

pigtype[®] PRRSV Ab

Instrukcja obsługi

Do wykrywania przeciwciał przeciwko
wirusowi zespołu rozrodczo-oddechowego
świń (PRRSV)



5 płytek (nr kat. PT272753)



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

Spis treści

Zawartość zestawu	3
Przeznaczenie	4
Symbole	4
Kontrola jakości	5
Przechowywanie	5
Informacje dotyczące bezpieczeństwa	6
Wstęp	7
Zasada działania	7
Sprzęt i odczynniki zapewniane przez użytkownika	8
Ważne informacje	9
Ogólne środki bezpieczeństwa	9
Protokół: Procedura testu ELISA	10
Ważne informacje przed rozpoczęciem	10
Czynności do wykonania przed rozpoczęciem	10
Protokół: Test ELISA	11
Interpretacja danych	13
Kryteria walidacji	13
Obliczenia	13
Interpretacja wyników	14
Indeks zmian	15
Krótki poradnik dla zestawu pigtype PRRSV Ab	16

Zawartość zestawu

pigtype PRRSV Ab	(5)
Nr kat.	PT272753
Liczba płytek	5
Test Plate (Płytko testowa): płytka mikrotitracyjna z 96 studzienkami opłaszczonymi rekombinowanymi, inaktywowanymi antygenami swoistymi dla szczepów EU i NA wirusa PRRS	5
Sample Diluent (Rozcieńczalnik do próbek), gotowy do użycia	1 x 125 ml
Negative Control (Kontrola negatywna), gotowa do użycia	2 x 3,5 ml
Positive Control (Kontrola pozytywna), gotowa do użycia	2 x 3,5 ml
Wash Buffer (Bufor płuczający), koncentrat 10x	2 x 125 ml
Conjugate (Koniugat), gotowy do użycia	1 x 60 ml
TMB Substrate (Substrat TMB), gotowy do użycia	1 x 60 ml
Stop Solution (Roztwór hamujący), gotowy do użycia	1 x 60 ml
Instrukcja obsługi	1

Przeznaczenie

Zestaw pigtype PRRSV Ab to swoisty i czuły test ELISA przeznaczony do wykrywania przeciwciał przeciwko *wirusowi zespołu rozrodczo-oddechowego świń* (PRRSV) w próbkach surowicy i osocza pobranych od świń.

Produkt wyłącznie do zastosowań weterynaryjnych.

Symbole



Oficjalny producent



Numer serii



Termin ważności



Zakres dopuszczalnych temperatur przechowywania



Instrukcja obsługi



Numer katalogowy



Numer materiału



Do stosowania z próbkami pochodzenia świńskiego

Kontrola jakości

Zgodnie z poświadczonym certyfikatem ISO systemem zarządzania jakością firmy INDICAL każda seria zestawu pigtype PRRSV Ab jest testowana pod kątem wstępnie ustalonych specyfikacji w celu zapewnienia spójnej jakości produktu.

Przechowywanie

Składniki zestawu pigtype PRRSV Ab przeznaczonego do wykonywania testu ELISA należy przechowywać w temperaturze 2-8°C, w której zachowują stabilność do terminu ważności podanego na etykiecie. Bufor Wash Buffer (10x) i roztwór Stop Solution można przechowywać w temperaturze pokojowej (18-25°C), aby uniknąć krystalizacji soli. Jeśli do zestawu dołączono paski testowe, pozostałe paski należy zamknąć w torebce foliowej zawierającej środek osuszający i przechowywać je do następnego użycia w temperaturze 2–8°C. Po otwarciu torebki z płytką paski testowe można przechowywać przez przynajmniej 6 tygodni.

Informacje dotyczące bezpieczeństwa

Podczas pracy ze środkami chemicznymi należy zawsze używać odpowiedniego fartucha laboratoryjnego, rękawiczek jednorazowych i okularów ochronnych. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z odpowiednimi kartami charakterystyki (safety data sheet, SDS). Można je uzyskać od lokalnego przedstawiciela handlowego lub wysyłając zapytanie na adres e-mail compliance@indical.com.



OSTRZEŻENIE: Roztwór Stop Solution zawiera 0,5 M kwas siarkowy.

Wszystkie pozostałości próbek oraz obiekty, które miały kontakt z próbkami, należy poddać dekontaminacji lub utylizacji jako materiały potencjalnie zakaźne.

Wstęp

Zakażenia wirusem PRRS u świń są szeroko rozpowszechnione i mają negatywny wpływ na przemysł trzody chlewnej z ekonomicznego punktu widzenia.

Wirus PRRS to wirus RNA, który należy do rodziny *Arteriviridae*, rzędu *Nidovirales*. Wirusy PRRS podzielono na dwa genotypy — genotyp europejski (EU/I) i genotyp północnoamerykański (NA/II). Zakażenia wirusem PRRS mogą powodować choroby układu oddechowego u prosiąt i zaburzenia w rozrodzie u ciężarnych loch.

