

pigtype[®] PRRSV Ab Manuel

Pour la détection des anticorps contre
le *Porcine Reproductive and Respiratory
Syndrome Virus* (PRRSV)



5 plaques (réf. PT272753)



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

Sommaire

Contenu du kit.....	3
Utilisation prévue	3
Symboles	4
Contrôle qualité.....	4
Stockage	5
Informations de sécurité	5
Introduction	6
Principe	6
Équipement et réactifs devant être fournis par l'utilisateur.....	8
Remarques importantes	9
Précautions générales	9
Protocole : procédure de test ELISA	10
Points importants avant de commencer	10
À effectuer avant de commencer.....	10
Protocole : ELISA	11
Interprétation des données.....	13
Critères de validation	13
Calcul.....	13
Interprétation des résultats	14
Historique des modifications.....	19
Guide rapide pour pigtype PRRSV Ab	20

Contenu du kit

pigtype PRRSV Ab	(5)
Réf.	PT272753
Nombre de plaques	5
Test Plate (plaque de test) : plaque de microtitration à 96 puits, sensibilisée avec des antigènes recombinants, inactivés, spécifiques des génotypes EU et NA du PRRSV	5
Sample Diluent (diluant d'échantillon), prêt à l'emploi	1 x 125 ml
Negative Control (contrôle négatif), prêt à l'emploi	2 x 3,5 ml
Positive Control (contrôle positif), prêt à l'emploi	2 x 3,5 ml
Wash Buffer (tampon de lavage), concentré 10x	2 x 125 ml
Conjugate (conjugué), prêt à l'emploi	1 x 60 ml
TMB Substrate (substrat TMB), prêt à l'emploi	1 x 60 ml
Stop Solution (solution d'arrêt), prêt à l'emploi	1 x 60 ml
Manuel	1

Utilisation prévue

Le pigtype PRRSV Ab est un test ELISA spécifique et sensible pour la détection des anticorps contre le *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus* (PRRSV) dans des échantillons de sérum et de plasma de porcs.

Réservé exclusivement à un usage vétérinaire.

Symboles



Fabricant légal



Numéro de lot



À utiliser avant le



Limites de température pour le stockage



Manuel



Numéro de référence



Référence produit



Pour échantillons porcins

Contrôle qualité

Conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO d'INDICAL, chaque lot de pigtype PRRSV Ab est testé selon des spécifications prédéterminées afin de garantir une qualité constante du produit.

Stockage

Les composants du kit pigtype PRRSV Ab ELISA doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8°C et sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Les Wash Buffer (10x) et Stop Solution peuvent être conservés à température ambiante (18-25°C) pour éviter la cristallisation de sels. Si les barrettes de test sont fournies avec le kit, conservez les barrettes de test restantes dans le sachet en aluminium refermable, avec le déshydratant, entre 2 et 8°C en attendant la prochaine utilisation. Les barrettes de test peuvent être conservées pendant au moins 6 semaines après l'ouverture du sachet de plaques.

Informations de sécurité

Lors de la manipulation de produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Elles sont disponibles auprès des représentants d'INDICAL ou sur demande par e-mail à l'adresse compliance@indical.com.



ATTENTION : La Stop Solution contient de l'acide sulfurique à 0,5 M.

Tous les résidus d'échantillons et les objets qui ont été en contact avec les échantillons doivent être décontaminés ou éliminés comme des substances présentant un risque potentiel d'infection.

Introduction

Les infections par le virus du PRRS chez les porcs sont très répandues et ont un impact économique néfaste sur l'industrie porcine.

Le PRRSV est un virus à ARN qui fait partie de la famille des *Arteriviridae*, de l'ordre des *Nidovirales*. Les virus du PRRS sont classés selon le génotype européen (EU/I) et le génotype nord-américain (NA/II). Les infections par les virus du PRRS peuvent provoquer des maladies respiratoires chez les porcelets et un avortement chez les truies gravides.

La sérologie est largement utilisée comme outil de diagnostic. Le pigtype PRRSV Ab est une solution très sensible et spécifique pour la détection des anticorps contre le PRRSV (types de virus NA et EU) dans les échantillons de sérum et de plasma de porcs. Il s'agit donc d'une méthode efficace de surveillance du statut de vaccination ou d'infection des élevages de porcs.

Principe

Le pigtype PRRSV Ab est un test ELISA indirect. La Test Plate de microtitration est sensibilisée avec des antigènes PRRSV recombinants, spécifiques des types de virus NA et EU. Pendant l'incubation des échantillons, les anticorps spécifiques du PRRSV se lient à l'antigène immobilisé. Le matériel non lié est éliminé par rinçage. Les anticorps liés à l'antigène sont détectés par un Conjugate de peroxydase de raifort (horseradish peroxidase - HRP). Le Conjugate non lié est éliminé par rinçage. Une réaction colorimétrique est initiée par l'ajout d'une Substrate Solution et arrêtée après 10 minutes. Si des anticorps spécifiques contre le PRRSV sont présents dans l'échantillon, une couleur bleue se développe, qui devient jaune après l'ajout de la Stop Solution. La densité optique (DO) est mesurée dans un spectrophotomètre à 450 nm. La valeur de la DO est

corrélée à la concentration d'anticorps spécifiques contre les souches NA/EU du PRRSV dans l'échantillon.

