

**Classical Swine Fever Virus Antigen Test Kit
(CSFV) / Serum Plus**

**Kit de détection antigénique du virus de la Peste
Porcine Classique (CSFV) / Sérum Plus**

**Kit para Detecção de Antígeno do Vírus da Peste Suína
Clássica (VPSC) / Soro Plus**

**Kit para la detección de Antígeno del Virus de la Peste
Porcina Clásica (CSFV) / Suero Plus**

**Testkit zum Nachweis des Virus der klassischen
Schweinepest (CSFV) / Serum Plus**

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

Classical Swine Fever Virus Antigen Test Kit (CSFV) / Serum Plus

For veterinary use only

Name and Intended Use

IDEXX CSFV Ag Serum Plus is IDEXX's enzyme immunoassay for the detection of CSFV antigens in swine serum, plasma and tissue (preferably tonsils, spleen, mesenteric lymph node or kidneys) samples.

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 an obligate pathogen 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, virus detection in such cases is very rare. Since the IDEXX CSFV Ag Serum Plus test has high sensitivity for all pestiviruses, the detection of BVDV or BDV cannot be excluded. Positive results should therefore be confirmed with a CSFV specific assay.

Descriptions and Principles

A microtitration format has been configured by immobilizing specific monoclonal antibodies on the plates. CSFV Ag of the sample is captured on the plates. After incubation of the test sample in the well, captured CSFV Ag is detected by specific polyclonal antiserum for CSFV (E^{ms}) and a horseradish-peroxidase Conjugate. Next, unbound Conjugate is washed away and a Substrate/chromogen solution is added. In the presence of enzyme, Substrate is converted into a product which reacts with the chromogen to generate a blue color. Upon addition of the Stop Solution, a yellow color is generated. The absorbance at a single wavelength of 450 nm [A(450)] or a dual wavelength of 450 nm and 650 nm [A(450/650)] is measured using a spectrophotometer. The corrected OD value of the samples is calculated by using the absorbance [A(450)] or [A(450/650)] obtained with the test sample and corrected for the absorbance of the Negative Control.

Reagents

		Volume	
1	Anti-E ^{ms} mAb Coated Plate	2	5
2	Positive Control	1 x 1.6 mL	1 x 2.0 mL
3	Negative Control	1 x 1.6 mL	1 x 2.0 mL
4	Conjugate	1 x 25 mL	1 x 60 mL
5	Tissue Soaking Buffer Concentrate (2X)	1 x 115 mL	2 x 115 mL

A	TMB Substrate N.12	1 x 20 mL	1 x 60 mL
B	Stop Solution N.3	1 x 20 mL	1 x 60 mL
C	Wash Concentrate (10X)	1 x 125 mL	1 x 480 mL
D	Detection Solution	1 x 15 mL	1 x 30 mL

Note: See table at the end of the insert for a description of international symbols used on the labels of this kit.

Storage

Store the reagents at 2–8°C. Reagents are stable until expiration date, provided they have been stored properly.

Materials Required but Not Provided

- Precision micropipettes or multi-dispensing micropipettes
- Disposable pipette tips
- Graduated cylinder for wash solution
- 96-well microplate reader (equipped with single 450 nm filter or dual filters at 450 nm and 650 nm)
- Microplate washer (manual, semi-automatic or automatic system)
- Use only distilled or deionized water for preparation of the reagents used in the test
- Microplate covers (lid, aluminium foil or adhesive)
- Humid Chamber/ Incubator capable of maintaining a temperature of +37°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$)
- Vortex or equivalent
- Centrifuge (capacity 1500 x g)

Precautions and Warnings for Users

- Handle all biological material as potentially infectious.
- The Substrate solution is irritating to eyes, respiratory system, and skin. Avoid contact with skin and eyes.
- Wear protective gloves/protective clothing/eye or face protection when handling samples and reagents.
- Refer to the product Material Safety Data Sheet for additional information.