Badania serologiczne są powszechnie stosowane jako narzędzie do celów diagnostycznych. pigtype PRRSV Ab to wysoce czuły i swoisty roztwór przeznaczony do wykrywania przeciwciał przeciwko wirusowi PRRS (wirusu typu NA i EU) w próbkach surowicy i osocza pobranych od świń. Z tego względu jest to skuteczna metoda monitorowania statusu stada świń pod kątem szczepień lub zakażeń.

Zasada działania

Zestaw pigtype PRRSV Ab to pośredni test ELISA. Testowa płytka mikrotitracyjna jest opłaszczona rekombinowanymi antygenami wirusa PRRS, swoistymi dla typów NA i EU wirusa. Podczas inkubacji próbki przeciwciała swoiste dla wirusa PRRS wiążą się z immobilizowanym antygenem. Niezwiązany materiał jest usuwany na drodze płukania. Przeciwciała związane z antygenem są wykrywane za pomocą koniugatu peroksydazy chrzanowej (horseradish peroxidase, HRP). Niezwiązany koniugat jest usuwany na drodze płukania. Dodanie roztworu Substrate Solution powoduje zainicjowanie reakcji kolorymetrycznej, którą przerywa się po 10 minutach. Jeśli przeciwciała swoiste dla wirusa PRRS są obecne w próbce, rozwinie się niebieska barwa, która po dodaniu roztworu Stop Solution zmienia się na żółtą.

Gęstość optyczna (optical density, OD) jest mierzona w spektrofotometrze przy długości fali 450 nm. Wartość OD jest skorelowana ze stężeniem przeciwciał swoistych dla szczepów NA/EU wirusa PRRS w próbce.

Sprzęt i odczynniki zapewniane przez użytkownika

Podczas pracy ze środkami chemicznymi należy zawsze używać odpowiedniego fartucha laboratoryjnego, rękawiczek jednorazowych i okularów ochronnych. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z kartami charakterystyki (SDS) uzyskanymi od producentów poszczególnych produktów.

- Zlewki
- Cylindry miarowe
- Pipety (z regulacją)
- Pipety wielokanałowe (z regulacją)
- Folia aluminiowa lub samoprzylepna do zakrycia płytki testowej
- Opcjonalnie: Urządzenie do dozowania i aspiracji buforu Wash Buffer
- Czytnik absorbancji płytki mikrotitracyjnej
- Probówki lub płytki do rozcieńczania próbek
- Woda destylowana

Ważne informacje

Ogólne środki bezpieczeństwa

Użytkownik powinien zawsze zwracać uwagę na następujące kwestie:

- Podczas wykonywania testu nie wolno narażać roztworu TMB Substrate Solution na działanie intensywnego światła lub światła słonecznego.
- Nie dopuszczać do zanieczyszczenia lub mieszania składników zestawu testowego ze składnikami pochodzącymi z innych partii.
- Nie stosować składników zestawu testowego po ich terminie ważności.
- Jeśli używana do rozcieńczania buforu Wash Buffer (10x) woda pochodząca z systemów wymiany jonowej nie będzie wystarczająco czysta, mogą wystąpić zakłócenia w przebiegu testu. Należy stosować wodę podwójnie destylowaną lub wysoko oczyszczoną (Milli-Q®).
- Aby zapewnić dokładność wyników testu, podczas wykonywania testu niezbędne jest stosowanie czystych naczyń szklanych oraz ostrożne i dokładne pipetowanie oraz płukanie, jak również ściśle przestrzeganie wymaganych czasów inkubacji.

Protokół: Procedura testu ELISA

Ważne informacje przed rozpoczęciem

- Przed rozpoczęciem należy zapoznać się z sekcją „Ważne informacje” zamieszczoną na stronie 9.
- Próbkę surowicy i osocza można rozcieńczyć przed analizą lub bezpośrednio na płycie Test Plate.
- Kontrole są gotowe do użycia i nie wymagają rozcieńczenia.

Czynności do wykonania przed rozpoczęciem

- Wyrównać temperaturę odczynników z temperaturą pokojową (18–25°C) bezpośrednio przed użyciem. Jeśli w buforze Wash Buffer (10x) są obecne wytrącone kryształki soli, należy je rozpuścić, delikatnie mieszając i ogrzewając naczynie.
- Rozcieńczyć bufor Wash Buffer (10x) w stosunku 1:10 w wodzie destylowanej. Na przykład dla jednej płytki Test Plate należy rozcieńczyć 50 ml buforu Wash Buffer (10x) w 450 ml wody destylowanej, a następnie wymieszać.
- W razie potrzeby próbki surowicy i osocza można rozcieńczyć przed analizą. Rozcieńczyć próbki surowicy lub osocza w stosunku **1:40** w rozcieńczalniku Sample Diluent (na przykład rozcieńczyć 5 µl próbki w 195 µl rozcieńczalnika Sample Diluent), a następnie dobrze wymieszać. Do rozcieńczeń używać probówek wykonanych z tworzywa sztucznego lub nieopłaszczonych płytek mikrotitracyjnych. Używać nowej końcówki do pipety dla każdej próbki.

