



**Classical Swine Fever Virus (CSFV)
Antibody Test Kit**

**Kit de détection des anticorps du Virus de la
Peste Porcine Classique (CSFV)**

**Kit para Detecção de Anticorpos contra o Vírus
da Peste Suína Clássica (VPSC)**

USO VETERINÁRIO

**Kit para la detección de Anticuerpos frente al Virus de la
Peste Porcina Clásica (CSFV)**

**Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen
das Virus der klassischen Schweinepest (CSFV)**

Die deutsche Fassung der Gebrauchsinformation ist entsprechend §17c TierSG zugelassen.

Test With Confidence*

Classical Swine Fever Virus (CSFV) Antibody Test Kit

For veterinary use only

Name and Intended Use

IDEXX CSFV Ab is IDEXX's enzyme immunoassay for the detection of CSFV specific antibodies in swine serum or plasma.

General Information

Classical Swine Fever Virus (CSFV), Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV), and Border Disease Virus (BDV) are the 3 members of the genus Pestivirus within the family Flaviviridae. CSFV causes serious losses in the pig industry since it is highly pathogenic and can cause widespread deaths. Pigs infected with highly virulent CSFV strains may shed a high amount of virus before showing clinical signs of the disease. Animals that survive an acute or sub-acute infection develop antibodies and will no longer spread the virus. Moderately virulent, less pathogenic strains may lead to chronic infection, when pigs excrete the virus continuously or intermittently until death. Fetuses of susceptible pregnant sows, exposed to CSFV, might become infected through the placenta. Congenital infection can result in abortion, fetal mummification, stillborn and/or weak piglets or embryonic malformations. The most frequent outcome of congenital infection with low virulent strains is the birth of persistently infected piglets, spreading the virus without signs of the disease, in the absence of immune response. Pigs may also be infected with BVDV or BDV. Although these infections in pigs are usually mild and self-limiting, it is important to reliably distinguish them from the CSFV infection.

Descriptions and Principles

IDEXX CSFV Ab is IDEXX's enzyme immunoassay for the detection of CSFV specific antibodies in swine serum or plasma. The assay is a blocking ELISA which utilizes microplates coated with CSFV antigen. Antibodies present in the test sample will block the binding of Horseradish Peroxidase conjugated CSFV specific monoclonal antibodies. The bound monoclonal antibodies are detected by a substrate reactive with Horseradish Peroxidase. The result is indicated by color development. The optical density is measured by a microplate reader at a single wavelength of 450 nm, or dual wavelengths of 450 nm and 650 nm. Color development is weak (positive result), when CSFV specific antibodies are present in the test sample. Color development is maximal (negative result) in the absence of specific antibodies. The blocking percentage of the sample is calculated from the optical density (OD450) obtained with the test sample and the OD450 of the negative control.

Reagents

Store all reagents at 2–8°C.

Reagents		Volume	Volume
1	CSFV Antigen Coated Plates	2	5
2	Positive Control	1 ml	1 ml
3	Negative Control	1 ml	1 ml
4	(Anti-CSFV HRPO) Conjugate	25 ml	60 ml
5	Sample Diluent	15 ml	45 ml
A	TMB Substrate N.12	20 ml	60 ml
B	Stop solution N.3	20 ml	60 ml
C	Wash concentrate (10X)	125 ml	480 ml

NOTE: see table on page 32 for the description of international symbols used on the kit labels.

Materials Required but Not Provided

- Precision pipettes or multiple delivery pipetting devices suitable for delivering 10 to 1000 μ l. Reagents volumes listed in the “Test Procedure” require pipette precision less than or equal to 5%.
- Disposable pipette tips
- 500 ml graduated cylinder for wash solution
- 96-well Microplate reader equipped with a single wavelength filter of 450 nm or a dual wavelength of 450 nm and 650 nm
- Ultrapure water (Milli Q or double distilled)
- Device for the delivery and aspiration of wash solution
- A trap for retaining aspirate and disinfectant
- Humid chamber and plate covers or plate sealers
- Vortex mixer
- Centrifuge tubes or micro tubes

Precautions and Warnings for Users

- Handle all biological material as potentially infectious.
- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink or smoke where specimens or kit reagents are being handled.
- The substrate solution is irritating to the eyes, respiratory system and skin. Avoid contact with skin and eyes. Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection
- Do not expose TMB solution to strong light or any oxidizing agents. Handle TMB solution with clean glass or plasticware.
- Store all reagents at 2–8°C. Bring the reagents to 18–26°C prior to use, and return to 2–8°C following use.
- All wastes should be properly decontaminated prior to disposal. Dispose of contents in accordance with local, regional and national regulations
- Care should be taken to prevent the contamination of kit components.
- Do not use components past their expiration dates and do not mix components from different serials.
- Optimal results will be obtained by strict adherence to this protocol. Careful pipetting, timing and washing throughout this procedure are necessary to maintain precision and accuracy.
- The two controls must be used for each test series.
- Use only distilled or deionized water for preparation of the reagents used in the test.
- Unused microtiter wells should be stored sealed within the enclosed plastic bag at 2–8°C.
- For veterinary use only.

Preparation of Reagents

Coated microtiter plates, sample diluent, positive control, negative control, conjugate, substrate solution and stop solution are ready-to-use.

Wash Solution

The Wash Concentrate (10X) should be brought to 18–26°C and mixed to ensure dissolution of any precipitated salts. The Wash Concentrate (10X) must be diluted 1:10 in ultrapure water (Milli Q or double distilled). When prepared under sterile conditions, the reconstituted Wash Solution can be stored for one week at 2–8°C. Example: For 300 ml Wash Solution, dilute 30 ml Wash Concentrate (10X) with 270 ml ultrapure water (Milli Q or double distilled) and mix well.

Preparation of Samples

Fresh, refrigerated (maximum of 8 days at 2–8°C), or frozen serum or plasma can be tested.

Test Procedure

All reagents must be allowed to come to 18–26°C before use.

Reagents should be mixed by gentle swirling or vortexing. Use a separate pipette tip for each sample.

1. Add 50 μ l of the Sample Diluent to all wells to be tested and to the control wells.
2. Add 50 μ l of the Positive Control and Negative Control to the appropriate wells. Use a separate pipette tip for different control sera.
3. Add 50 μ l of the serum or plasma sample to the remainder of the plate. Use a separate pipette tip for each sample.
4. Mix the contents of the microwells by gently tapping the plate or use a shaker for microtiter plates.
5. Incubate for 2 hours (\pm 5 min.) or overnight (12-18 hours) at 18–26°C. With either option, the plates should be tightly sealed or incubated in a humid chamber using plate covers to avoid any evaporation.
6. Wash each well with approximately 300 μ l of Wash Solution three times. Aspirate liquid contents of all wells after each wash. Following the final aspiration, firmly tap residual wash fluid from each plate onto absorbent material. Avoid plate drying between washes and prior to the addition of the next reagent.
7. Add 100 μ l of conjugate to each well. Incubate 30 minutes (\pm 2 min.) at 18–26°C sealed or in a humid chamber using plate covers.
8. Repeat Step 6.
9. Add 100 μ l of TMB Substrate N.12 to each well and incubate 10 minutes (\pm 1 min.) at 18–26°C away from direct light. Begin timing after the first well is filled.
10. Stop the reaction at 10 minutes by adding 100 μ l of Stop Solution N.3 to each well. Add the stop solution in the same order as the substrate solution was added in step 9.
11. Measure the absorbance of the samples and controls at 450 nm, or using a dual wavelength of 450 nm and 650 nm on a microplate reader (use air as blank).
12. Calculate the mean absorbance values (see 'Calculations') for each test sample and for the controls.

Results

For the assay to be valid, the Negative Control mean OD450 should be greater than 0.500. The blocking percentage of the Positive Control should be greater than 50%. For invalid assays, technique may be suspect and the assay should be repeated following a thorough review of the package insert.

NOTE: IDEXX has instrument and software systems available which calculate means and % blocking and provide data summaries.

Calculation

Calculation of Negative

Control mean (NC \bar{x})

$$NC\bar{x} = \frac{NC1 A_{450} + NC2 A_{450}}{2}$$

Example:

$$NC\bar{x} = \frac{1.280 + 1.300}{2} = 1.290$$

Calculation of Positive

Control mean (PC \bar{x})

$$PC\bar{x} = \frac{PC1 A_{450} + PC2 A_{450}}{2}$$

Example:

$$PC\bar{x} = \frac{0.120 + 0.140}{2} = 0.130$$

Calculation for test samples

Blocking-percentage:

$$\frac{NC\bar{x} A_{450} - \text{Sample } A_{450}}{NC\bar{x} A_{450}} \times 100$$

Example: sample result 1.219

$$\frac{1.290 - 1.219}{1.290} \times 100 = 5.5\%$$

Interpretation of Results

- The test sample is positive (antibodies are present) if it gives a blocking percentage $\geq 40\%$.
- The test sample is negative (antibodies are absent) if it gives a blocking percentage $\leq 30\%$.
- If the blocking percentage of the sample is $> 30\%$ and $< 40\%$, retest the animal at a later date. If the sample is still doubtful after retesting, the result can be confirmed by Serum Neutralization Test. Please refer to the regulations currently in force in your country.

☞ = *Modification in the using instructions*

Summarized Test Procedure

IDEXX strongly recommends that you read the complete instructions carefully before using the test the first time.