Laboratory Practices

- 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.
- Do not expose TMB solution to strong light or any oxidizing agents. Handle TMB solution with clean glass or plastic ware.
- 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 contamination of kit components. Do not pour unused reagents back into containers.
- Do not use kit past expiration date and do not intermix components from kits with different lot numbers.

Preparation of Reagents

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 with distilled/deionized water before use (e.g., 30 mL of Wash Concentrate (10X) plus 270 mL of distilled/deionized water per plate to be assayed). When prepared under sterile conditions, the Wash Solution can be stored for one week at 2–8°C.

Tissue soaking buffer

The Tissue Soaking Buffer Concentrate (2X) should be brought to 18–26°C and mixed to ensure dissolution of any precipitated salts. The Tissue Soaking Buffer Concentrate (2X) must be diluted 1:2 with distilled/deionized water before use. The amount of diluted Tissue Soaking Buffer needs to be calculated as required. When prepared under sterile conditions, the diluted Tissue Soaking Buffer can be stored for up to two weeks at 2–8°C.

Sample preparation

Serum and Plasma Samples

Fresh or frozen serum and plasma samples can be tested.

Tissues

Use preferably fresh tissues but, if necessary, tissues can be stored frozen. Process one or two tissues from each animal submitted, preferably tonsils, spleen, mesenteric lymph node or kidneys.

- a.) With scissors, cut tissue into small pieces (250 mg).
- b.) Place the tissue pieces into an appropriate centrifuge tube or an Eppendorf tube and add 1 mL Tissue Soaking Buffer. Vortex. Leave at 18–26°C for 1–2 hours.
- c.) Centrifuge at 1,500 x g for 10 minutes and use 50 μ L of the clean supernatant for testing as described in the Test Procedure.

Please use the overnight incubation protocol for tissue samples!

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. Obtain coated plate(s) and record the sample position on a worksheet.
2. Add 50 μ L of Detection Solution into each well. A multichannel pipette (8 or 12 channel) can be used for this step.
3. Add 50 μ L of Negative Control into two appropriate wells.
4. Add 50 μ L of Positive Control into two appropriate wells.
5. Add 50 μ L of samples into remaining wells.
6. Mix the content of the microwells by gently tapping the plate or use a shaker for microtiter plates.
7. Incubate samples:
 - a) Serum and plasma samples: incubate for 2 hours (\pm 5 min.) at +37°C (\pm 3°C) or 12–18 hours at 2–8°C. With either option, plates should be tightly sealed or incubated in a humid chamber using plate covers to avoid any evaporation.
 - b) Tissue samples: incubate overnight (12–18 hours) at 2–8°C. The plates should be tightly sealed or incubated in a humid chamber using plate covers to avoid any evaporation.

- 8. Remove the solution and wash each well with approximately 300 μL of Wash Solution 5 times. Avoid plate drying between plate washings and prior to the addition of the next reagent. Tap each plate onto absorbent material after the final wash to remove any residual wash fluid.
Important! Control carefully that no traces of blood are left on the walls or edges of the wells. Additional 2–3 washes can be necessary to remove the blood before proceeding to the next step.
- 9. Dispense 100 μL of Conjugate into each well.
- 10. Incubate for 30 minutes (± 3 min.) at 18–26°C.
- 11. Repeat step 8.
- 12. Dispense 100 μL of TMB Substrate N.12 solution into each well.
- 13. Incubate 10 minutes (± 1 min.) at 18–26°C away from direct light. Begin timing after the first well is filled.
- 14. Dispense 100 μL of Stop Solution N.3 into each well to stop the reaction. Add the Stop Solution in the same order as the Substrate solution.
- 15. Blank the spectrophotometer on air.
- 16. Measure and record the absorbance of the samples and controls at 450 nm or using a dual wavelength of 450 nm and 650 nm.
- 17. Calculate the results.