Équipement et réactifs devant être fournis par l'utilisateur

Lors de la manipulation de produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées, disponibles auprès du fournisseur du produit.

- Bêchers
- Éprouvettes graduées
- Pipettes (réglables)
- Pipettes multicanaux (réglables)
- Film d'aluminium ou adhésif pour couvrir la Test Plate
- Facultatif : Dispositif pour distribution et aspiration du Wash Buffer
- Lecteur d'absorbance pour plaque de microtitration
- Tubes ou plaques pour la dilution des échantillons
- Eau distillée

Remarques importantes

Précautions générales

L'utilisateur doit toujours faire attention aux éléments suivants :

- Ne pas exposer la TMB Substrate Solution à une source de lumière intense ou aux rayons du soleil lors de la réalisation du test.
- Les composants du kit de test ne doivent pas être contaminés ou mélangés avec les composants d'autres lots.
- Ne pas utiliser les composants du kit de test après la date de péremption.
- L'eau provenant de systèmes échangeurs d'ions utilisés pour diluer le Wash Buffer (10x) peut interférer avec le test si elle n'est pas suffisamment pure. Utilisez de l'eau doublement distillée ou hautement purifiée (Milli-Q®).
- Pour des résultats de test fiables, il est essentiel durant les tests d'utiliser une verrerie propre, de pipeter et rincer avec soin et de respecter scrupuleusement les temps d'incubation.

Protocole : procédure de test ELISA

Points importants avant de commencer

- Lire les « Remarques importantes » à la page 9 avant de commencer.
- Les échantillons de sérum et de plasma peuvent être dilués avant l'analyse ou dilués directement dans la Test Plate.
- Les contrôles sont prêts à l'emploi et ne nécessitent pas de dilution.

À effectuer avant de commencer

- Porter les réactifs à température ambiante (18-25°C) immédiatement avant leur utilisation. En cas de précipités de cristaux de sel dans le Wash Buffer (10x), dissoudre par un léger mouvement circulaire et par réchauffement.
- diluer le Wash Buffer (10x) au 1:10 dans de l'eau distillée. Par exemple, pour une Test Plate, diluer 50 ml de Wash Buffer (10x) dans 450 ml d'eau distillée et mélanger.
- si nécessaire, les échantillons de sérum et de plasma peuvent être dilués avant l'analyse. Diluer les échantillons de sérum ou de plasma au **1:40** dans le Sample Diluent (par exemple, diluer 5 µl d'échantillon dans 195 µl de Sample Diluent) et bien mélanger. Utiliser des tubes en plastique ou des plaques de microtitration non sensibilisées pour la dilution. Utiliser une pointe de pipette neuve pour chaque échantillon.

Protocole : ELISA

Lire « À effectuer avant de commencer » à la page 10.

Procédure

1. En cas d'utilisation d'échantillons qui ont été dilués avant l'analyse, passer à l'étape 1a. Si les échantillons doivent être dilués dans la Test Plate, passer à l'étape 1b.
- 1a. Pipeter 100 µl de Negative Control (en double), de Positive Control (en double) et les **prédilutions au 1:40** des échantillons de sérum ou de plasma dans les puits de la Test Plate. Passer à l'étape 2.

Remarque : noter les positions des contrôles et des échantillons dans un protocole de test. Nous recommandons l'utilisation d'une pipette multicanaux pour le transfert des échantillons. Couvrir la Test Plate.

- 1b. Pipeter 100 µl de Negative Control (en double) et de Positive Control (en double) dans les puits de la Test Plate. Distribuer 97,5 µl de Sample Diluent dans chaque puits d'échantillon de la Test Plate et ajouter 2,5 µl d'échantillon de sérum ou plasma **non dilué**. Bien mélanger. Passer à l'étape 2.

Remarque : noter les positions des contrôles et des échantillons dans un protocole de test. Mélanger à l'aide d'un agitateur de plaque ou en pipetant à plusieurs reprises vers le haut et vers le bas. Couvrir la Test Plate.

2. Incuber pendant 30 minutes à température ambiante (18–25 °C).
3. Retirer la solution des puits par aspiration ou par tapotement.
4. Rincer chaque puits 5x avec 300 µl de Wash Buffer préparé (1x). Retirer le tampon après chaque rinçage par aspiration ou par tapotement.