Steps	Action							
1. Sample diluent distribution	All reagents should equilibrate to 18– 26°C before use. Reagents should be mixed by gentle swirling or vortexing. Add 50 μ l of the Sample Diluent to all wells to be tested and to the control wells.							
2. Sample distribution	Add 50 μ l of the Positive Control and Negative Control to the appropriate wells. Use a separate pipette tip for different control sera. Add 50 μ l of the serum or plasma sample to the remainder of the plate. Use a separate pipette tip for each sample. Mix the contents of the microwells by gently tapping the plate or use a shaker for Microtiter plates.							
3. Sample incubation	Incubate for 2 hours (\pm 5 min.) or overnight (12-18 hours) at 18–26°C. With either option, the plates should be tightly sealed or incubated in a humid chamber using plate covers to avoid any evaporation.							
4. Washing the plate	Aspirate liquid contents of all wells into an appropriate waste reservoir. Wash each well with approximately 300 μ l of Wash Solution three times. Aspirate liquid contents of all wells after each wash. Following the final aspiration, firmly tap residual wash fluid from each plate onto absorbent material.							
5. Conjugate Distribution	Add 100 μ l of Conjugate to each well.							
6. Conjugate Incubation	Incubate 30 (\pm 2 min.) minutes at 18– 26°C sealed or in a humid chamber using plate covers.							
7. Repeat step 4								
8. Substrate distribution	Add 100 μ l of TMB Substrate N.12 into each well.							
9. Substrate incubation	Incubate 10 minutes (\pm 1 min.) at 18– 26°C away from direct light. Begin timing after the first well is filled.							
10. Stopping the reaction	Stop the reaction at 10 minutes by adding 100 μ l of Stop Solution N.3 to each well. Add the stop solution in the same order as the substrate solution was added in step 8.							
11. Measure the plate	Measure the absorbance of the samples and controls at 450 nm, or using a dual wavelength of 450 nm and 650 nm on a microplate reader (use air as blank). Calculate the results.							
12. Interpretation %	<table border="1"> <tbody> <tr> <td rowspan="2">Serum, Plasma</td> <td>\leq30%</td> <td>> 30% to <40%</td> <td>\geq40%</td> </tr> <tr> <td>Negative</td> <td>Suspect</td> <td>Positive</td> </tr> </tbody> </table>	Serum, Plasma	\leq 30%	> 30% to <40%	\geq 40%	Negative	Suspect	Positive
Serum, Plasma	\leq 30%		> 30% to <40%	\geq 40%				
	Negative	Suspect	Positive					

Manufactured by:

IDEXX Switzerland AG
Stationsstrasse 12
3097 Liebefeld-Bern, Switzerland

For technical assistance:

Contact your IDEXX area manager or distributor
or visit: www.idexx.com/production/contact
IDEXX Technical Support: 00-800-727-43399

*IDEXX and Test With Confidence are trademarks or registered trademarks of IDEXX Laboratories, Inc. or its affiliates in the United States and/or other countries.

Kit de détection des anticorps du Virus de la Peste Porcine Classique (CSFV)

Réservé à l'usage vétérinaire

Définition et application

IDEXX CSFV Ab est un test immunoenzymatique pour la détection des anticorps spécifiques du Virus de la Peste Porcine Classique (CSFV) à partir de sérum ou de plasma porcin.

Informations Générales

Le virus de la Peste Porcine Classique (CSFV), le virus de la Maladie des Muqueuses (BVDV) et le virus de la Pestivirus (BDV) appartiennent au genre Pestivirus, famille des Flaviviridae. Le virus de la CSFV est responsable de pertes importantes dans l'industrie porcine, car il est hautement pathogène et peut entraîner la mortalité. Les porcs infectés par des souches hautement virulentes de virus CSFV peuvent excréter de grandes quantités de virus avant de présenter des signes cliniques de l'infection. Les animaux qui survivent à une infection aiguë ou subaiguë développent des anticorps et n'excrètent plus de virus. Les souches modérément virulentes et moins pathogènes peuvent entraîner des infections chroniques, et les animaux excrètent alors le virus de manière continue ou intermittente jusqu'à leur mort. Les fœtus de truies sensibles peuvent s'infecter in utero lors d'exposition de la mère au virus de la CSFV. L'infection congénitale peut entraîner des avortements, des momifications fœtales, des mort-nés et/ou des porcelets faibles et des malformations fœtales. La conséquence la plus fréquemment observée d'une infection in utero par des souches faiblement virulentes est la naissance de porcelets infectés permanents, qui excrètent le virus sans présenter de symptômes de l'infection, et ce en l'absence de réponse immunitaire. Les porcs peuvent également être infectés par les virus BVDV ou BDV. Bien que ces infections soient généralement bénignes chez le porc et qu'elles s'autolimitent, il est important de les distinguer d'une infection par le virus de la PPC (CSFV).

Description et principe

Le test IDXX CSFV Ab est destiné à détecter les anticorps spécifiques du CSFV à partir du sérum ou du plasma. Il s'agit d'un ELISA par compétition, qui utilise des plaques de microtitration sensibilisées avec l'antigène du virus CSFV. Les anticorps présents dans l'échantillon à tester vont entrer en compétition avec les anticorps monoclonaux (mAb) spécifiques du CSFV conjugués à la peroxydase pour se lier à l'antigène. Le matériel non lié est éliminé par lavage. La présence des anticorps monoclonaux est détectée par une solution substrat TMB. Le résultat du test dépend de l'intensité de la coloration obtenue. La coloration est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre en monochromatisme à 450 nm ou en bichromatisme à 450/650 nm. La coloration est peu intense (résultat positif) quand des anticorps spécifiques du CSFV sont présents dans l'échantillon. La coloration est maximale (résultat négatif) en l'absence d'anticorps spécifiques dans l'échantillon. Le pourcentage de compétition de chaque échantillon est fonction de la valeur de densité optique de l'échantillon testé et la densité optique du contrôle négatif.

Réactifs

Stocker tous les réactifs à 2–8°C.

Réactifs		Volume	Volume
1	Plaques sensibilisées des antigènes CSFV	2	5
2	Contrôle positif	1 ml	1 ml
3	Contrôle négatif	1 ml	1 ml
4	Conjugué (anti-CSFV HRPO)	25 ml	60 ml
5	Diluant des échantillons	15 ml	45 ml
A	Substrat TMB N°12	20 ml	60 ml
B	Solution d'arrêt N°3	20 ml	60 ml
C	Solution de lavage concentrée (10X)	125 ml	480 ml

REMARQUE: voir le tableau page 32 pour la description des symboles internationaux utilisés sur les étiquettes du kit.

Matériel nécessaire mais non fourni

- Pipettes de précision ou pipettes multicanaux capables de distribuer des volumes de 10 μ l à 1000 μ l. La précision requise pour la mesure des volumes indiqués au « Mode Opérateur » doit être inférieure ou égale à 5%.
- Cônes de pipettes à usage unique
- Epruvette graduée de 500 ml pour la préparation de la solution de lavage
- Lecteur de microplaques équipé d'un filtre à 450 nm ou 450/650 nm
- Eau Milli Q ou bidistillée
- Système de lavage manuel, semi-automatique ou automatique
- Système pour la collecte des solutions biologiques souillées
- Chambre humide et couvre-plaques ou films plastique adhésifs pour microplaques
- Centrifugeuse (2000 x g) et microtubes ou tubes à centrifuger
- Vortex

Mises en garde et précautions d'emploi

- Manipuler tous les réactifs et les échantillons comme une source potentielle de contamination.
- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de manipulation des échantillons et des réactifs.
- La solution de substrat est irritante pour les yeux, le système respiratoire et la peau. Éviter tout contact avec les yeux et la peau.
- Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
- Ne pas exposer la solution de substrat TMB à la lumière directe du soleil ou aux agents oxydants. Veiller à la propreté de la verrerie et/ou du matériel de laboratoire en matière plastique utilisés lors de sa manipulation.
- Stocker tous les réactifs au réfrigérateur à 2–8°C. Porter à 18–26°C avant utilisation et remettre au réfrigérateur à 2–8°C après utilisation.
- Décontaminer l'ensemble du matériel intervenant dans la manipulation avant élimination. Éliminer l'ensemble du matériel selon les réglementations locales, régionales et nationales en vigueur.
- Éviter la contamination des composants du kit.
- Ne pas utiliser de kit au delà de la date d'expiration et éviter de mélanger des composants issus de lots de réactifs différents.
- La qualité des résultats dépend du respect des instructions établies par le fournisseur ainsi que des bonnes pratiques de laboratoire.
- Les contrôles positif et négatif doivent être inclus dans chaque plaque.
- Utiliser de l'eau distillée ou désionisée pour la préparation des réactifs.
- Les barrettes non utilisées doivent être conservées dans leur sachet plastique scellé au réfrigérateur à 2–8°C.
- Réactifs réservés à l'usage vétérinaire

Préparation des réactifs

Les plaques sensibilisées, les contrôles positif et négatif, le conjugué, la solution de substrat TMB et la solution d'arrêt sont prêts à l'emploi.

Solution de lavage

Porter la Solution de lavage concentrée (10X) à température ambiante et bien homogénéiser pour assurer la dissolution complète d'éventuels cristaux. La Solution de lavage concentrée (10X) est à diluer au 1/10 dans de l'eau ultrapure (Milli Q ou bidistillée). Exemple: Pour 300 ml de Solution de lavage, distribuer 30 ml de Solution de lavage concentrée (10X) + 270 ml d'eau ultrapure (Milli Q ou bidistillée) et bien homogénéiser.

