

virotype[®] PRRSV EU Vax RT-PCR Kit

Gebrauchsinformation

Zum Nachweis von Impfstoff-RNA des
PRRS-1-Virus (*Porcine Reproductive and
Respiratory Syndrome Virus*)



50 Proben (Katalog-Nr. VT282365)



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

Inhalt

| | |
|--|----|
| Kit-Inhalt | 3 |
| Verwendungszweck..... | 3 |
| Symbole | 4 |
| Qualitätskontrolle..... | 4 |
| Lagerung | 5 |
| Sicherheitshinweise | 5 |
| Einleitung | 6 |
| Testprinzip | 7 |
| RNA-Extraktion..... | 9 |
| Zusätzlich benötigte Materialien..... | 10 |
| Wichtige Hinweise | 11 |
| Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen | 11 |
| Protokoll: Real-time RT-PCR zum Nachweis der RNA von PRRSV-1- Impfstoffen | 13 |
| Wichtige Hinweise vor Beginn..... | 13 |
| Vorbereitungen..... | 13 |
| Durchführung..... | 14 |
| Auswertung | 16 |
| Interpretation der Ergebnisse..... | 16 |
| Änderungsindex..... | 28 |

Kit-Inhalt

| | |
|--|------------|
| virotype PRRSV EU Vax RT-PCR Kit | (50) |
| Katalog-Nr. | VT282365 |
| Anzahl der Reaktionen | 2 x 50 |
| Master Mix A (Porcilis® PRRS, ReproCyc® PRRS EU oder Ingelvac PRRSFLEX® EU, grüner Deckel) enthält Primer, Sonden und Enzyme | 1 x 850 µl |
| Master Mix B (UNISTRAIN® PRRS, Suvaxyn® PRRS MLV, gelber Deckel) enthält Primer, Sonden und Enzyme | 1 x 850 µl |
| Positive Control (Positivkontrolle, roter Deckel) | 1 x 150 µl |
| Negative Control (Negativkontrolle, blauer Deckel) | 1 x 150 µl |
| Gebrauchsinformation | 1 |

Verwendungszweck

Der virotype PRRSV EU Vax RT-PCR Kit ist ein real-time Multiplex RT-PCR Kit, vorgesehen für den gleichzeitigen Nachweis von Impfstoffen des europäischen Genotyps des *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus* (PRRSV). Der Nachweis der RNA kann aus einer Vielzahl von Probenotypen wie Serum, Gewebe, Speichel, Nasentupfer und *processing fluids* nachgewiesen werden.

Nur für den tierärztlichen Gebrauch.

Symbole



Legaler Hersteller



Chargenbezeichnung



Zur Verwendung bis



Zulässiger Temperaturbereich für die Lagerung



Gebrauchsinformation



Katalognummer



Materialnummer



Vor Licht schützen



Für Proben vom Schwein

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von INDICAL wird jede Charge des Tests virotype PRRSV EU Vax RT-PCR Kit nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Lagerung

Die Komponenten des virotype PRRSV EU Vax RT-PCR Kits sind bei -30°C bis -15°C zu lagern – unter diesen Lagerbedingungen sind sie mindestens bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Vermeiden Sie wiederholtes Auftauen und Einfrieren (**maximal 3x**), da dadurch die Sensitivität des Assays verringert werden kann. Falls die Komponenten nur gelegentlich verwendet werden, frieren Sie sie aufgeteilt in Aliquots ein.

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**.

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

Einleitung

Der virotype PRRSV EU Vax RT-PCR Kit ist für den gleichzeitigen Nachweis von Impfstämmen vom europäischen Genotyp des *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus* (PRRSV) in Proben von Schweinen mittels real-time Multiplex RT-PCR bestimmt. In der Schweineindustrie ist PRRSV nach wie vor ein bedeutender Erreger, der Atemwegserkrankungen bei Ferkeln und Reproduktionsstörungen bei trächtigen Sauen verursacht.

Der Nachweis europäischer PRRSV-Impfstämme ist für die Überwachung von Impfprogrammen und die Unterscheidung zwischen Wildtyp- und Impfstämmen von entscheidender Bedeutung. Eine Screening-PCR wie der virotype PRRSV 2.0 RT-PCR Kit (VT282325) zeigt das Vorhandensein des PRRSV EU-Genotyps (PRRSV-1) an, aber eine zusätzliche PCR ist erforderlich, um festzustellen, ob es sich um einen Impfstamm handelt.