Results

For the assay to be valid, the difference (P–N) between the Positive Control mean (PC \bar{x}) and the Negative Control mean (NC \bar{x}) must be greater than or equal to 0.150 optical density (OD). In addition, the Negative Control mean (NC \bar{x}) must be less than or equal to 0.250 OD. For invalid assays, technique may be suspect and the assay should be repeated following a thorough review of the package insert. The presence or absence of CSFV antigen in the sample is determined by corrected OD value (S–N) for each sample.

See CALCULATIONS for examples.

Note: IDEXX has instrument and software systems available that calculate means and % values and provide data summaries.

Calculation

Negative Control mean (NC \bar{x})	$\text{NC}\bar{x} = \frac{\text{NC1 A450} + \text{NC2 A450}}{2}$
Positive Control mean (PC \bar{x})	$\text{PC}\bar{x} = \frac{\text{PC1 A450} + \text{PC2 A450}}{2}$
S–N for test samples	$\text{S–N} = \text{Sample A450} - \text{NC}\bar{x}$

Interpretation of Results

- Samples with S–N values equal or less than 0.300 are classified as negative for CSFV Ag.
- Samples with S–N values greater than 0.300 are considered positive for CSFV Ag.

☞ = Major change in the user instructions

Summarized Test Procedure

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

Steps	Action
1. Preparation of reagents	The Wash Concentrate (10X) must be diluted 1:10 with distilled/deionized water before use. The Tissue Soaking Buffer Concentrate (2X) must be diluted 1:2 with distilled/deionized water before use.
2. Sample distribution (Serum, plasma or tissue samples)	Add 50 μ L of Detection Solution into each well. A multichannel pipette (8 or 12 channel) can be used for this step. Add 50 μ L of Negative Control into two appropriate wells. Add 50 μ L of Positive Control into two appropriate wells. Add 50 μ L of samples into remaining wells. Mix the content of the microwells by gently tapping the plate or use a shaker for microtiter plates.
3. Sample Incubation	a. Serum and plasma samples: Incubate samples for 2 hours (\pm 5 min.) at 37°C (\pm 3°C) or overnight (12–18 hours) at 2–8°C. With either option, the plates should be tightly sealed or incubated in a humid chamber using plate covers to avoid any evaporation. b. Tissue samples: Incubate samples overnight (12–18 hours) at 2–8°C. The plates should be tightly sealed or incubated in a humid chamber using plate covers to avoid any evaporation.
4. Washing the plate	Remove the solution and wash each well with approximately 300 μ L of Wash Solution 5 times.
5. Conjugate distribution	Dispense 100 μ L of Conjugate into each well.
6. Conjugate incubation	Incubate for 30 minutes (\pm 3 min.) at 18–26°C.
7. Repeat step 4	
8. Substrate distribution	Dispense 100 μ L of TMB Substrate N.12 solution 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	Dispense 100 μ L of Stop Solution N.3 into each well to stop the reaction.
11. Measure the plate	Blank the spectrophotometer on air. Measure and record the absorbance of the samples and controls at 450 nm or using a dual wavelength of 450 nm and 650 nm.
12. Interpretation (S–N) (Serum, plasma and tissue samples)	Samples with S–N values equal or less than 0.300 are classified as negative for CSFV Ag. Samples with S–N values greater than 0.300 are considered positive for CSFV Ag.

For technical assistance:

Contact your IDEXX area manager or distributor or visit our website: www.idexx.com/production/contact
IDEXX Technical Support: +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.

©2013 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved.

Kit de détection antigénique du virus de la Peste Porcine Classique (CSFV) / Sérum Plus

Réservé à l'usage vétérinaire

Nom et usage

IDEXX CSFV Ag Serum Plus est un kit IDEXX de détection immuno-enzymatique de l'antigène du Virus de la Peste Porcine Classique à partir d'échantillons de sérum, plasma et tissus porcins (préférentiellement d'amygdale, de rate, de ganglion lymphatique ou de rein).