La Solution de lavage reconstituée issue d'une traitement stérile est stable pendant une semaine à 2–8°C.

Préparation des échantillons

Des échantillons de sérum ou de plasma frais, réfrigérés (8 jours maximum à 2–8°C) ou préalablement congelés peuvent être utilisés.

Mode Opérateur

ATTENTION ! Seul le protocole avec incubation longue (18 à 24 heures) est agréé en France.

Porter tous les réactifs à 18–26°C avant utilisation et bien homogénéiser par agitation douce ou au vortex. Utiliser un embout de pipette différent pour chaque échantillon.

1. Distribuer 50 μ l de Diluant des échantillons dans les puits appropriés de la microplaque sensibilisée.
2. 50 μ l de Contrôle positif et 50 μ l de Contrôle négatif dans les puits appropriés.
3. 50 μ l de sérum ou de plasma dans les puits disponibles adjacents.
4. Homogénéiser le contenu de la microplaque par agitation.
5. Incuber pendant 2 heures (\pm 5 min.) à 18–26°C ou bien pendant une nuit (18-24 heures) à 18-26°C. Quelle que soit l'option choisie, recouvrir les plaques d'un film adhésif ou incuber en chambre humide avec couvre-plaque(s) afin d'éviter toute évaporation.

ATTENTION ! Seul le protocole avec incubation longue (18 à 24 heures) est agréé en France.

Bien homogénéiser le contenu de la microplaque sensibilisée en tapant doucement le côté de la plaque ou en utilisant un vortex.

6. Laver 3 fois chaque puits avec environ 300 μ l de Solution de lavage. Aspirer la Solution de lavage contenue dans la plaque entre chaque lavage. Après la dernière aspiration consécutive au dernier lavage, éliminer l'eau résiduelle contenue dans les puits par retournement et tapotement de la plaque sur du papier absorbant. Eviter la dessiccation des puits de la microplaque entre les lavages et préalablement à la distribution du prochain réactif.
7. Distribuer 100 μ l de Conjugué dans chaque puits. Incuber la plaque à 18–26°C pendant 30 minutes (\pm 2 min.) en chambre humide avec couvre-plaque ou recouverte d'un film adhésif.
8. Laver les plaques comme indiqué au point 6.
9. Distribuer 100 μ l de Substrat TMB N°12 dans chaque puits et incuber 10 minutes (\pm 1 min.) à 18–26°C à l'abri de la lumière. Commencer à décompter le temps dès le remplissage du premier puits.
10. Distribuer 100 μ l de Solution d'arrêt N°3 dans chaque puits. Ajouter la solution d'arrêt dans le même ordre que celui du substrat TMB. Faire le blanc du spectrophotomètre sur l'air.
11. Lire les densités optiques des échantillons et des contrôles en monochromatisme à 450 nm ou en bichromatisme à 450/650 nm.
12. Calculer la valeur moyenne de densité optique (voir «Calculs») de chaque échantillon (si testé en double) et des contrôles positif et négatif.

Résultats

Le test est validé si la densité optique du Contrôle négatif est supérieure à 0,500. La valeur du pourcentage de compétition du Contrôle positif doit être supérieure à 50%.

Note: IDEXX est en mesure de vous fournir matériel et logiciel informatique pour le calcul des résultats et l'enregistrement des données.

Calculs

Calcul de la valeur moyenne de densité optique du Contrôle

négatif (CN \bar{x})

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A_{450} + CN2 A_{450}}{2}$$

Exemple:

$$CN\bar{x} = \frac{1,280 + 1,300}{2} = 1,390$$

Calcul de la valeur moyenne de densité optique du

Contrôle positif (CP \bar{x})

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A_{450} + CP2 A_{450}}{2}$$

Exemple:

$$CP\bar{x} = \frac{0,120 + 0,140}{2} = 0,130$$

Calcul du pourcentage d'inhibition:

Pourcentage d'inhibition:

$$\frac{NC\bar{x} A_{450} - \text{Echantillon } A_{450}}{NC\bar{x} A_{450}} \times 100 (\%)$$

Exemple: DO échantillon = 1,219

$$\frac{1,290 - 1,219}{1,290} \times 100 = 5,5\%$$

Interprétation

- L'échantillon est **positif** (présence d'anticorps) si la valeur du pourcentage d'inhibition est supérieure ou égale à 40%.
- L'échantillon est **négatif** (absence d'anticorps) si la valeur du pourcentage d'inhibition est inférieure ou égale à 30%.
- Re-tester les animaux dont la valeur du pourcentage d'inhibition est supérieur à 30% et inférieur à 40%. La gestion des échantillons **douteux** et/ou positifs est soumise à la législation spécifique à chacun des pays concernés.

☞ = *Modification majeure du mode*

Résumé du Mode opératoire

Avant la première mise en œuvre du test, il est vivement recommandé de lire l'ensemble du mode d'emploi.

Etape	Action							
1. Préparation des échantillons	Porter tous les réactifs à 18–26°C pendant une heure environ avant utilisation. Distribuer 50 µl de Diluant d'échantillons dans les puits appropriés de la microplaque sensibilisée conformément au plan de plaque préétabli.							
2. Distribution des échantillons	50 µl de Contrôle positif et 50 µl de Contrôle négatif en double dans les puits appropriés. 50 µl de sérum ou de plasma dans les puits disponibles adjacents. Utiliser un embout de pipette différent pour chaque échantillon. Homogénéiser le contenu de la microplaque par agitation.							
3. Incubation des échantillons	Incuber pendant 2 heures (± 5 min.) à 18–26°C ou bien pendant une nuit (18-24 heures) à 18–26°C. Quelle que soit l'option choisie, recouvrir les plaques d'un film adhésif ou incuber en chambre humide avec couvre-plaque(s) afin d'éviter toute évaporation. ATTENTION ! Seul le protocole avec incubation longue (18 à 24 heures) est agréé en France.							
4. Lavage des plaques	Vider le contenu de la plaque. Laver 3 fois chaque puits avec environ 300 µl de Solution de lavage. Aspirer la Solution de lavage contenue dans la plaque entre chaque lavage. Après la dernière aspiration consécutive au dernier lavage, éliminer l'eau résiduelle contenue dans les puits par retournement et tapotement de la plaque sur du papier absorbant.							
5. Distribution du conjugué	Distribuer 100 µl de Conjugué dans chaque puits							
6. Incubation du conjugué	Incuber la plaque à 18–26°C pendant 30 minutes (± 2 min.) en chambre humide avec couple-plaque ou recouverte d'un film adhésif.							
7. Répéter l'étape 4								
8. Distribution du substrat	Distribuer 100 µl de Substrat TMB N°12 dans chaque puits.							
9. Incubation du substrat	Incuber 10 minutes (± 1 min.) à 18–26°C à l'abri de la lumière. Commencer à décompter le temps dès le remplissage du premier puits.							
10. Arrêt de la réaction	Distribuer 100 µl de Solution d'arrêt N°3 dans chaque puits. Ajouter la solution d'arrêt dans le même ordre que celui de la solution substrat TMB. Faire le blanc du spectrophotomètre sur l'air.							
11. Lecture de la plaque	Lire les densités optiques des échantillons et des contrôles en monochromatisme à 450 nm ou en bichromatisme à 450/650 nm. Calculer la valeur moyenne de densité optique.							
12. Interpretation (% inhibition)	<table border="1"> <tbody> <tr> <td rowspan="2">Sérum ou Plasma</td> <td>≤30%</td> <td>>30% à <40%</td> <td>≥40%</td> </tr> <tr> <td>Négatif</td> <td>Douteux</td> <td>Positif</td> </tr> </tbody> </table>	Sérum ou Plasma	≤30%	>30% à <40%	≥40%	Négatif	Douteux	Positif
Sérum ou Plasma	≤30%		>30% à <40%	≥40%				
	Négatif	Douteux	Positif					

Fabricant:

IDEXX Switzerland AG
Stationsstrasse 12
3097 Liebfeld-Bern, Switzerland

Pour plus d'information:

Contactez votre représentant local IDEXX
ou visitez: www.idexx.com/production/contact
IDEXX Technical Support: 00-800-727-43399

*IDEXX et Test With Confidence sont des marques de commerce ou des marques déposées d'IDEXX Laboratories, Inc. ou ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays.

Kit para Detecção de Anticorpos contra o Vírus da Peste Suína Clássica (VPSC)

Para uso exclusivamente veterinário.

Nome e Indicações

IDEXX CSFV Ab é um ensaio imunoenzimático da IDEXX para detecção de anticorpos do VPSC em soro ou plasma de suínos.

Informações gerais

O Vírus da Peste Suína Clássica (VPSC), o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) e o Vírus da Doença da Fronteira (BDV) são os 3 membros do gênero Pestivirus dentro da família Flaviviridae. O VPSC causa sérias perdas na indústria suinícola pois é altamente patogênico e pode causar mortalidade. Os porcos infectados com cepas altamente virulentas do VPSC podem disseminar grandes quantidades de vírus antes mesmo do surgimento dos sinais clínicos da doença. Os animais que sobrevivem a uma infecção aguda ou sub-aguda desenvolvem anticorpos e não mais espalharão o vírus. Cepas menos patogênicas, moderadamente virulentas, podem induzir a uma infecção crônica fazendo com que os animais excretem o vírus continuamente ou intermitentemente até a morte. Os fetos de matrizes prenhes susceptíveis, expostos ao VPSC, podem infectar-se através da placenta. A infecção congênita pode resultar em aborto, mumificação fetal, natimortos e/ou leitões fracos ou mal formação embrionária. O resultado mais frequente de infecção congênita com cepas de baixa virulência é o nascimento de leitões com infecção persistente, que disseminam o vírus sem mostrarem sinais da doença, na ausência de resposta imune. Os suínos também podem se infectar com BVDV ou BDV. Apesar destas infecções em suínos serem suaves e auto-limitantes, é importante distingui-las das infecções por VPSC.