Der Kit ermöglicht die gleichzeitige Identifizierung von allen wichtigen europäischen PRRSV-Impfstoffen, darunter in Master Mix A Porcilis® PRRS (MSD Animal Health, Intervet Deutschland GmbH, Deutschland) und ReproCyc® PRRS EU oder Ingelvac PRRSFLEX® EU (Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Deutschland) und in Master Mix B UNISTRAIN® PRRS (Laboratorios Hipra S.A., Spanien) und Suvaxyn® PRRS MLV (Zoetis Belgium S.A., Belgien), die in Europa üblicherweise zur aktiven Immunisierung von Schweinen gegen PRRSV-Infektionen verwendet werden.

Diese abgeschwächten Lebendimpfstoffe basieren auf PRRSV-1-Stämmen, die in West- und Mitteleuropa am häufigsten vorkommen, aber auch weltweit zu finden sind.

Der Kit kann mit extrahierter RNA aus einer Vielzahl von Probenarten verwendet werden, darunter Serum, Gewebe, Speichel, Nasentupfer und *processing fluids*.

Testprinzip

Beim Nachweis von Pathogenen mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden spezifische Bereiche aus dem Genom des Pathogens amplifiziert. Bei der real-time PCR wird das entstandene Amplifikat mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen detektiert. Diese sind in der Regel an Oligonukleotid-Sonden gekoppelt, die spezifisch an das Amplifikat binden. Die Beobachtung des Verlaufs der Fluoreszenzintensität während der PCR in Echtzeit („real-time PCR“) ermöglicht den Nachweis des sich anreichernden Produkts, ohne die Reaktionsgefäße danach wieder öffnen zu müssen.

Der virotype PRRSV EU Vax RT-PCR Kit enthält alle Reagenzien, die für den Nachweis der PRRSV-Impfstoff-RNA notwendig sind, einschließlich Positiv- und Negativkontrolle. Mit diesem Kit werden reverse Transkription und PCR im gleichen Reaktionsgefäß durchgeführt, welches die Kontaminationsgefahr verringert.

Eine exogene interne Kontrolle schließt die Möglichkeit von falsch-negativen Ergebnissen aus.

Im Kit werden drei spezifische Primer-Sonden-Kombinationen pro Master Mix verwendet:

Master Mix A:

- FAM™-Fluoreszenz für RNA von Porcilis® PRRS
- Cy[®]5-Fluoreszenz für RNA von ReproCyc® PRRS EU oder Ingelvac PRRSFLEX® EU
- JOE™-Fluoreszenz für die exogene Interne Kontrolle

Master Mix B:

- FAM-Fluoreszenz für RNA von UNISTRAIN® PRRS
- Cy5-Fluoreszenz für RNA von Suvaxyn® PRRS MLV
- JOE-Fluoreszenz für die exogene Interne Kontrolle

Mit der Positivkontrolle wird die Funktionalität des Reaktionsgemisches für die Amplifikation der PRRSV-RNA-Targets nachgewiesen.

RNA-Extraktion

Der virotype PRRSV EU Vax RT-PCR Kit ist ein real-time RT-PCR Kit, vorgesehen zum gleichzeitigen Nachweis von PRRSV-Impfstoffen in extrahierter RNA aus einer Vielzahl von Probenotypen wie Serum, Gewebe, Speichel, Nasentupfer und *processing fluids*.

Vor der real-time PCR muss die virale RNA aus dem Ausgangsmaterial extrahiert werden. INDICAL bietet für die RNA-Extraktion aus Tierproben validierte Produkte an.

Extraktionskits mittels "magnetic bead"-Verfahren:

- **IndiMag® Pathogen Kit** (SP947457)
- **IndiMag Pathogen Kit w/o plastics** (SP947257)
- **IndiMag Pathogen IM2 Cartridge** (SP957654C608)
- **IndiMag Pathogen IM48 Cartridge** (SP947654P608, SP947654P224)
- **IndiMag Pathogen KF96 Cartridge** (SP947855P196, SP947855P496, SP947855P1696)

Extraktionskits mit Verwendung von Spin Columns:

- **IndiSpin® Pathogen Kit** (SP54104, SP54106)
- **IndiSpin QIAcube® HT Pathogen Kit** (SP54161)

Falls die real-time RT-PCR nicht unmittelbar nach der Extraktion durchgeführt wird, lagern Sie die RNA bei -20°C, bzw. bei -80°C für längere Zeit.