Informations générales

Le virus de la Peste Porcine Classique (CSFV), le virus de la Maladie des Muqueuses (BVDV) et le virus de la Pestivirose (BDV) appartiennent au genre Pestivirus, famille des *Flaviviridae*. Le virus de la CSFV est responsable de pertes considérables dans l'industrie porcine il est hautement pathogène et peut engendrer un taux de mortalité élevé. Les porcs infectés par des souches hautement virulentes de virus de la CSFV peuvent excréter de grandes quantités de virus avant l'apparition des signes cliniques de l'infection. Les animaux qui survivent une infection aiguë 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 foetus 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 foetales, des mort-nés et/ou des porcelets faibles et des malformations foetales. Les porcs peuvent exceptionnellement être infectés avec le virus du BVD ou de BDV bien que les infections restent habituellement bénignes. Aussi les cas de détection virale confirmée restent-ils rares. Cependant, IDEXX CSFV Ag Serum Plus ayant une grande sensibilité vis-à-vis des pestivirus en général, la détection du BVDV ou BVD ne peut être exclue. Les résultats trouvés positifs doivent donc être confirmés avec une méthode spécifique pour la peste porcine. Diagnostic in vitro, réservé à l'usage vétérinaire.

Description et principe

Les microplaques sont sensibilisées avec des anticorps monoclonaux spécifiques de la glycoprotéine structurale (E^{ns}) du virus de la CSFV. L'antigène du virus de la CSFV est capturé sur la plaque. Après incubation de l'échantillon à tester dans la plaque sensibilisée, les antigènes du virus de la CSFV, s'ils sont présents, sont mis en évidence à l'aide d'un Conjugué anticorps polyclonaux spécifiques couplé à la Peroxydase (HRPO). Après élimination du Conjugué non-lié et lavage, on ajoute la solution de Substrat/chromogène. En présence d'enzyme, la solution de Substrat/chromogène est oxydée et développe une coloration bleue. L'adjonction de la Solution d'arrêt entraîne un virage au jaune de la coloration. Les densités optiques sont mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre en monochromatisme (450 nm) ou en bichromatisme (450/650 nm). La valeur de densité optique corrigée de chaque échantillon est calculée à partir des valeurs respectives de densité optique (DO) de l'échantillon et du Contrôle négatif.

Réactif		Volume	
1	Plaque sensibilisée avec des Ac monoclon. anti-Erns	2	5
2	Contrôle positif	1 x 1,6 ml	1 x 2,0 ml
3	Contrôle négatif	1 x 1,6 ml	1 x 2,0 ml
4	Conjugué	1 x 25 ml	1 x 60 ml
5	Tampon d'éluion concentré pour tissus (2X)	1 x 115 ml	2 x 115 ml
A	Substrat TMB N°12	1 x 20 ml	1 x 60 ml
B	Solution d'arrêt N°3	1 x 20 ml	1 x 60 ml
C	Solution de lavage concentrée (10X)	1 x 125 ml	1 x 480 ml
D	Solution de détection	1 x 15 ml	1 x 30 ml

Remarque: voir le tableau à la fin du mode d'emploi pour la description des symboles internationaux utilisés sur les étiquettes de la trousse.

Conservation

Conserver les réactifs à 2–8°C. Les réactifs sont stables jusqu'à leur date de péremption à condition d'être conservés correctement.

Matériel nécessaire mais non fourni

- Pipettes de précision ou pipettes multicanaux
- Embouts de pipette à usage unique
- Éprouvette graduée pour la préparation de la solution de lavage
- Lecteur de plaque 96 puits (équipé d'un filtre à 450 ou 450/650 nm)
- Système de lavage manuel, semi-automatique ou automatique
- Utiliser de l'eau distillée ou désionisée pour la préparation des réactifs
- Couverts pour microplaques, aluminium ou adhésifs
- Chambre humide / Incubateur de plaques capable de maintenir une température de +37°C ($\pm 3^\circ\text{C}$)
- Vortex ou équivalent
- Centrifugeuse (capacité 1500 x g)

Mises en garde et précautions d'emploi

- Manipuler tous les réactifs et les échantillons comme une source potentielle de contamination.
- 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 ou du visage lors de la manipulation des échantillons et des réactifs.
- Se reporter à la fiche de sécurité du produit pour plus d'informations.