Descrição e Princípios

IDEXX CSFV Ab é designado para detectar anticorpos do VPSC em soro ou plasma. O teste é um ELISA de bloqueio que utiliza placas microcavitárias impregnadas com antígeno do VPSC. Anticorpos presentes na amostra teste irão bloquear a ligação do conjugado específico monoclonal anti-VPSC. O anticorpo monoclonal ligado será detectado por um substrato que reage com a peroxidase. O resultado é indicado por desenvolvimento de cor. A densidade óptica é medida através de um leitor de placas em um comprimento de onda simples de 450 nm, ou em um comprimento de onda duplo de 450 nm e 650 nm.

Reagentes

Armazene todos os reagentes entre 2–8°C.

Reagentes		Volume	Volume
1	Placa impregnada com antígeno do VPSC	2	5
2	Controle positivo	1 ml	1 ml
3	Controle negativo	1 ml	1 ml
4	Conjugado (HRPO, Peroxidase de Raiz Forte Anti-VPSC)	25 ml	60 ml
5	Diluyente de Amostra	15 ml	45 ml
A	Substrato TMB No.12	20 ml	60 ml
B	Solução de Interrupção No.3	20 ml	60 ml
C	Concentrado de Lavagem (10X)	125 ml	480 ml

NOTA: veja a tabela na página 32 para descrição dos símbolos internacionais usados nos rótulos dos kits.

Materiais Necessários, mas Não Fornecidos

- Pipetas de precisão ou pipetas multicanais capazes de pipetar de 10 a 1000 μ l. De acordo com o "Protocolo do Teste", os volumes exigidos para os reagentes requerem pipeta com precisão inferior ou igual a 5%
- Ponteiros de pipeta descartáveis
- Cilindro de 500 ml para diluir a solução de lavagem
- Leitora de ELISA para placa de 96 cavidade equipada com filtro de 450 nm ou em duplo comprimento de onda de 450 nm e 650 nm
- Água Milli Q ou bi-destilada
- Dispositivo para distribuição e aspiração da solução de lavagem
- Um dispositivo para retenção do aspirado e desinfecção
- Câmara úmida e coberturas de placa ou seladora de placas
- Misturador Vortex
- Centrífuga com tubos capacidade para 2000 x.g

Precauções e Advertências aos Usuários

- Manipule todos os materiais biológicos como potencialmente infectantes.
- Não pipete com a boca
- Não coma, beba ou fume nos locais onde estão sendo manuseadas as amostras ou reagentes do kit.
- A solução de substrato TMB é irritante aos olhos, sistema respiratório e pele. Evite contato com a pele e olhos.
- Não expor solução TMB à luz forte ou a quaisquer agentes oxidantes. Manipule a solução TMB com materiais de plástico ou vidro limpos.
- Usar luvas, avental, máscara para proteger o rosto e óculos protetores
- Armazene todos os reagentes entre 2–8°C. Deixar em 18–26°C antes do uso, e retornar a 2–8°C após o uso.
- Todos os resíduos devem ser adequadamente descontaminados antes de serem eliminados. Descarte o material conforme regulamentações locais, regionais e nacionais.
- Deve-se tomar cuidado para prevenir contaminação dos componentes do kit.
- Não use componentes com prazo de validade vencido e não misture componentes de kits de diferentes números de lote.
- Resultados ótimos serão obtidos seguindo-se rigorosamente o protocolo deste teste. Pipetagem cuidadosa, observação do tempo e lavagens corretas durante todo o procedimento são necessários para manter a precisão e acurácia.
- Os dois controles devem ser usados para cada bateria de testes.
- Use somente água destilada ou deionizada para o preparo dos reagentes usados no teste.
- Cavidades não usadas devem ser armazenadas seladas dentro da bolsa plástica a 2–8°C.
- Somente para uso veterinário.

Preparo dos reagentes

Placa com microcavidades, diluente de amostra, Controle Positivo, Controle Negativo, conjugado, Solução Substrato e Solução de Interrupção, são prontos para o uso.

Solução de Lavagem

O Concentrado de Lavagem (10X) deve ser trazido à 18–26°C e homogeneizado para permitir a dissolução de qualquer sal precipitado. O Concentrado de Lavagem (10X) é diluído 1:10 em água ultrapura (Milli Q ou bi-destilada). Exemplo: Para 300 ml de Solução de Lavagem, dilua 30 ml de concentrado 10x com 270 de água ultrapura (Milli Q ou bi-destilada) e misture bem. Quando preparada em condições estéreis, a solução de lavagem pode ser estocada por 1 semana a 2–8°C.

Preparo dos amostras

Amostras de soro ou plasma frescos, refrigerados (máximo 8 dias à 2–8°C) ou congelados podem ser testados.

Protocolo do teste

Os reagentes devem estar à 18–26°C antes do uso, então misturados através de inversão e movimentos circulares suaves.

1. Adicione 50 μ l de Diluente de Amostra em cada cavidade que utilizada para as amostras teste e nas cavidades dos controles.
2. Adicione 50 μ l de Controle Positivo e Controle Negativo nas cavidades apropriadas. Use uma ponteira para cada controle.
3. Adicione 50 μ l de amostra de soro ou plasma nas cavidades restantes. Use uma ponteira para cada amostra.
4. Bata levemente na lateral da placa para misturar o conteúdo das cavidades.
5. Incube a placa por 2 horas (\pm 5 min.) ou alternativamente por uma noite á 18–26°C. Em qualquer opção de incubação, as placas devem ser seladas firmemente ou incubadas com coberturas de placa em uma câmara úmida para evitar evaporação.
6. Lave cada cavidade com aproximadamente 300 μ l de Solução de Lavagem por 3 vezes. Aspire o conteúdo líquido de todas as cavidades após cada lavagem. Evite que a placa seque entre os lavados e antes de adicionar o conjugado. Após a aspiração final, elimine o fluido de lavagem residual de cada placa batendo-a firmemente em material absorvente.
7. Adicione 100 μ l de Conjugado em cada cavidade. Incube por 30 minutos (\pm 2 min.) á 18-26°C ou em câmara úmida com a placa coberta firmemente.
8. Lave as placas (veja passo #6).
9. Adicione 100 μ l de Substrato TMB No.12 em cada cavidade e incube 10 minutos (\pm 1 min.) á 18–26°C e no escuro. Comece a contar o tempo após o preenchimento da primeira cavidade.
10. Pare a reação aos 10 minutos adicionando 100 μ l de Solução de Interrupção No.3 em cada cavidade. Adicione a Solução de Interrupção No. 3 na mesma ordem em que foi adicionada a Solução de Substrato TMB No.12 no passo #9.
11. Meça a absorbância das amostras e controles com auxílio de uma leitora de placas em comprimento de onda de 450 nm, ou usando um duplo comprimento de onda de 450 nm e 650 nm . Zerar a leitora com ar.
12. Calcule a média dos valores de absorbância (veja “Cálculos”) para cada amostra e para os controles.

Resultados

A Media do Controle Negativo OD450 deve ser maior do que 0,500. A porcentagem de bloqueio do Controle Positivo deve ser maior do que 50%. Para testes inválidos, deve-se suspeitar da técnica, e o teste deve ser repetido após a revisão cuidadosa da bula do produto.

Nota: IDEXX Laboratories, Inc. têm instrumentos e software disponíveis para o cálculo de razões das médias e razões A/P e elaboração de resumo de dados.

Cálculos

Média dos controle negativos

(CN \bar{x})

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A_{450} + CN2 A_{450}}{2}$$

Exemplo:

$$CN\bar{x} = \frac{1,280 + 1,300}{2} = 1,290$$

Média dos controles positivos

(CP \bar{x})

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A_{450} + CP2 A_{450}}{2}$$

Exemplo:

$$CP\bar{x} = \frac{0,120 + 0,140}{2} = 0,130$$

Cálculo para amostras

Porcentagem de bloqueio:


$$\frac{CN\bar{x} A_{450} - \text{Amostra } A_{450}}{CN\bar{x} A_{450}} \times 100 (\%)$$

Exemplo: Amostra 1,290

$$\frac{1,290 - 1,219}{1,290} \times 100 = 5,5\%$$

Interpretação de Resultados

- As amostras são **positivas** (anticorpos presentes) se a porcentagem de bloqueio for maior ou igual a 40%.
- As amostras são **negativas** (anticorpos ausentes) se a porcentagem de bloqueio for menor ou igual a 30%.
- Se a porcentagem de bloqueio de uma amostra estiver entre 30 – 40%, reteste o animal. Se a amostra continuar **duvidosa** após o reteste, o resultado pode ser confirmado por Soro Neutralização. Por favor, notifique o serviço oficial de seu país.

 = Modificações nas instruções de uso

Resumo do procedimento do teste

Recomenda-se enfaticamente ler as instruções completas, cuidadosamente, antes de realizar o teste.