Für weitere Informationen zur automatisierten oder manuellen Extraktion von PRRSV-RNA aus verschiedenen Probenmatrices, lesen Sie entweder das entsprechende Handbuch oder kontaktieren Sie

den INDICAL Support unter support@indical.com.

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.

- Pipetten
- Nuklease-freie, aerosolgeschützte Pipettenspitzen mit Filter
- Sterile 1,5 ml Eppendorf®-Reaktionsgefäße
- Nuklease-freie (RNase/ DNase-frei) Verbrauchsmaterialien
- Kühlvorrichtung oder Eis
- Tischzentrifuge mit Rotor für 1,5 ml Reaktionsgefäße
- Tischzentrifuge für PCR-Streifen oder optische 96-well Mikrotiterplatten
- Real-time Thermocycler mit geeigneten Fluoreszenzkanälen
- Geeignete Software für den gewählten Thermocycler
- Geeignete PCR-Streifen und Deckel oder optische 96-well Mikrotiterplatte mit optischer Verschlussfolie oder optischem Deckel für den gewählten Thermocycler

Wichtige Hinweise

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

Folgendes sollte vom Anwender immer beachtet werden:

- Nuklease-freie Pipettenspitzen mit Filter verwenden.
- Positivmaterial (Proben, Positivkontrollen, sowie Amplifikate) separat von allen anderen Reagenzien lagern und verarbeiten und in einem räumlich getrennten Bereich zum Reaktionsgemisch hinzufügen.
- Alle Komponenten vor Testbeginn **auf Eis** auftauen lassen. Vermeiden Sie wiederholtes Auftauen und Einfrieren (**maximal 3x**).
- Nach dem Auftauen die Komponenten durch Invertieren mischen und anschließend kurz an zentrifugieren.
- Die Komponenten des Testkits nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Proben und Kontrollen während des Ansetzens auf Eis oder in einem Kühlblock halten.

Negativkontrolle

Bei jedem PCR-Lauf sollte mindestens eine Negativkontrolle mitgeführt werden. Hierdurch können etwaige Kontaminationen im Reaktionsansatz entdeckt werden.

Positivkontrolle

Bei PCR-Ansätzen mit unbekanntem Proben wird empfohlen, eine Positivkontrolle im PCR-Lauf mitzuführen, das heißt eine Probe, von der bekannt ist, dass sie die interessierende virale RNA enthält. Mit einer Positivkontrolle wird die Funktionalität des Pathogentests nachgewiesen, also zum Beispiel das korrekte Ansetzen des Reaktionsgemisches. Setzen Sie 8 µl der im virotype PRRSV EU Vax RT-PCR Kit mitgelieferten Positivkontrolle ein, um die erfolgreiche Amplifikation der Zielsequenz zu überprüfen.

Extraktions- und Amplifikationskontrolle

Zusätzliche Prozesssicherheit und Benutzerfreundlichkeit wird durch den in Form einer weiteren Primer-Sonden-Kombination enthaltenen Internen Kontrollansatz gewährleistet. Damit ist eine Kontrolle der Amplifikation möglich.

Protokoll: Real-time RT-PCR zum Nachweis der RNA von PRRSV-1-Impfstoffen

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Lesen Sie bitte den Abschnitt "Wichtige Hinweise" auf Seite 11, bevor Sie mit der Durchführung beginnen.
- Führen Sie bei jedem PCR-Lauf mindestens eine Positivkontrolle (Positive Control) und eine Negativkontrolle (Negative Control) mit.
- Lesen Sie das Protokoll vollständig durch, bevor Sie mit der Durchführung beginnen, und stellen Sie sicher, dass Sie mit der Bedienung des gewählten real-time Thermocyclers vertraut sind.
- RNA ist instabil. Führen Sie das Protokoll ohne Unterbrechungen durch.

