibilizate cu glicoproteinele de înveliș ale virusului Bolii Aujeszky

		4
W	Soluție de spălare conc. 10x	1X200 ml
DP	Diluant pentru probe	1X 100 ml
N	Martor de control negativ	1X 5 ml
P	Martor de control pozitiv	1X 5 ml
DC	Diluant pentru conjugat	1X 50 ml
CJ	Conjugat concentrat	1X 5 ml
SP	Substrat tamponat cu peroxidază	1X 50 ml
S	Soluție de stopare	1X 25 ml
	Filme adezive	12