Etapa	Ação							
1. Distribuição do Diluente de Amostra	Todos os reagentes devem atingir 18–26°C antes do uso. Deixe os reagentes descansarem à 18–26°C por no mínimo uma hora antes do uso. Adicione 50 µl de Diluente de Amostra em em cada cavidade que será testada e nas cavidades dos controles.							
2. Distribuição da Amostra	Adicione 50 µl de Controle Positivo e Controle Negativo nas cavidades apropriadas. Use uma ponteira separada para cada controle. Adicione 50 µl de amostra de soro ou plasma nas cavidades restantes. Use uma ponteira separada para cada amostra. Bata levemente na lateral da placa para misturar o conteúdo das cavidades							
3. Incubação da Amostra	Incube a placa por 2 horas (± 5 min.) ou alternativamente por uma noite à 18–26°C. Em qualquer opção de incubação, as placas devem ser seladas firmemente ou incubadas com coberturas de placa numa câmara úmida para evitar evaporação.							
4. Lavagem da Placa	Aspire o conteúdo líquido de todas as cavidades num reservatório apropriado. Lave cada cavidade com aproximadamente 300 µl de Solução de Lavagem por 3 vezes. Aspire o conteúdo líquido de todas as cavidades após cada lavagem. Evite que a placa seque entre as lavagens e antes de adicionar o conjugado. Após a aspiração final, elimine o fluido de lavagem residual de cada placa batendo-a firmemente em material absorvente.							
5. Distribuição do conjugado	Adicione 100 µl de Conjugado em cada cavidade.							
6. Incubação do Conjugado	Incube por 30 minutos (± 2 min.) à 18–26°C selado ou em câmara úmida.							
7. Repita o etapa 4								
8. Distribuição do substrato	Adicione 100 µl de Substrato TMB No.12 em cada cavidade.							
9. Incubação do substrato	Incube 10 minutos (± 1 min.) à 18–26°C e no escuro. Comece a contar o tempo após o preenchimento da primeira cavidade.							
10. Parando a reação	Pare a reação aos 10 minutos adicionando 100 µl de Solução de Interrupção No.3 em cada cavidade. Adicione a Solução de Interrupção na mesma ordem em que foi adicionada a Solução de Substrato no passo 8.							
11. Leitura da placa	Meça a absorbância das amostras e controles com auxílio de uma leitora de placas em comprimento de onda de 450 nm, ou usando um duplo comprimento de onda de 450 nm e 650 nm . Zerar a leitora com ar. Calcule a média corrigida dos valores de absorbância (veja "Cálculos") para cada amostra e para os controles.							
12. Interpretação Porcentagem de Bloqueio	<table border="1"> <tbody> <tr> <td rowspan="2">Amostras de soro, plasma</td> <td>≤30%</td> <td>>30% a <40%</td> <td>≥40%</td> </tr> <tr> <td>Negativo</td> <td>Suspeito</td> <td>Positivo</td> </tr> </tbody> </table>	Amostras de soro, plasma	≤30%	>30% a <40%	≥40%	Negativo	Suspeito	Positivo
Amostras de soro, plasma	≤30%		>30% a <40%	≥40%				
	Negativo	Suspeito	Positivo					

**Licenciado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
sob nº 6.825 em 23/03/99.**

PRODUTO IMPORTADO. USO VETERINÁRIO.

Representante exclusivo no Brasil, Importador e Distribuidor

ABASE COMÉRCIO E REPRESENTAÇÕES LTDA.

Av. Emílio Marconato, 1000 - Galpão B3

Jaguariúna – SP - CEP: 13820-000

Fone/Fax: (19) 3847-9900

CNPJ: 63.982.896/0001-71

Responsável técnico: Edison Hideyo Baba

CRMV-SP 2967

Proprietário:

IDEXX Laboratories, Inc.

One Idexx Drive, Westbrook, Maine

04092-EUA

Para assistência técnica:

Contacte o representante local IDEXX

ou visite: www.idexx.com/production/contact/

IDEXX Technical Support: 00-800-727-43399

Fabricante:

IDEXX Switzerland AG

Stationsstrasse 12

CH 3097 Liebefeld – Bern, Suíça

*IDEXX e Test With Confidence são marcas ou marcas registradas de IDEXX Laboratories Inc. ou de suas filiais nos Estados Unidos e/ou em outros países.

Kit para la detección de Anticuerpos frente al Virus de la Peste Porcina Clásica (CSFV)

Para uso veterinario exclusivo

Nombre y uso propuesto

IDEXX CSFV Ab es un ensayo inmunoenzimático de IDEXX para la detección de anticuerpos específicos frente a CSFV en suero y plasma de porcino.

Información general

Los virus de la Peste Porcina Clásica (CSFV), la Diarrea Virica Bovina (BVDV) y la Enfermedad de la Frentera (Border Disease BDV) son miembros del género Pestivirus, dentro de la familia Flaviviridae. El CSFV produce pérdidas importantes en la industria porcina debido a su elevada patogenicidad y a que puede producir mortalidad elevada. Los cerdos infectados con cepas altamente virulentas pueden eliminar un gran número de virus antes de mostrar los primeros síntomas clínicos de la enfermedad. Los animales que sobreviven a una infección aguda o subaguda desarrollan anticuerpos, y no excretan el virus en lo sucesivo. Las cepas moderadamente virulentas y menos patogénicas pueden producir una infección crónica, y en este caso los cerdos excretan el virus continua o intermitentemente hasta su muerte. Los fetos de las cerdas preñadas susceptibles, cuando se exponen al CSFV, pueden infectarse dentro de la placenta. La infección congénita puede producir aborto, momificación fetal, nacimientos prematuros y/o el nacimiento de lechones débiles o malformaciones embrionarias. El resultado más frecuente de la infección congénita con cepas de virulencia baja es el nacimiento de lechones persistentemente infectados, que extienden el virus sin mostrar signos de la enfermedad, y en ausencia de una respuesta inmunitaria. Los cerdos se pueden también infectar con BVDV o BDV. Aunque estas infecciones en los cerdos son usualmente leves y autolimitantes es importante distinguir las de una forma fiable de la infección por CSFV.

Descripción y principios

IDEXX CSFV Ab se ha diseñado para detectar en suero o plasma anticuerpos específicos frente a CSFV. El ensayo es un ELISA de bloqueo que utiliza placas de microtitulación tapizadas con antígeno CSFV. Los anticuerpos presentes en la muestra bloquean la unión de la peroxidasa conjugada a los anticuerpos monoclonales específicos de CSFV. El resultado se indica por el desarrollo de color. La densidad óptica se mide con un lector de microplacas a una única longitud de onda de 450 nm, o a una longitud de onda dual de 450 nm y 650 nm. El desarrollo de color es débil (resultado positivo) cuando hay presencia de anticuerpos específicos CSFV en la muestra. El desarrollo de color es máximo (resultado negativo) cuando hay ausencia de anticuerpos específicos. El porcentaje de bloqueo de la muestra se calcula a partir de la densidad óptica (OD450) obtenida con la muestra y la OD450 del control negativo.

Reactivos

Conserve todos los reactivos a 2–8°C.

Reactivos		Volumen	Volumen
1	Placas tapizadas con Antígeno CSFV	2	5
2	Control Positivo	1 ml	1 ml
3	Control Negativo	1 ml	1 ml
4	Conjugado (anti-CSFV HRPO)	25 ml	60 ml
5	Diluyente de la Muestra	15 ml	45 ml
A	Substrato TMB n.º12	20 ml	60 ml
B	Solución de Frenado n.º3	20 ml	60 ml
C	Solución de Lavado Concentrada (10X)	125 ml	480 ml

NOTA: Ver tabla en la página 32 para las explicaciones de los símbolos internacionales utilizados en las etiquetas del kit.

Materiales necesarios que no se suministran

- Pipetas de precisión monocanal o multicanal apropiadas para distribuir de 10 a 1000 μ l. Los volúmenes de los reactivos descritos en el apartado “Protocolo del ensayo” requieren una pipeta con una precisión inferior o igual al 5%.
- Puntas de pipeta desechables.
- Recipiente graduado de 500 ml para la solución de lavado.
- Agua bidestilada o agua de Milli Q
- Sistema de recogida del aspirado y del desinfectante
- Cámara húmeda y cubiertas de plástico o selladores de placas
- Lector de microplacas provisto de filtro de 450 nm o usando doble longitud de onda, a 450 nm y 650 nm
- Vortex
- Tubos para centrifuga o microtubos

Precauciones y advertencias para los usuarios

- Maneje todo el material biológico como material potencialmente infectado.
- No use la boca para pipetear.
- No coma, beba ni fume en los lugares donde se esté trabajando con las muestras o los reactivos del kit.
- La solución sustrato TMB irrita los ojos, las vías respiratorias y la piel. Evite el contacto con la piel y los ojos.
- Lleve guantes/prendas/gafas/máscara de protección
- No exponga la solución TMB a una luz intensa ni a agentes oxidantes. Maneje dicha solución con material limpio de plástico o vidrio.
- Almacene todos los reactivos 2–8°C. Deje que adquieran 18–26°C) antes de utilizarlos, y refrigérelos de nuevo a entre 2–8°C después del uso.
- Todo el material usado deberá descontaminarse adecuadamente antes de su eliminación. Eliminar el contenido en conformidad con las regulaciones locales, regionales y nacionales
- Manipule con cuidado los componentes del kit para evitar contaminaciones.
- No use componentes que hayan caducado y no mezcle componentes de diferentes lotes.
- Obtendrá resultados óptimos si sigue escrupulosamente este protocolo. Para mantener la precisión y reproducibilidad es necesario un pipeteo correcto, respetar los tiempos de incubación y un lavado adecuado.
- Los dos controles deben usarse para cada serie de ensayos.
- Utilice sólo agua desionizada o destilada para la preparación de los reactivos que se empleen en el ensayo.
- Los pocillos que no se usen deberán almacenarse bien cerrados dentro de su bolsa de plástico entre 2–8°C.
- Sólo para uso veterinario.

