

pigtype[®] PRRSV Ab Gebrauchsinformation

Zum Nachweis von Antikörpern gegen das
PRRS-Virus (*Porcine Reproductive and
Respiratory Syndrome Virus*)



5 Platten (Katalog-Nr. PT272753)



INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Deutscher Platz 5b,
04103 Leipzig, Deutschland

Inhalt

Kit-Inhalt.....	3
Verwendungszweck.....	4
Symbole	4
Qualitätskontrolle	5
Lagerung.....	5
Sicherheitshinweise	5
Einleitung	7
Testprinzip	7
Zusätzlich benötigte Materialien	8
Wichtige Hinweise	9
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen.....	9
Protokoll: Durchführung des ELISA.....	10
Wichtige Hinweise vor Beginn	10
Vorbereitungen	10
Protokoll: ELISA.....	11
Auswertung	13
Validitätskriterien	13
Berechnung.....	13
Interpretation der Ergebnisse	14
Änderungsindex.....	15
Kurzanleitung für den pigtype PRRSV Ab	16

Kit-Inhalt

pigtype PRRSV Ab	(5)
Katalog-Nr.	PT272753
Anzahl der Platten	5
Test Plate (Testplatte): Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten, beschichtet mit rekombinanten, inaktivierten EU- und NA-spezifischen Antigenen	5
Sample Diluent (Verdünnungspuffer), gebrauchsfertig	1 x 125 ml
Negative Control (Negativkontrolle), gebrauchsfertig	2 x 3,5 ml
Positive Control (Positivkontrolle), gebrauchsfertig	2 x 3,5 ml
Wash Buffer, 10x concentrate (Waschpuffer, 10x Konzentrat)	2 x 125 ml
Conjugate (Konjugat), gebrauchsfertig	1 x 60 ml
TMB Substrate (TMB-[Tetramethylbenzidin]-Substratlösung), gebrauchsfertig	1 x 60 ml
Stop Solution (Stopplösung), gebrauchsfertig	1 x 60 ml
Gebrauchsinformation	1

Verwendungszweck

pigtype PRRSV Ab ist ein spezifischer und sensitiver ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen das PRRS-Virus (*Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus*) in Serum- und Plasmaproben vom Schwein.

Nur für den tierärztlichen Gebrauch.

Symbole



Legaler Hersteller



Chargennummer



Zur Verwendung bis



Zulässiger Temperaturbereich für die Lagerung



Gebrauchsinformation



Katalognummer



Materialnummer



Für Proben vom Schwein

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von INDICAL wird jede Charge des Tests pigtype PRRSV Ab nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Lagerung

Die Komponenten des pigtype PRRSV Ab ELISA sind bei 2-8°C zu lagern - unter diesen Lagerbedingungen sind sie mindestens bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Waschpuffer (10x) und Stopplösung können bei Raumtemperatur (18-25°C) gelagert werden, um die Bildung von Salzkristallen zu vermeiden. Falls der Kit Teststreifen enthält, sind nicht benutzte Teststreifen bis zur Verwendung im wieder verschlossenen Folienbeutel mit Trockenmittel bei 2-8°C zu lagern. Nach erstmaliger Öffnung des Plattenbeutels sind die Teststreifen mindestens 6 Wochen haltbar.

Sicherheitshinweise

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern entnehmen (safety data sheets, SDS). Diese erhalten sie von Ihrem lokalen Vertriebsmanager oder per Email von **compliance@indical.com**.



Vorsicht: Die Stopplösung enthält 0,5 mol/l Schwefelsäure.

Alle Reste von Proben und mit Proben in Berührung gekommene Gegenstände sind als potenziell infektiöse Materialien zu entsorgen bzw. zu dekontaminieren.

Einleitung

PRRSV-Infektionen sind bei Schweinen weit verbreitet und von großer wirtschaftlicher Bedeutung für die Schweineindustrie.

Das PRRS-Virus ist ein RNA-Virus aus der Ordnung *Nidovirales*, Familie *Arteriviridae*. PRRS-Viren werden in den europäischen (EU/I) und nordamerikanischen (NA/II) Genotyp unterteilt. Eine Infektion mit dem PRRS-Virus kann Atemwegserkrankungen bei Ferkeln und Fortpflanzungsstörungen bei trächtigen Sauen verursachen.