5. Pipeter 100 µl de Conjugate prêt à l'emploi dans chaque puits et incuber pendant 30 min à température ambiante.
6. Retirer la solution des puits par aspiration ou par tapotement.
7. Rincer chaque puits 5x avec 300 µl de Wash Buffer préparé (1x). Retirer le tampon après chaque rinçage par aspiration ou par tapotement.
8. Pipeter 100 µl de TMB Substrate Solution dans chaque puits.
9. Incuber pendant 10 minutes à température ambiante dans l'obscurité. Commencer à chronométrer après avoir rempli le premier puits.
10. Arrêter la réaction en ajoutant 100 µl de Stop Solution par puits. Ajouter la Stop Solution dans le même ordre que celui dans lequel la Substrate Solution a été ajoutée.
11. Mesurer la DO dans le lecteur de plaque à 450 nm dans les 20 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

La mesure à une longueur d'onde de référence (620–650 nm) est facultative.

Interprétation des données

Critères de validation

Les résultats sont valables si les critères suivants sont remplis :

- La valeur moyenne (VM) de la DO mesurée pour le Positive Control (PC) doit être $\geq 0,5$.
- La valeur moyenne (VM) de la DO mesurée pour le Negative Control (NC) doit être $\leq 0,3$.

Si les tests sont non valides, ils doivent être répétés après avoir attentivement consulté les instructions d'utilisation.

Calcul

Calculer les VM de la DO mesurée pour le Negative Control (NC) et le Positive Control (PC).

Le rapport (E/P) entre la DO de l'échantillon et la DO moyenne du Positive Control est calculé selon l'équation suivante :

$$E/P = \frac{DO_{\text{échantillon}} - VM_{DO_{NC}}}{VM_{DO_{PC}} - VM_{DO_{NC}}}$$

Interprétation des résultats

- **Les échantillons ayant un rapport E/P < 0,4 sont négatifs.**
Des anticorps spécifiques anti-PRRSV n'ont pas pu être détectés.
- **Les échantillons ayant un rapport E/P ≥ 0,4 sont positifs.**
Des anticorps spécifiques anti-PRRSV ont été détectés.

INDICAL propose une gamme de kits ELISA et de kits PCR et RT-PCR en temps réel pour la détection des agents pathogènes chez les animaux.

Consulter le site **www.indical.com** pour plus d'informations sur les produits bactotype, cador, cattletype, flocktype, pigtype et virotype.

Pour obtenir des informations actualisées sur la licence et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation INDICAL correspondant.

notes

notes

notes

Contrat de licence limitée pour pigtype PRRSV Ab

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur accepte les conditions suivantes :

1. le produit ne doit être utilisé que conformément aux protocoles fournis et à ce manuel, et uniquement avec les composants contenus dans ce kit. INDICAL n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce kit avec tout autre composant non fourni dans ce kit, à l'exception de ce qui est stipulé dans les protocoles fournis avec le produit, dans ce manuel et dans d'autres protocoles disponibles sur le site www.indical.com. Parmi ces protocoles supplémentaires, certains ont été fournis par des utilisateurs INDICAL pour des utilisateurs INDICAL. Ces protocoles n'ont pas été rigoureusement testés ou optimisés par INDICAL. INDICAL ne saurait être tenue pour responsable de leur utilisation et n'offre aucune garantie que ces protocoles ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
2. En dehors des licences énoncées expressément, INDICAL n'offre aucune garantie que ce kit et/ou son ou ses utilisations ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
3. Ce kit et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. INDICAL rejette notamment toutes autres licences, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du kit consentent à ne pas prendre ni autoriser quiconque à prendre de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les conditions précédentes. INDICAL est susceptible de faire appliquer les interdictions de ce contrat de licence limitée par tout tribunal et pourra recouvrer tous ses frais d'investigation et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de ce contrat de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au kit et/ou à ses composants.

Pour les conditions de licence mises à jour, consulter www.indical.com.

Marques commerciales : bactotype[®], cador[®], cattletype[®], flocktype[®], pigtype[®], virotype[®] (INDICAL BIOSCIENCE GmbH); Milli-Q[®] (Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne). Les noms déposés, les marques de commerce, etc. cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

HB-1944-EN-004 © 2018-2019 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, tous droits réservés.

Historique des modifications

Manuel	Version	Modification
HB-1944-EN-004	Mai 2019	Augmentation du volume des contrôles de test
HB-1944-EN-003	Août 2018	Style INDICAL

Guide rapide pour pigtype PRRSV Ab

Dilution de l'échantillon :

sérum, plasma 1:40, bien mélanger

Étape	
1. Échantillon	100 µl/puits
2. Incubation	30 min à température ambiante
3. Wash	5 x 300 µl
4. Conjugate	100 µl/puits
5. Incubation	30 min à température ambiante
6. Wash	5 x 300 µl
7. TMB	100 µl/puits
8. Incubation	10 min à température ambiante
9. Stop	100 µl/puits
10. Lecture	450 nm

Interprétation des données

Échantillon	Négatif	Positif
Sérum, plasma	E/P < 0,4	E/P ≥ 0,4