Vorbereitungen

- Alle Komponenten **auf Eis** auftauen lassen, vor Licht schützen. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren (**maximal 3x**) vermeiden.
- Die Reagenzien vor dem Gebrauch kurz anzentrifugieren.
- Während des Ansetzens der PCR die Reagenzien auf Eis oder in einem Gefrierack halten.

Durchführung

1. Vor Beginn den Master-Mix gut mischen (z.B. 5 x invertieren), anschließend kurz zentrifugieren.
2. 17 µl des Master-Mix in jedes Reaktionsgefäß pipettieren. Dann 8 µl der RNA-Probe hinzugeben (Tabelle 1).

Führen Sie Positiv- und Negativkontrolle mit.

Positivkontrolle: Anstelle der RNA-Probe 8 µl der Positivkontrolle (Positive Control) einsetzen.

Negativkontrolle: Anstelle der RNA-Probe 8 µl der Negativkontrolle (Negative Control) einsetzen.

Tabelle 1. Ansetzen des Reaktionsgemisches

| Komponente | Volumen |
|----------------------|--------------|
| Master-Mix A oder B | 17 µl |
| Probe | 8 µl |
| Gesamtvolumen | 25 µl |

3. Die Reaktionsgefäße mit den passenden Deckeln oder die PCR-Platte mit Folie verschließen und **mindestens 5 x kräftig invertieren**. Anschließend kurz zentrifugieren, um das Reaktionsgemisch am Boden der Vertiefungen zu sammeln.

4. In der Software des Thermocyclers die Filter für die Reporter gemäß Tabelle 2 einstellen.

Tabelle 2. Filtereinstellungen für den Reporter

| Pathogen/ Interne Kontrolle Master Mix A | Pathogen/ Interne Kontrolle Master Mix B | Reporter |
|--|--|--------------------------------------|
| Porcilis® PRRS | UNISTRAIN® PRRS | FAM |
| ReproCyc® PRRS EU oder Ingelvac PRRSFLEX® EU | Suvaxyn® PRRS MLV | Cy5 |
| Exogene Interne Kontrolle (IC) | Exogene Interne Kontrolle (IC) | JOE ¹ /HEX ^{TM1} |
| Passive Referenz ² | Passive Referenz ² | ROX TM |

1 Verwenden Sie die für den gewählten Thermocycler geeignete Einstellung

2 Interne Referenz für ABI PRISM® Sequence Detection Systems (Applied Biosystems®)

5. Das in Tabelle 3 gezeigte real-time RT-PCR-Protokoll verwenden.

Tabelle 3. Real-time RT-PCR Protokoll für PRRSV EU Vax

| Schritt | Temperatur | Zeit | Anzahl der Zyklen |
|--------------------------|------------|--------|-------------------|
| Reverse Transkription | 50°C | 10 min | 1 |
| Initiale Aktivierung | 95°C | 2 min | 1 |
| 2-Schritt-Cycling | | | |
| Denaturierung | 95°C | 5 s | 40 |
| Annealing/ Extension* | 60°C | 30 s | |

* Erfassung der Fluoreszenzdaten. PCR-Laufzeit ca. 66 min (ABI 7500 Real-Time PCR System, Thermo Fisher Scientific, Inc.)

Auswertung

Interpretation der Ergebnisse

Für eine gültige Messung müssen das FAM-, das Cy5- und das JOE/ HEX-Signal der Positivkontrolle einen C_T -Wert¹ kleiner als 35 ergeben ($C_T < 35$). Die Negativkontrolle muss ein JOE/ HEX-Signal aufweisen und darf kein Signal im FAM- und Cy5-Kanal zeigen.

Bei der Arbeit mit unbekanntem Proben sind die im Folgenden beschriebenen Ergebnisse möglich. Eine Zusammenfassung der möglichen Resultate finden Sie auch in Tabelle 4 auf Seite 20 und Tabelle 5 auf Seite 24.

¹ C_T , Threshold cycle (Schwellenzyklus) – Zyklus, in dem die Amplifikationskurve den Schwellenwert überschreitet, ab dem also erstmals ein klarer Anstieg der Fluoreszenz detektierbar ist

Master Mix A

Das Testergebnis ist positiv für den Porcilis® PRRS-Impfstoff und der Test ist gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

- Die Probe zeigt ein Signal sowohl im FAM- als auch im JOE / HEX-Kanal.
- Die Positivkontrolle zeigt ein Signal sowohl im FAM-, Cy5- als auch im JOE / HEX-Kanal.
- Die Negativkontrolle zeigt ausschließlich im JOE/ HEX-Kanal ein Signal.