Preparación de los reactivos

Las microplacas tapizadas, el diluyente de la muestra, el control positivo, el control negativo, el conjugado, la solución de sustrato y la solución de frenado se suministran listas para su uso.

Solución de Lavado

La Solución de Lavado Concentrada (10X) debe dejarse que adquiera 18–26°C y agitarse para asegurar la disolución de posibles sales precipitadas. El concentrado (10X) debe ser diluido al 1:10 en agua ultrapura (Milli Q o bidestilada). Preparándose en condiciones estériles, la Solución de Lavado puede almacenarse durante una semana entre 2–8°C. Ejemplo: Para 300 ml de Solución de Lavado, diluir 30 ml de Solución de Lavado Concentrada (10X) con 270 ml de agua ultrapura (Milli Q o bidestilada) y mezclar bien.

Preparación de las muestras

Se puede utilizar con esta prueba suero o plasma fresco, refrigerado (no más de 8 días a 4°C) o congelado.

Protocolo del ensayo

Todos los reactivos deben alcanzar 18–26°C antes de su uso. Los reactivos deberán mezclarse invirtiéndolos o agitándolos en un vórtex suavemente.

1. Añadir 50 μ l de Diluyente de la Muestra a todos los pocillos que se utilizarán en la prueba y a los pocillos control.
2. Añadir 50 μ l de Control Positivo y negativo a los pocillos apropiados. No emplear la misma punta de pipeta para los diferentes sueros control.
3. Añadir 50 μ l de la muestra de suero o plasma en el resto de la placa. No emplear las mismas puntas de pipeta para muestras diferentes.
4. Mezclar los contenidos de los micropocillos moviendo suavemente la placa o mediante el empleo de un agitador de placas de microtitulación.
5. Incubar las placas durante 2 horas (\pm 5 min.) o toda la noche (12–18 horas) a 18–26°C. En cualquier opción de incubación, las placas deben sellarse firmemente para evitar evaporaciones, o incubarse con cubiertas en una cámara húmeda.
6. Lave cada pocillo con aproximadamente 300 μ l de Solución de Lavado tres veces. Aspire los contenidos líquidos de todos los pocillos después de cada lavado. Después de la aspiración final, elimine el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola sobre material absorbente. Evite que las placas se sequen entre los lavados y antes de añadir el reactivo siguiente.
7. Añadir 100 μ l de Conjugado a cada pocillo. Incubar las placas, selladas con una hoja de plástico o en una cámara húmeda tapada con cubiertas para placas, durante 30 minutos a 18–26°C.
8. Lavar los pocillos (ver paso 6).
9. Añadir 100 μ l de Substrato TMB n.º 12 a cada pocillo e incubar 10 minutos (\pm 1 min.) a 18–26°C lejos de la luz directa. Comenzar a cronometrar una vez llenado el primer pocillo.
10. Parar la reacción al cabo de 10 minutos, añadiendo 100 μ l de Solución de Frenado n.º 3 a cada pocillo. Añadir la Solución de Frenado n.º 3 en el mismo orden que se añadió el Substrato TMB n.º 12 en el paso 9.
11. Medir la absorbancia de las muestras y controles a 450 nm, o empleando una longitud de onda dual de 450 nm y 650 nm en un lector de microplacas (emplear aire como blanco).
12. Calcular la media de los valores de absorbancia (ver “Cálculos”) para cada muestra desconocida analizada a la prueba y para los controles.

Resultados

La media del valor OD450 del Control Negativo debe tener una densidad óptica superior a 0,500. El Control Positivo debe presentar un porcentaje de bloqueo mayor del 50%.

NOTA: IDEXX tiene a disposición instrumentos y sistemas de software para el cálculo de valores medios y % de bloqueo, y la elaboración de resúmenes de datos.

Cálculos

Cálculo de la media del Control Negativo (CN \bar{x})

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A_{450} + CN2 A_{450}}{2}$$

Ejemplo:

$$CN\bar{x} = \frac{1,280 + 1,300}{2} = 1,290$$

Cálculo de la media del Control Positivo (CP \bar{x})

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A_{450} + CP2 A_{450}}{2}$$

Ejemplo:

$$CP\bar{x} = \frac{0,120 + 0,140}{2} = 0,130$$

Cálculo del resultado de las muestras analizadas

Porcentaje de Bloqueo:

$$\frac{CN\bar{x} A_{450} - \text{Muestra } A_{450}}{CN\bar{x} A_{450}} \times 100 (\%)$$

Ej: resultado de la muestra 1,219

$$\frac{1,290 - 1,219}{1,290} \times 100 = 5,5\%$$

Interpretación de los resultados

- La muestra es **positiva** (contiene anticuerpos) si da un porcentaje de bloqueo mayor o igual al 40%.
- La muestra es **negativa** (no contiene anticuerpos) si da un porcentaje de bloqueo menor o igual al 30%.
- Si el porcentaje de bloqueo de la muestra está entre el 30% y el 40%, volver a analizar al animal en una fecha posterior. Si el resultado vuelve a ser **dudoso**, se puede verificar el resultado con un test de neutralización del suero. Por favor consultar la reglamentación legal de cada país.

☞ = *Modificación en el manual de instrucciones.*

Resumen del protocolo del test

Se recomienda antes de la realización del test por primera vez, realizar una lectura completa del manual de instrucciones

Paso	Acción							
1. Distribución del Diluyente de la Muestra	Todos los reactivos deben alcanzar 18–26°C antes de su uso. Para ello se les dejará en reposo en el lugar donde se trabajará durante al menos una hora antes de ser utilizados. Añadir 50 µl de Diluyente de la Muestra a todos los pocillos que se utilizarán en la prueba y a los pocillos control							
2. Distribución de las muestras	Añadir 50 µl de Control Positivo y Control Negativo a los pocillos apropiados. Emplear una punta de pipeta para cada control. Añadir 50 µl de la muestra de suero o plasma en el resto de la placa. Emplear una punta de pipeta para cada muestra. Mezclar los contenidos de los micropocillos moviendo suavemente la placa o mediante el empleo de un agitador para placas de microtitulación.							
3. Incubación de las muestras	Incubar las placas durante 2 horas (± 5 min.) o toda la noche (12-18 horas) a 18–26°C. En cualquier opción de incubación, las placas deben sellarse firmemente para evitar evaporaciones, o incubarse con cubiertas en una cámara húmeda.							
4. Lavado de la placa	Aspire los contenidos líquidos de los pocillos en un recipiente de desechos apropiado. Lave cada pocillo con aproximadamente 300 µl de Solución de Lavado tres veces. Aspire los contenidos líquidos de todos los pocillos después de cada lavado. Después de la aspiración final, elimine el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola sobre material absorbente.							
5. Distribución del conjugado	Añadir 100 µl de Conjugado a cada pocillo.							
6. Incubación del conjugado	Incubar las placas, selladas con una hoja de plástico o en una cámara húmeda, durante 30 (± 2 min.) minutos a 18°–26°C.							
7. Repetir la etapa 4								
8. Distribución del sustrato	Añadir 100 µl de Sustrato TMB n.º12 a cada pocillo.							
9. Incubación del sustrato	Incubar 10 minutos (± 1 min.) a 18–26°C y lejos de la luz directa. Comenzar a cronometrar una vez llenado el primer pocillo.							
10. Frenado de la reacción	Parar la reacción al cabo de 10 minutos, añadiendo 100 µl de Solución de Frenado n.º3 a cada pocillo. Añadir la Solución de Frenado n.º3 en el mismo orden que se añadió el Sustrato TMB n.º12 en el paso 8.							
11. Medición de la placa	Medir la absorbancia de las muestras y controles a 450 nm, o empleando una longitud de onda dual de 450 nm y 650 nm en un lector de microplacas (emplear aire como blanco). Calcular la media de los valores de absorbancia (ver "Cálculos") para cada muestra desconocida analizada y para los Controles.							
12. Interpretación % de Bloqueo	<table border="1"> <tr> <td rowspan="2">Muestras de suero, plasma</td> <td>≤30%</td> <td>>30% a <40%</td> <td>≥40%</td> </tr> <tr> <td>Negativo</td> <td>Dudoso</td> <td>Positivo</td> </tr> </table>	Muestras de suero, plasma	≤30%	>30% a <40%	≥40%	Negativo	Dudoso	Positivo
Muestras de suero, plasma	≤30%		>30% a <40%	≥40%				
	Negativo	Dudoso	Positivo					

Fabricado por:

IDEXX Switzerland AG
Stationsstrasse 12
3097 Liebefeld-Bern, Switzerland

Para asistencia técnica:

contacte el representante local IDEXX
o visite: www.idexx.com/production/contact
IDEXX US Technical Support: 00-800-727-43399

N.º de registro: 0336-RD

*IDEXX y Test With Confidence son marcas o marcas registradas de IDEXX Laboratories, Inc. o sus filiales en los Estados Unidos de América y/o en otros países.

Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der klassischen Schweinepest (CSFV)

Gebrauchsinformation. In vitro-Diagnostikum. Nur zum tierärztlichen Gebrauch:

Name und Verwendungszweck

IDEXX CSFV Ab ist ein Markenzeichen von IDEXX für einen Enzymimmunoassay zum Nachweis von CSFV spezifischen Antikörpern in Serum- und Plasmaproben von Schweinen.