Protokół: Test ELISA

Przed rozpoczęciem należy zapoznać się z sekcją „Czynności do wykonania przed rozpoczęciem” zamieszczoną na stronie 10.

Procedura

1. W przypadku używania próbek, które rozcieńczono przed analizą, przejść do kroku 1a. Jeśli próbki będą rozcieńczane na płytce Test Plate, przejść do kroku 1b.

1a. Za pomocą pipety przenieść po 100 µl kontroli Negative Control (w dwóch powtórzeniach), kontroli Positive Control (w dwóch powtórzeniach) oraz próbek surowicy lub osocza **wstępnie rozcieńczonych w stosunku 1:40** do studzienek płytki Test Plate. Przejść do kroku 2.

Uwaga: zapisać pozycje kontroli i próbek w protokole testu. Do przenoszenia próbek zalecamy używanie pipety wielokanałowej. Przykryć płytkę Test Plate.

1b. Za pomocą pipety przenieść po 100 µl kontroli Negative Control (w dwóch powtórzeniach) oraz kontroli Positive Control (w dwóch powtórzeniach) do studzienek płytki Test Plate. Rozdzielić po 97,5 µl rozcieńczalnika Sample Diluent do każdej studzienki na próbkę na płytce Test Plate, a następnie dodać 2,5 µl **nierozcieńzonej** próbki surowicy lub osocza. Dobrze wymieszać. Przejść do kroku 2.

Uwaga: zapisać pozycje kontroli i próbek w protokole testu. Wymieszać, używając wytrząsarki do płytek lub kilka razy pipetując w górę i w dół. Przykryć płytkę Test Plate.

2. Inkubować przez 30 min w temperaturze pokojowej (18-25°C).

3. Usunąć roztwór ze studzienek, aspirując lub ostukując.

4. 5 razy przepłukać każdą studzienkę przy użyciu 300 µl przygotowanego buforu Wash Buffer (1x). Po każdym płukaniu usunąć bufor, aspirując lub ostukując.
5. Za pomocą pipety przenieść 100 µl gotowego do użycia koniugatu Conjugate do każdej studzienki i inkubować przez 30 minut w temperaturze pokojowej.
6. Usunąć roztwór ze studzienek, aspirując lub ostukując.
7. 5 razy przepłukać każdą studzienkę przy użyciu 300 µl przygotowanego buforu Wash Buffer (1x). Po każdym płukaniu usunąć bufor, aspirując lub ostukując.
8. Za pomocą pipety przenieść 100 µl roztworu TMB Substrate Solution do każdej studzienki.
9. Inkubować w ciemnym miejscu w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Pomiar czasu należy rozpocząć od momentu napełnienia pierwszej studzienki.
10. Zatrzymać reakcję, dodając 100 µl roztworu Stop Solution do każdej studzienki. Dodać roztwór Stop Solution w takiej samej kolejności, jak dodawano roztwór Substrate Solution.
11. W ciągu 20 minut od zatrzymania reakcji zmierzyć wartość OD w czytniku płytek przy długości fali 450 nm.

Pomiar przy referencyjnej długości fali (620–650 nm) jest opcjonalny.

Interpretacja danych

Kryteria walidacji

Wyniki uznaje się za prawidłowe, jeżeli spełnione są poniższe kryteria:

- średnia wartość (mean value, MV) zmierzonej wartości OD kontroli Positive Control (PC) musi być $\geq 0,5$;
- średnia wartość (MV) zmierzonej wartości OD kontroli Negative Control (NC) musi być $\leq 0,3$.

W przypadku nieprawidłowych oznaczeń należy ponownie wykonać test, dokładnie zapoznając się wcześniej z instrukcją użycia.

Obliczenia

Obliczyć MV zmierzonej wartości OD dla kontroli Negative Control (NC) i kontroli Positive Control (PC).

Stosunek (S/P) wartości OD próbki do średniej wartości OD kontroli Positive Control jest obliczany zgodnie z poniższym równaniem:

$$S/P = \frac{OD_{\text{próbki}} - MV_{OD_{NC}}}{MV_{OD_{PC}} - MV_{OD_{NC}}}$$

Interpretacja wyników

- **Próbki, dla których stosunek S/P jest $< 0,4$, są negatywne.**
Nie udało się w nich wykryć przeciwciał swoistych dla wirusa PRRS.
- **Próbki, dla których stosunek S/P jest $\geq 0,4$, są pozytywne.**
Wykryto w nich przeciwciała swoiste dla wirusa PRRS.