Bei sehr hohen Ausgangskonzentrationen an PRRSV-RNA in der Probe kann es durch Konkurrenz mit dem internen Kontrollsystem zu schwachen oder ausbleibenden JOE-Signalen kommen.

Das Testergebnis ist positiv für den ReproCyc® PRRS EU- oder den Ingelvac PRRSFLEX® EU-Impfstoff und der Test ist gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

- Die Probe zeigt ein Signal sowohl im Cy5- als auch im JOE / HEX-Kanal.
- Die Positivkontrolle zeigt ein Signal sowohl im FAM-, Cy5- als auch im JOE / HEX-Kanal.
- Die Negativkontrolle zeigt ausschließlich im JOE/ HEX-Kanal ein Signal.

Bei sehr hohen Ausgangskonzentrationen an PRRSV-RNA in der Probe kann es durch Konkurrenz mit dem internen Kontrollsystem zu schwachen oder ausbleibenden JOE-Signalen kommen.

Das Testergebnis ist negativ für die Porcilis® PRRS- und ReproCyc® PRRS EU- / Ingelvac PRRSFLEX® EU-Impfstoffe und der Test ist gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

- Die Probe zeigt ausschließlich im JOE/ HEX-Kanal ein Signal.
- Die Positivkontrolle zeigt ein Signal sowohl im FAM-, Cy5- als auch im JOE / HEX-Kanal.
- Die Negativkontrolle zeigt ausschließlich im JOE/ HEX-Kanal ein Signal.

Das positive JOE-Fluoreszenzsignal schließt die Möglichkeit einer PCR-Inhibition aus, da die exogene Interne Kontrolle erfolgreich amplifiziert wurde.

Hinweis:

Ein positiver PCR-Test für einen PRRSV-Impfstamm kann die Möglichkeit eines rekombinanten (gemischten) Stamms zwischen verschiedenen Impfstämmen oder Impfstämmen und Feldstämmen nicht definitiv ausschließen. Diese Einschränkung ergibt sich daraus, dass PCR-Tests typischerweise auf spezifische Genomregionen abzielen, die Rekombinationsereignisse nicht erfassen können. Selbst eine Teilsequenzierung des PRRSV-Genoms kann nur Wahrscheinlichkeiten für die Stammzuordnung (Impfstoff-, Feld- oder rekombinanter Stamm) angeben. Um rekombinante PRRSV-Stämme genau nachzuweisen und zu charakterisieren, sind oft eine vollständige Genomsequenzierung und umfangreiche bioinformatische Analysen erforderlich.

Eine diagnostische Aussage ist nicht möglich und der Test ist ungültig, wenn folgende Situation auftritt:

- Die Probe zeigt in keinem der Fluoreszenzkanäle ein Signal.

Wenn weder im FAM-Kanal, im Cy5-Kanal noch im JOE/ HEX-Kanal (exogene Interne Kontrolle) ein Signal detektiert wurde, ist eine diagnostische Aussage nicht möglich. Das Ausbleiben eines Signals für die exogene Interne Kontrolle weist auf eine Inhibition der PCR und/ oder andere Probleme hin.

Zur Prüfung, ob eine Inhibition vorliegt, empfehlen wir, die jeweiligen RNA-Einzelproben 1:5 in Nuklease-freiem Wasser zu verdünnen, die RNA-Extraktion oder den gesamten Test mit frischem Probenmaterial zu wiederholen.

Überprüfen Sie, ob für die Positivkontrolle ein FAM-, Cy5- und JOE-Signal detektiert wurde. Ein Ausbleiben dieser Signale für die Positivkontrolle weist auf einen Fehler hin, beispielsweise einen Fehler beim Ansetzen des Reaktionsgemisches oder eine fehlerhafte Programmierung des PCR-Gerätes.