Serologische Methoden sind in der Diagnostik weit verbreitet. Der pigtype PRRSV Ab ist ein spezifischer und sensitiver ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen PRRSV (NA- und EU-Genotypen) in Serum- und Plasmaproben vom Schwein. Er ist somit auch eine effektive Methode, sowohl Impf- als auch Infektionsstatus von Schweineherden zu überwachen.

Testprinzip

igtype PRRSV Ab ist ein indirekter ELISA. Die Mikrotiterplatte ist mit rekombinanten PRRSV-Antigenen beschichtet, die spezifisch für NA- und EU-Genotypen des Virus sind. Während der Inkubation der Proben binden PRRSV-spezifische Antikörper an die immobilisierten Antigene. Ungebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Die an das Antigen gebundenen Antikörper werden durch das HRP-Konjugat detektiert. Ungebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt. Durch Zugabe der Substratlösung wird eine Farbreaktion gestartet, die nach 10 Minuten wieder gestoppt wird. Sind PRRSV-spezifische Antikörper in der Probe vorhanden, bewirkt die Peroxidase eine blaue Farbentwicklung, die nach Abstoppen der Reaktion nach gelb umschlägt. Die optische Dichte (OD) wird im Photometer bei 450 nm

gemessen. Die OD-Werte korrelieren mit der Konzentration NA/EU-spezifischer PRRSV-Antikörper in der Probe.

Zusätzlich benötigte Materialien

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (safety data sheets, SDS) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

- Bechergläser
- Messzylinder
- Pipetten (verstellbar)
- Mehrkanalpipetten (verstellbar)
- Alufolie oder Abklebefolie zum Abdecken der Testplatte
- Optional: Gerät zum Einfüllen und Absaugen von Waschpuffer
- Mikrotiterplatten-Photometer
- Reaktionsgefäße oder Vorverdünnungsplatten für die Verdünnung der Proben
- Destilliertes Wasser

Wichtige Hinweise

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

Folgendes sollte vom Anwender immer beachtet werden:

- Setzen Sie die TMB-Substratlösung während der Testdurchführung nicht starkem Lichteinfluss oder direktem Sonnenlicht aus.
- Die Komponenten des Testkits dürfen nicht verunreinigt und nicht mit Komponenten aus anderen Chargen vermischt werden.
- Benutzen Sie die Komponenten des Testkits nicht nach Ablauf des Verfallsdatums.
- Das für die Verdünnung des Waschpufferkonzentrates (10x) verwendete Wasser, insbesondere Wasser aus Ionenaustauscheranlagen, kann bei ungenügender Reinheit die Reaktion beeinträchtigen. Wasser mit der Qualität von bidestilliertem Wasser oder Reinstwasser (z. B. Milli-Q®) ist geeignet.
- Die Verwendung sorgfältig gereinigter Glasmaterialien, sorgfältiges Pipettieren und Waschen während der Testdurchführung und die genaue Einhaltung der angegebenen Inkubationszeiten sind unabdingbare Voraussetzungen, um die Genauigkeit der Messergebnisse zu gewährleisten.

Protokoll: Durchführung des ELISA

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Lesen Sie bitte den Abschnitt "Wichtige Hinweise" auf Seite 9, bevor Sie mit der Durchführung beginnen.
- Serum- und Plasmaproben können vorverdünnt oder direkt in der Testplatte verdünnt werden.
- Die Kontrollen sind gebrauchsfertig und müssen nicht verdünnt werden.

Vorbereitungen

- Reagenzien unmittelbar vor der Benutzung auf Raumtemperatur (18-25°C) bringen und durch Schwenken mischen. Eventuell gebildete Salzkristalle im Waschpuffer (10x) müssen durch Schwenken und leichtes Erwärmen wieder aufgelöst werden.
- Waschpuffer (10x) 1:10 mit destilliertem Wasser verdünnen, z.B. für eine Testplatte 50 ml Waschpuffer (10x) in 450 ml destilliertem Wasser verdünnen und mischen.
- Falls gewünscht, können Serum- und Plasmaproben vor der Analyse vorverdünnt werden. Proben **1:40** mit Verdünnungspuffer verdünnen (z.B. 5 µl Probe in 195 µl Probenverdünner) und gut mischen. Verwenden Sie Plastik-Reaktionsgefäße oder unbeschichtete Vorverdünnungsplatten zur Verdünnung. Nach jeder Probe die Pipettenspitze wechseln.