Allgemeine Informationen

Das Virus der Klassischen Schweinepest (Classical Swine Fever Virus, CSFV) gehört wie das Virus der Bovinen Viralen Diarrhoe (BVDV) und das Virus der Border Disease (BDV) zum Genus der Pestiviren aus der Familie der Flaviviridae. CSFV verursacht in der Schweineproduktion erhebliche Verluste, da es hochgradig pathogen ist und zu hohen Todesziffern führen kann. Mit hochvirulenten Stämmen infizierte Schweine können bereits vor der Entwicklung klinischer Anzeichen der Erkrankung große Virusmengen ausscheiden. Tiere, die eine akute oder subakute Infektion überleben, bilden Antikörper und sind dann keine Ausscheider mehr. Weniger pathogene Stämme verursachen chronische Infektionen; hiervon betroffene Tiere scheiden das Virus lebenslang kontinuierlich oder intermittierend aus. Infizierte Muttertiere können die Erkrankung durch die Plazenta auf die Föten übertragen. Eine kongenitale Infektion kann zu Aborten, mumifizierten Föten, schwachen oder totgeborenen Würfen oder Mißbildungen der Embryonen führen. Die häufigste Folge kongenitaler Infektionen ist die Geburt persistierend infizierter Ferkel, die aufgrund einer fehlenden Immunreaktion das Virus ohne klinische Anzeichen einer Erkrankung ausscheiden. Die Tiere können zusätzlich eine BVDV oder BDV-Infektion aufweisen. Diese Erkrankungen verlaufen bei Schweinen üblicherweise ohne klinische Erscheinungen. Dennoch ist es wichtig, diese Virusinfektionen zuverlässig von der Schweinepest zu unterscheiden. Infektionen mit dem Virus des Klassischen Schweinepest (CSFV) sowie SFV-Impftiter können durch Tests auf CSFV-Antikörper nachgewiesen werden.

Beschreibung des Testprinzips

Der IDEXX CSFV Ab dient dem Nachweis von CSFV spezifischen Antikörpern in Serum- und Plasmaproben von Schweinen. Bei dem Test handelt es sich um einen kompetitiven ELISA unter Verwendung von Mikrotiterplatten, deren Vertiefungen mit CSFV-Antigen beschichtet wurden. Die Probe wird in die beschichtete Vertiefung eingebracht, wo die Antikörper in der Probe mit den CSFV-spezifischen monoklonalen Antikörpern um die Antigen-Bindestellen konkurrieren. Ungebundenes Material wird durch einen Waschschrift ausgespült. Die gebundenen monoklonalen Antikörper werden durch ein Meerrettichperoxidase-Konjugat und ein mit dem Konjugat reagierendes Substrat nachgewiesen. Das Ergebnis wird durch eine Farbreaktion angezeigt. Die Farbintensität wird mit einem Photometer bei einer einfachen Wellenlänge von 450 nm oder einer dualen Wellenlänge von 450 nm und 650 nm gemessen. Enthält die Probe CSFV-spezifische Antikörper, so tritt eine schwache Farbreaktion ein (positives Ergebnis). Liegen in der Probe keine spezifischen Antikörper vor, so findet eine sehr starke Farbreaktion statt (negatives Ergebnis). Die prozentuale Hemmung durch die Probe wird auf der Grundlage der Optischen Dichte der Probe (OD 450) und des negativen Kontrollserums errechnet.

Reagenzien

Alle Reagenzien bei 2–8°C lagern.

Reagenzien		Menge	Menge
1	Mit CSFV- Antigen beschichtete Testplatten (inaktiviert)	2	5
2	Positive Kontrolle	1 ml	1 ml
3	Negative Kontrolle	1 ml	1 ml
4	(CSFV-Antikörper) Konjugat	25 ml	60 ml
5	Probenverdünner	15 ml	45 ml
A	TMB-Substrat Nr.12	20 ml	60 ml
B	Stopplösung Nr.3	20 ml	60 ml
C	Waschkonzentrat (10X)	125 ml	480 ml

Hinweis: Die Tabelle auf Seite 32 mit den Beschreibungen der auf den Testkit-Etiketten gebrauchten Symbole beachten.

Notwendiges Material, das nicht mitgeliefert wird

- Präzisionspipetten: 10 μl bis 1000 μl – die erforderliche Messgenauigkeit muss für sämtliche angegebenen Mengen weniger oder gleich 5% betragen
- Einweg-Pipettenspitzen
- Messzylinder: 500 ml für die Waschlösung
- Photometer mit 450 nm oder duale Wellenlänge mit 450 und 650 nm Filtern für Mikrotiterplatten mit 96 Vertiefungen
- Milli Q oder doppelt destilliertes Wasser
- Gerät zur Abgabe und Aufnahme von Waschlösung
- Ein Behälter zur Aufnahme des abgesaugten Materials
- Feuchte Kammer oder Plattenabdeckung
- Vortex-Mischer
- Zentrifugen- oder Mikrozentrifugenröhrchen

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

- Das Testmaterial als potentiell infektiös behandeln.
- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- Wo mit Proben oder Reagenzien gearbeitet wird, darf nicht gegessen, getrunken oder geraucht werden.
- Die Substratlösung ruft Augen-, Atemwegs- und Hautreizungen hervor. Einatmen, Haut- und Augenkontakt ist zu vermeiden.
- Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen
- Die TMB-Substratlösung nicht starkem Licht oder oxidierenden Substanzen aussetzen.
- Die Reagenzien bei 2–8°C lagern, vor Gebrauch auf 18–26°C bringen und anschließend wieder bei 2–8°C aufbewahren.
- Das Testmaterial ist nach Abschluss des Testes als infektiös zu betrachten und darf nur inaktiviert entsorgt werden. Die Entsorgung infektiöser Materialien sollte nach den lokalen, regionalen und nationalen Bestimmungen erfolgen.
- Eine Kontamination der Kitbestandteile mit Bakterien oder Pilzen muss sorgfältig vermieden werden. Daher bei der Handhabung der Reagenzien mit größter Sauberkeit vorgehen.
- Testbestandteile nicht nach Ablauf des Verfalldatums verwenden und Testbestandteile und Testanweisungen nicht mit Bestandteilen aus anderen Chargen mischen.
- Optimale Ergebnisse erreicht man nur bei strenger Einhaltung der Testanweisung. Präzision und Genauigkeit werden durch sorgfältiges Pipettieren und Waschen erzielt.
- Bei jeder Testserie die beiden Kontrollseren mitführen.
- Zur Vorbereitung der Reagenzien nur destilliertes oder demineralisiertes Wasser verwenden. Alle Anweisungen dieser Gebrauchsinformation sorgfältig lesen und befolgen.
- Nicht verwendete Teststreifen bei 2–8°C im verschlossenen Plastikbeutel lagern.
- Nur zum tierärztlichen Gebrauch.

Vorbereitung der Reagenzien

Die Mikrotiterstreifen, die positive und negative Kontrolle, das Konjugat, die Substratlösung und die Stopplösung sind gebrauchsfertig.

Waschlösung

Das Waschkonzentrat (10X) auf Raumtemperatur bringen und eventuell ausgefällte Salzkristalle durch Schütteln der Flasche in Lösung bringen. Das Waschkonzentrat (10X) muss 1:10 mit ultrapurifiziertem Wasser (Milli Q oder Aqua bidest.) verdünnt werden. Bei steriler Behandlung kann die Waschlösung eine Woche bei 2–8°C aufbewahrt werden.

Zubereitungsbeispiel: 30 ml Waschkonzentrat (10X) + 270 ml ultrapurifiziertes Wasser (Milli Q oder Aqua bidest.) = 300 ml gebrauchsfertige Waschlösung. Gut mischen (Vortex).

Vorbereitung der Proben

Für den Test eignen sich Serum- oder Plasmaproben, die frisch bzw. nach gekühlter (bis zu 8 Tage bei 2–8°C) oder tiefgekühlter Lagerung analysiert werden können.

Testanweisung

Alle Reagenzien müssen vor Gebrauch auf 18–26°C gebracht werden. Die Reagenzien durch leichtes Schütteln mischen.

1. 50 µl Probenverdünner in jede benötigte Vertiefung geben.
2. In die entsprechenden Vertiefungen 50 µl positive Kontrolle bzw. 50 µl negative Kontrolle geben. Für verschiedene Kontrollseren jeweils separate Pipettenspitzen verwenden.
3. In die verbleibenden Vertiefungen je 50 µl der Serum- oder Plasmaproben einbringen. Für jede Probe eine neue Pipettenspitze verwenden.
4. Den Inhalt durch vorsichtiges Klopfen an die Mikrotiterplatte mischen oder einen Schüttler für Mikrotiterplatten verwenden.
5. Die Mikrotiterplatten sorgfältig abgedeckt oder abgedeckt in einer feuchten Kammer 2 Stunden (\pm 5 Min.) oder über Nacht (12 – 18 Stunden) bei 18–26°C inkubieren.
6. Jede Vertiefung dreimal mit etwa 300 µl Waschlösung waschen. Den flüssigen Inhalt aus jeder Vertiefung nach jedem Waschen entfernen. Nach dem letzten Waschschrift vorsichtig, aber fest die Reste der Waschlösung aus den Vertiefungen auf ein Stück Saugpapier klopfen. Ein Austrocknen der Vertiefungen zwischen den einzelnen Waschsritten und vor Zugabe der nächsten Reagenzien ist zu vermeiden.
7. In jede Vertiefung 100 µl Konjugat einbringen und 30 Minuten (\pm 2 Min.) sorgfältig abgedeckt oder abgedeckt in einer feuchten Kammer bei 18 – 26°C inkubieren.
8. Platten bzw. Streifen waschen (siehe Schritt 6).
9. In jede Vertiefung 100 µl TMB-Substrat Nr.12 geben und 10 Minuten (\pm 1 Min.) bei 18–26°C nicht in direktem Tageslicht inkubieren. Mit der Zeitmessung nach dem Füllen der ersten Vertiefung beginnen.
10. Nach 10 Minuten in jede Vertiefung 100 µl Stopplösung Nr.3 einbringen, um die Reaktion zu beenden. Die Stopplösung ist in der gleichen Reihenfolge zuzugeben wie die Substratlösung (siehe Schritt 9).
11. Die Extinktionswerte der Proben und Kontrollen mit dem Photometer bei 450 nm (oder für duale Wellenlänge bei 450 nm und 650 nm) messen. Vorher einen Nullabgleich des Instruments gegen Luft vornehmen.
12. Die korrigierte mittlere Extinktion für die Proben und Kontrollen ermitteln (siehe Abschnitt „Berechnungen“).