Tabelle 4. Tabelle zur Interpretation der Ergebnisse bei Nutzung von Master Mix A*

| Ergebnis der Probe | FAM Porcilis® | Cy5 ReproCyc®/ Ingelvac | JOE IC |
|--|------------------|-------------------------------|-----------|
| Porcilis® PRRS- positiv | X | | X |
| Porcilis® PRRS- stark positiv | X | | (X) |
| ReproCyc® PRRS EU / Ingelvac PRRSFLEX® EU- positiv | | X | X |
| ReproCyc® PRRS EU / Ingelvac PRRSFLEX® EU- stark positiv | | X | (X) |
| Porcilis® PRRS and ReproCyc® PRRS EU / Ingelvac PRRSFLEX® EU- negativ | | | X |
| Uneindeutig | | | |

* Die Ergebnisse können entsprechend interpretiert werden, vorausgesetzt, dass sowohl Positiv- als auch Negativkontrolle mitgetestet wurden. Die Positivkontrolle muss ein Signal im FAM-, Cy5- und JOE/ HEX-Kanal zeigen. Die Negativkontrolle muss ein JOE/ HEX-Signal aufweisen und darf kein Signal im FAM- und Cy5-Kanal zeigen. Eine ausführliche Erklärung aller möglichen Resultate finden Sie im Abschnitt „Auswertung“ für Master Mix A ab Seite 17.

Master Mix B

Das Testergebnis ist positiv für den UNISTRAIN® PRRS-Impfstoff und der Test ist gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

- Die Probe zeigt ein Signal sowohl im FAM- als auch im JOE / HEX-Kanal.
- Die Positivkontrolle zeigt ein Signal sowohl im FAM-, Cy5- als auch im JOE / HEX-Kanal.
- Die Negativkontrolle zeigt ausschließlich im JOE/ HEX-Kanal ein Signal.

Bei sehr hohen Ausgangskonzentrationen an PRRSV-RNA in der Probe kann es durch Konkurrenz mit dem internen Kontrollsystem zu schwachen oder ausbleibenden JOE-Signalen kommen.

Das Testergebnis ist positiv für den Suvaxyn® PRRS MLV-Impfstoff und der Test ist gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

- Die Probe zeigt ein Signal sowohl im Cy5- als auch im JOE / HEX-Kanal.
- Die Positivkontrolle zeigt ein Signal sowohl im FAM-, Cy5- als auch im JOE / HEX-Kanal.
- Die Negativkontrolle zeigt ausschließlich im JOE/ HEX-Kanal ein Signal.

Bei sehr hohen Ausgangskonzentrationen an PRRSV-RNA in der Probe kann es durch Konkurrenz mit dem internen Kontrollsystem zu schwachen oder ausbleibenden JOE-Signalen kommen.

Das Testergebnis ist negativ für die UNISTRAIN® PRRS and Suvaxyn® PRRS MLV -Impfstoffe und der Test ist gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

- Die Probe zeigt ausschließlich im JOE/ HEX-Kanal ein Signal.
- Die Positivkontrolle zeigt ein Signal sowohl im FAM-, Cy5- als auch im JOE / HEX-Kanal.
- Die Negativkontrolle zeigt ausschließlich im JOE/ HEX-Kanal ein Signal.

Das positive JOE-Fluoreszenzsignal schließt die Möglichkeit einer PCR-Inhibition aus, da die exogene Interne Kontrolle erfolgreich amplifiziert wurde.

Hinweis:

Ein positiver PCR-Test für einen PRRSV-Impfstamm kann die Möglichkeit eines rekombinanten (gemischten) Stamms zwischen verschiedenen Impfstämmen oder Impfstämmen und Feldstämmen nicht definitiv ausschließen. Diese Einschränkung ergibt sich daraus, dass PCR-Tests typischerweise auf spezifische Genomregionen abzielen, die Rekombinationsereignisse nicht erfassen können. Selbst eine Teilsequenzierung des PRRSV-Genoms kann nur Wahrscheinlichkeiten für die Stammzuordnung (Impfstoff-, Feld- oder rekombinanter Stamm) angeben. Um rekombinante PRRSV-Stämme genau nachzuweisen und zu charakterisieren, sind oft eine vollständige Genomsequenzierung und umfangreiche bioinformatische Analysen erforderlich.

Eine diagnostische Aussage ist nicht möglich und der Test ist ungültig, wenn folgende Situation auftritt:

- Die Probe zeigt in keinem der Fluoreszenzkanäle ein Signal.