Protokoll: ELISA

- Bitte lesen Sie den Abschnitt "Vorbereitungen" auf Seite 10.

Durchführung

1. Falls vorverdünnte Proben verwendet werden, bei Schritt 1a beginnen. Falls Proben verwendet werden, die erst in der Testplatte verdünnt werden, bei Schritt 1b beginnen.

- 1a. Jeweils 100 µl der gebrauchsfertigen Negativ- und Positivkontrolle (in Doppelbestimmung) sowie der **1:40 vorverdünnten** Serum- oder Plasmaproben in die Kavitäten der Testplatte pipettieren. Mit Schritt 2 fortfahren.

Hinweis: Halten Sie die Positionen der Kontrollen und Proben in einem Testprotokoll fest. Es wird die Verwendung einer Multikanalpipette für den Probentransfer empfohlen. Die Testplatte abdecken

- 1b. Jeweils 100 µl der gebrauchsfertigen Negativ- und Positivkontrolle (in Doppelbestimmung) in die Kavitäten der Testplatte pipettieren. 97,5 µl Verdünnungspuffer in die restlichen Kavitäten pipettieren und je 2,5 µl der **unverdünnten** Serum- oder Plasmaprobe hinzugeben. Gut mischen. Mit Schritt 2 fortfahren.

Hinweis: Halten Sie die Positionen der Kontrollen und Proben in einem Testprotokoll fest. Zum Durchmischen entweder einen Plattenschüttler verwenden oder die Flüssigkeit wiederholt auf- und abpipettieren. Die Testplatte abdecken.

2. Für 30 min bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren.
3. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
4. Jede Kavität 5x mit je 300 µl angesetztem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.

5. In jede Kavität 100 µl gebrauchsfertiges Konjugat geben und 30 min bei Raumtemperatur inkubieren.
6. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
7. Jede Kavität 5x mit je 300 µl angesetztem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.
8. In jede Kavität 100 µl TMB-Substratlösung pipettieren.
9. 10 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren. Beginn der Zeitmessung nach dem Befüllen der ersten Kavität.
10. Reaktion durch Zugabe von 100 µl Stopplösung pro Kavität stoppen. Die Stopplösung ist in der gleichen Reihenfolge wie die Substratlösung zuzugeben.
11. Messung der OD im Plattenphotometer bei 450 nm innerhalb von 20 min nach Abstoppen der Reaktion.
Optional kann zusätzlich bei 620-650 nm als Referenzwellenlänge gemessen werden.

Auswertung

Validitätskriterien

Die Ergebnisse sind gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt werden:

- Der Mittelwert (MW) der gemessenen OD-Werte der Positivkontrolle (PK) muss $\geq 0,5$ sein.
- Der MW der gemessenen OD-Werte der Negativkontrolle (NK) muss $\leq 0,3$ sein.

Bei ungültigen Testungen sollte der Test nach gründlichem Lesen der Gebrauchsinformation wiederholt werden.

Berechnung

Berechnen Sie aus den OD-Werten der Negativkontrolle (NK) und der Positivkontrolle (PK) jeweils die Mittelwerte (MW).

Berechnen Sie das Verhältnis der OD der Proben zum OD-Mittelwert der Positivkontrolle („S/P-Quotient“) nach der folgenden Formel:

$$S/P = \frac{OD_{\text{Probe}} - MW_{\text{OD}_{\text{NK}}}}{MW_{\text{OD}_{\text{PK}}} - MW_{\text{OD}_{\text{NK}}}}$$

Interpretation der Ergebnisse

- **Proben mit einem S/P-Quotienten $< 0,4$ werden als negativ befundet.**
Es wurden keine spezifischen Antikörper gegen PRRSV nachgewiesen.
- **Proben mit einem S/P-Quotienten $\geq 0,4$ werden als positiv befundet.**
Es wurden spezifische Antikörper gegen PRRSV nachgewiesen.