Ergebnisse

Der Test ist gültig, wenn der OD450-Wert der negativen Kontrolle größer als 0,500 ist. Weiterhin muss die Hemmung durch die positive Kontrolle über 50% betragen.

Hinweis: IDEXX bietet auch Instrumente und Software zur Berechnung der Mittel- und Hemmwerte an.

Berechnungen

Berechnung des Mittelwertes der negativen Kontrolle (NK \bar{x})

$$NK\bar{x} = \frac{NK1 A_{450} + NK2 A_{450}}{2}$$

Beispiel:

$$NK\bar{x} = \frac{1,280 + 1,300}{2} = 1,290$$

Berechnung des Mittelwertes der positiven Kontrolle (PK \bar{x})

$$PK\bar{x} = \frac{PK1 A_{450} + PK2 A_{450}}{2}$$

Beispiel:

$$PK\bar{x} = \frac{0,120 + 0,140}{2} = 0,130$$

Berechnung der prozentualen Hemmung

$$\frac{NK\bar{x} A_{450} - \text{Probe } A_{450}}{NK\bar{x} A_{450}} \times 100 (\%)$$

Beispiel: Probenwert 1,219

$$\frac{1,290 - 1,219}{1,290} \times 100 = 5,5\%$$

Interpretation der Ergebnisse

- Das Ergebnis gilt als **positiv** (d.h. die Probe enthält Antikörper), wenn die Hemmung durch die Probe über 40% liegt.
- Das Ergebnis gilt als **negativ** (d.h. in der Probe liegen keine Antikörper vor), wenn die Hemmung durch die Probe unter 30% liegt.
- Wenn der Wert für die Hemmung durch die Probe zwischen 30% und 40% beträgt, sollte der Test für dieses Tier wiederholt werden. Liegt die Probe auch in der Wiederholungsuntersuchung im **fraglichen** Bereich, sollte die Probe im Serumneutralisationstest untersucht werden.

☞ = Wichtige Veränderung der Gebrauchsinformation (Protokoll, Validationskriterien oder Auswertung)

Kurzbeschreibung

Es ist empfehlenswert, vor dem ersten Gebrauch des Testkits die gesamte Anleitung durchzulesen.

Schritt	Handlung								
1. Probenverdünner	Alle Reagenzien müssen vor Gebrauch auf 18 –26°C gebracht werden. Die Reagenzien durch leichtes Schütteln mischen. 50 µl Probenverdünner in jede benötigte Vertiefung geben.								
2. Probenverteilung	In die entsprechenden Vertiefungen 50 µl positive Kontrolle bzw. 50 µl negative Kontrolle geben. Für verschiedene Kontrollserien jeweils separate Pipettenspitzen verwenden. In die verbleibenden Vertiefungen je 50 µl der Serum- oder Plasmaproben einbringen. Für jede Probe eine neue Pipettenspitze verwenden. Den Inhalt durch vorsichtiges Klopfen an die Mikrotiterplatte mischen oder einen Schüttler für Mikrotiterplatten verwenden.								
3. Probeninkubation	Die Mikrotiterplatten sorgfältig abgedeckt oder abgedeckt in einer feuchten Kammer 2 Stunden (±5 Min.) oder über Nacht (12-18 Stunden) bei 18- 26°C inkubieren.								
4. Waschen der Platte	Den flüssigen Inhalt aus jeder Vertiefung entfernen. Jede Vertiefung dreimal mit etwa 300 µl Waschlösung waschen. Den flüssigen Inhalt aus jeder Vertiefung nach jedem Waschen entfernen. Nach dem letzten Waschschrift vorsichtig, aber fest die Reste der Waschlösung aus den Vertiefungen auf ein Stück Saugpapier klopfen.								
5. Konjugatverteilung	In jede Vertiefung 100 µl Konjugat einbringen.								
6. Konjugatinkubation	30 Minuten (±2 Min.) sorgfältig abgedeckt oder abgedeckt in einer feuchten Kammer bei 18- 26°C inkubieren.								
7. Schritt 4 wiederholen									
8. Substratverteilung	In jede Vertiefung 100 µl TMB-Substrat Nr.12 geben.								
9. Substratinkubation	10 Minuten (±1 Min.) bei 18 - 26°C nicht in direktem Tageslicht inkubieren. Mit der Zeitmessung nach dem Füllen der ersten Vertiefung beginnen.								
10. Stoppen der Reaktion	Nach 10 Minuten in jede Vertiefung 100 µl Stopplösung Nr.3 einbringen, um die Reaktion zu beenden. Die Stopplösung ist in der gleichen Reihenfolge zuzugeben wie die Substratlösung (siehe Schritt 8).								
11. Messen der Platte	Die Extinktionswerte der Proben und Kontrollen mit dem Photometer bei 450 nm (oder für duale Wellenlänge bei 450 nm und 650 nm) messen. Vorher einen Nullabgleich des Instruments gegen Luft vornehmen. Die korrigierte mittlere Extinktion für die Proben und Kontrollen ermitteln (siehe Abschnitt „Berechnungen“).								
12. Interpretation (% Hemmung)	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Serum, Plasma,</th> <th>≤30%</th> <th>>30% bis <40%</th> <th>≥40%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>negativ</td> <td>fraglich</td> <td>positiv</td> </tr> </tbody> </table>	Serum, Plasma,	≤30%	>30% bis <40%	≥40%		negativ	fraglich	positiv
Serum, Plasma,	≤30%	>30% bis <40%	≥40%						
	negativ	fraglich	positiv						

Produziert durch:
IDEXX Switzerland AG
Stationsstrasse 12
3097 Liebfeld-Bern, Switzerland

Für technische Unterstützung:
Kontaktieren Sie Ihren lokalen IDEXX-Vertreter
oder besuchen Sie unsere Webseite
www.idexx.com/production/contact
IDEXX Technical Support: 00-800-727-43399

Zul.–Nr.: BFAV/KSP/D11a/98

*IDEXX und Test With Confidence sind Schutzmarken oder eingetragene Schutzmarken von IDEXX Laboratories, Inc. oder eines Tochterunternehmens von IDEXX in den Vereinigten Staaten und/oder in anderen Ländern.

**Symbol Descriptions / Descriptions des symboles / Symbol-Beschreibungen /
Descrizione dei simboli / Descripciones de los símbolos / Descrições do símbolos**

<p>Batch Code (Lot) Numéro de lot Chargenbezeichnung (Ch.-B.) Codice del lotto (partita) Código de lote (Lote) Número de Partida (Lote)</p>	<p>Use by date À utiliser avant la date Verwendbar bis Usare entro Usar antes de Data de Vencimento</p>
<p>Serial Number Numéro de série Seriennummer Numero di serie Número de serie Número de série</p>	<p>Control positive Contrôle positif Positive Kontrolle Controllo Positivo Control Positivo Controle Positivo</p>
<p>Catalog Number Numéro de catalogue Katalognummer Numero di catalogo Número de catálogo Número de catálogo</p>	<p>Control negative Contrôle négatif Negative Kontrolle Controllo Negativo Control Negativo Controle Negativo</p>
<p>Date of manufacture Date de fabrication Herstellungsdatum Data di produzione Fecha de fabricación Data de Fabricação</p>	<p>In vitro diagnostic Diagnostic in vitro In vitro-Diagnostikum Diagnostico in vitro Diagnóstico in-vitro Diagnóstico in-vitro</p>
<p>Manufacturer Fabricant Hersteller Ditta produttrice Fabricante Fabricante</p>	<p>Temperature limitation Limite de température Zulässiger Temperaturbereich Limite di temperatura Limite de temperatura Limite de temperatura</p>
<p>Authorized Representative in the European Community Représentant agréé pour la Communauté européenne Autorisierte EG-Vertretung Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea Representante autorizado na Comunidade Européia Representante autorizado en la Comunidad Europea</p>	<p>Consult instructions for use Manuel de l'utilisateur; mode d'emploi Gebrauchsinformation beachten Consultare le istruzioni per l'uso Consultar las instrucciones de uso Consulte instruções para o uso</p>

IDEXX

Manufacturer

IDEXX Switzerland AG
Stationsstrasse 12
3097 Liebefeld-Bern
Switzerland

EU-Representative

IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1334
2130 EK Hoofddorp
The Netherlands
idexx.com