Wenn weder im FAM-Kanal, im Cy5-Kanal noch im JOE/ HEX-Kanal (exogene Interne Kontrolle) ein Signal detektiert wurde, ist eine diagnostische Aussage nicht möglich. Das Ausbleiben eines Signals für die exogene Interne Kontrolle weist auf eine Inhibition der PCR und/ oder andere Probleme hin.

Zur Prüfung, ob eine Inhibition vorliegt, empfehlen wir, die jeweiligen RNA-Einzelproben 1:5 in Nuklease-freiem Wasser zu verdünnen, die RNA-Extraktion oder den gesamten Test mit frischem Probenmaterial zu wiederholen.

Überprüfen Sie, ob für die Positivkontrolle ein FAM-, Cy5- und JOE-Signal detektiert wurde. Ein Ausbleiben dieser Signale für die Positivkontrolle weist auf einen Fehler hin, beispielsweise einen Fehler beim Ansetzen des Reaktionsgemisches oder eine fehlerhafte Programmierung des PCR-Gerätes.

Tabelle 5. Tabelle zur Interpretation der Ergebnisse bei Nutzung von Master Mix B*

| Ergebnis der Probe | FAM UNISTRAIN® | Cy5 Suvaxyn® | JOE IC |
|--|-------------------|-----------------|-----------|
| UNISTRAIN® PRRS- positiv | X | | X |
| UNISTRAIN® PRRS- stark positiv | X | | (X) |
| Suvaxyn® PRRS MLV- positiv | | X | X |
| Suvaxyn® PRRS MLV- stark positiv | | X | (X) |
| UNISTRAIN® PRRS und Suvaxyn® PRRS MLV- negativ | | | X |
| Uneindeutig | | | |

* Die Ergebnisse können entsprechend interpretiert werden, vorausgesetzt, dass sowohl Positiv- als auch Negativkontrolle mitgetestet wurden. Die Positivkontrolle muss ein Signal im FAM-, Cy5- und JOE/ HEX-Kanal zeigen. Die Negativkontrolle muss ein JOE/ HEX-Signal aufweisen und darf kein Signal im FAM- und Cy5-Kanal zeigen. Eine ausführliche Erklärung aller möglichen Resultate finden Sie im Abschnitt „Auswertung“ für Master Mix B ab Seite 21.

INDICAL bietet ein breites Produktportfolio zur Testung von veterinärmedizinisch relevanten Pathogenen an. Dazu gehören ELISA-Kits, qPCR-Kits und Reagenzien, Master-Mixe, Extraktionskits sowie Geräte für die automatisierte Extraktion von Nukleinsäuren.

Weitere Informationen zu den Produktlinien afosa, bactotype, cador, cattletype, flocktype, IndiField, IndiMag, IndiMix, IndiSpin, pigtype, SVANOVIR und virotype finden Sie unter **www.indical.com**.

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

Notizen

Notizen

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarungen für den virotype PRRSV EU Vax RT-PCR Kit

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 wiederverkauft, 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: afosa®, bactotype®, cador®, cattletype®, flocktype®, pigtype®, Svanovir®, virotype® (INDICAL BIOSCIENCE GmbH); ABI PRISM® (Applied Biosystems); Mx3005P® (Agilent Technologies, Inc.); FAM™, HEX™, JOE™ (Life Technologies Corporation); Cy® (GE-Healthcare); Porcilis® (MSD Animal Health, Intervet Deutschland GmbH); ReproCyc®, Ingelvac PRRSFLEX® (Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH); UNISTRAIN® (Laboratorios Hipra S.A., Spain); Suvaxyn® (Zoetis Belgium S.A., Belgium); Eppendorf® (Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH). Lizenzierte Sonden sind durch Integrated DNA Technologies, Inc. hergestellt. 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-2670-DE-001 © 2025 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, alle Rechte vorbehalten.

Änderungsindex

| Gebrauchsinformation | Version | Änderung |
|----------------------|-------------|----------------|
| HB-2670-DE-001 | August 2025 | Produkt-Launch |

INDICAL
BIOSCIENCE

Ordering: www.indical.com/contact
Technical Support: support@indical.com
Website: www.indical.com