INDICAL bietet zum Nachweis von veterinärmedizinisch relevanten Pathogenen eine Auswahl verschiedener ELISA-Kits sowie real-time PCR und real-time RT-PCR Kits an.

Weitere Informationen zu den Produktgruppen bactotype, cador, cattletype, flocktype, pigtype und virotype finden Sie im Internet unter **www.indical.com**.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie in der jeweiligen INDICAL Kit-Gebrauchsinformation.

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarungen für den pigtype PRRSV Ab

Mit der Nutzung dieses Produkts erkennen Käufer und Anwender des Produkts die folgenden Bedingungen an:

1. Das Produkt darf nur gemäß den mit dem Produkt zur Verfügung gestellten Protokollen, dieser Gebrauchsinformation und mit den Komponenten, die im Kit geliefert werden, verwendet werden. INDICAL gewährt im Rahmen seiner Eigentumsrechte keinerlei Lizenz, die zum Kit gehörenden Komponenten mit anderen Komponenten, die nicht zum Kit gehören, zu verwenden oder zu kombinieren, mit Ausnahme der in mit dem Produkt zur Verfügung gestellten Protokollen, dieser Gebrauchsinformation sowie in zusätzlichen, unter www.indical.com verfügbaren Protokollen beschriebenen Anwendungen. Einige dieser zusätzlichen Protokolle wurden von Anwendern für andere Anwender zur Verfügung gestellt. Diese Protokolle wurden von INDICAL nicht vollständig getestet und optimiert. INDICAL gewährt auf diese Protokolle keine Garantie und übernimmt auch keine Garantie dafür, dass sie die Rechte Dritter nicht verletzen.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt INDICAL keinerlei Garantie dafür, dass dieser Kit und/oder die mit ihm durchgeführte(n) Anwendung(en) die Rechte Dritter nicht verletzen.
3. Dieser Kit und seine Komponenten sind für die einmalige Verwendung lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, wiederaufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. INDICAL lehnt außer der ausdrücklich gewährten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Anwender des Kits stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen könnten oder solche erleichtern könnten. INDICAL kann die Verbote dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung an jedem Ort gerichtlich geltend machen und wird sämtliche Ermittlungs- und Gerichtskosten, inklusive Anwaltsgebühren, zurückfordern, die ihm bei der Geltendmachung dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung oder irgendeines seiner geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Kit und/oder dessen Komponenten entstehen.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen können im Internet unter www.indical.com nachgelesen werden.

Warenzeichen/Markennamen: bactotype®, cador®, cattletype®, flocktype®, pigtype®, virotype® (INDICAL BIOSCIENCE GmbH); Milli-Q® (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Es kann nicht davon ausgegangen werden, dass die in dieser Gebrauchsinformation verwendeten Markennamen oder Warenzeichen ungeschützt sind, auch wenn sie nicht als Markenname oder Warenzeichen gekennzeichnet sind.

HB-1944-DE-004 © 2018-2019 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, alle Rechte vorbehalten.

Änderungsindex

Gebrauchsinformation	Version	Änderung
HB-1944-DE-004	Mai 2019	Volumenerhöhung der Kontrollen
HB-1944-DE-003	August 2018	INDICAL-Design

Kurzanleitung für den pigtype PRRSV Ab

Probenverdünnung:

Serum, Plasma 1:40; gut durchmischen

Schritt	
1. Probe	100 µl/ Kavität
2. Inkubation	30 min bei RT
3. Waschen	5 x 300 µl
4. Konjugat	100 µl/ Kavität
5. Inkubation	30 min bei RT
6. Waschen	5 x 300 µl
7. TMB	100 µl/ Kavität
8. Inkubation	10 min bei RT
9. Stopp	100 µl/ Kavität
10. Messung	450 nm

Auswertung

Probe	Negativ	Positiv
Serum, Plasma	S/P < 0,4	S/P ≥ 0,4