Firma INDICAL oferuje szeroki wachlarz zestawów testowych ELISA oraz zestawów do reakcji PCR w czasie rzeczywistym i RT-PCR w czasie rzeczywistym przeznaczonych do wykrywania zwierzęcych czynników chorobotwórczych.

Aby uzyskać więcej informacji na temat produktów bactotype, cador, cattletype, flocktype, pigtype i virotype należy odwiedzić stronę www.indical.com.

Aktualne informacje licencyjne oraz dotyczące wyłączenia odpowiedzialności dla poszczególnych produktów znajdują się w odpowiedniej instrukcji obsługi lub podręczniku użytkownika zestawu firmy INDICAL.

Ograniczona umowa licencyjna dla zestawu pigtype PRRSV Ab

Korzystanie z tego produktu oznacza zgodę nabywcy lub użytkownika produktu na następujące warunki:

1. Niniejszy produkt może być użytkowany wyłącznie zgodnie z protokołem dołączonym do produktu oraz niniejszą instrukcją i wyłącznie ze składnikami znajdującymi się w tym zestawie. Firma INDICAL nie udziela żadnej licencji w zakresie praw własności intelektualnej do użytkowania niniejszego zestawu ze składnikami nienależącymi do zestawu z wyjątkiem przypadków opisanych w wytycznych dołączonych do produktu, niniejszej instrukcji oraz dodatkowych wytycznych dostępnych na stronie www.indical.com. Niektóre dodatkowe protokoły zostały sformułowane przez użytkowników rozwiązań INDICAL z myślą o innych użytkownikach rozwiązań INDICAL. Takie protokoły nie zostały dokładnie przetestowane ani poddane procesowi optymalizacji przez firmę INDICAL. Firma INDICAL nie gwarantuje, że nie naruszają one praw osób trzecich.
2. Z wyjątkiem wyraźnie określonych licencji, firma INDICAL nie udziela gwarancji, że niniejszy zestaw i/lub jego użytkowanie nie narusza praw osób trzecich.
3. Zestaw oraz jego składniki są przeznaczone do jednorazowego użytku, nie można ich ponownie używać, regenerować ani odsprzedawać.
4. Firma INDICAL nie udziela innych licencji wyrażonych lub dorozumianych poza tymi, które są wyraźnie określone.
5. Nabywca i użytkownik zestawu zobowiązuje się nie podejmować działań ani nie zezwalać innym osobom na podejmowanie działań, które mogą doprowadzić do wykonania lub umożliwić wykonanie zabronionych czynności wymienionych powyżej. Firma INDICAL może egzekwować zakazy niniejszej Ograniczonej umowy licencyjnej w sądzie i będzie dochodzić odzyskania wszystkich kosztów sądowych i procesowych, w tym wynagrodzeń prawników, w odniesieniu do wszelkich działań, które będą miały na celu wykonanie postanowień niniejszej Ograniczonej umowy licencyjnej lub praw do własności intelektualnej związanych z tym zestawem i/lub jego składnikami.

Aktualne warunki licencji są dostępne na stronie www.indical.com.

Znaki towarowe: bactotype[®], cador[®], cattletype[®], flocktype[®], pigtype[®], virotype[®] (INDICAL BIOSCIENCE GmbH); Milli-Q[®] (Merck KGaA, Darmstadt, Niemcy). Zarejestrowane nazwy, znaki towarowe itp. wykorzystane w niniejszym dokumencie, nawet jeśli nie są specjalnie oznakowane, nie mogą być uznawane jako prawnie niechronione.

HB-1944-PL-004 © 2018-2019 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, wszelkie prawa zastrzeżone.

Indeks zmian

Instrukcja obsługi	Wersja	Zmiana
HB-1944-PL-004	Maj 2019 r.	Zmiana objętość kontrola
HB-1944-PL-003	Sie 2018 r.	Projekt firmy INDICAL

Krótki poradnik dla zestawu pigtype PRRSV Ab

Rozcieńczenie próbki:

Surowica, osocze w stosunku 1:40; dobrze wymieszać

Krok	
1. Próbką	100 µl/ studzienkę
2. Inkubacja	30 min w temp. pokojowej
3. Bufor Wash	5 x 300 µl
4. Conjugate	100 µl/ studzienkę
5. Inkubacja	30 min w temp. pokojowej
6. Bufor Wash	5 x 300 µl
7. TMB	100 µl/ studzienkę
8. Inkubacja	10 min w temp. pokojowej
9. Roztwór Stop	100 µl/ studzienkę
10. Odczyt	450 nm

Interpretacja danych

Próbka	Negatywna	Pozytywna
Surowica, osocze	S/P < 0,4	S/P ≥ 0,4