Pratiques de laboratoire

- Des résultats optimaux seront obtenus en se conformant de manière stricte au protocole suivant. La précision du test dépend des éléments suivants: pipetage, minutage et lavage minutieux au cours de cette procédure.
- 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.
- Tous les déchets doivent être correctement décontaminés avant leur élimination. Éliminer les contenus selon les réglementations locales, régionales et nationales en vigueur.
- Éviter la contamination des composants du kit. Ne pas verser les réactifs non utilisés de nouveau dans les conteneurs.
- Ne pas utiliser les trousse après leur date de péremption et ne pas mélanger les composants avec ceux de trousse ayant un numéro de lot différent.

Préparation des réactifs

Solution de lavage

Porter la Solution de lavage concentrée (10X) à 18–26°C 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 distillée ou désionisée. (Exemple: 30 ml de Solution de lavage concentrée (10X) + 270 ml d'eau distillée ou désionisée par microplaque). La Solution de lavage reconstituée, lorsqu'elle est préparée de façon stérile, peut être conservée pendant une semaine à 2–8°C.

Tampon d'éluion pour tissus

Le tampon d'éluion concentré pour tissus (2X) est dilué au 1:2 avec le même volume d'eau distillée ou déionisée (exemple: 50 ml de Tampon d'éluion pour tissus concentré (2X) plus 50 ml d'eau distillée ou déionisée pour une plaque). Le Tampon d'éluion pour tissus reconstitué, lorsqu'il est préparé de façon stérile, peut être conservé pendant deux semaines à 2–8°C.

Préparation des échantillons

Sérum et plasma

Les échantillons de sérum ou plasma, frais ou congelés peuvent être utilisés.

Tissus

Utiliser de préférence des tissus frais mais les échantillons de tissus peuvent aussi être conservés congelés si nécessaire. Préparer un ou deux morceaux de tissus par animal, de préférence d'amygdale, de rate, de ganglion lymphatique ou de rein.

- a.) A l'aide de ciseaux, découper le tissu en petits morceaux (250 mg).
- b.) Mettre les morceaux de tissus dans un tube pour centrifugation ou un tube Eppendorf et ajouter 1 ml de Tampon d'éluion pour tissus. Centrifuger. Laissez reposer à 18–26°C pendant 1–2 heures.
- c.) Centrifuger à 1,500 x g pendant 10 minutes et récupérer 50 µl de supernatant claire pour effectuer le test comme décrit dans le Mode opératoire.

Les échantillons de tissu doivent être testés selon le mode d'incubation longue du mode opératoire.

Mode opératoire

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

1. Réserver le nombre de plaque(s) sensibilisée(s) nécessaire(s) à la manipulation et établir le plan de distribution des échantillons sur la microplaque.
2. Distribuer 50 μ l de Solution de détection dans chaque puits de la microplaque sensibilisée. Une pipette multicanaux (8 à 12 canaux) peut être utilisée pour ce faire.
3. Distribuer 50 μ l de Contrôle négatif dans deux puits appropriés.
4. Distribuer 50 μ l de Contrôle positif dans deux puits appropriés.
5. Distribuer 50 μ l d'échantillon dans les puits disponibles adjacents.
6. Bien homogénéiser le contenu de la microplaque sensibilisée par agitation douce.
7. Incubation des échantillons:
 - a) Sérum et plasma: Incuber 2 heures à +37°C (\pm 3°C) ou 12–18h à 2–8°C.
 - b) Echantillons de tissus: incuber pendant 12–18 heures à 2–8°C.

Note: Quelle que soit l'option choisie, couvrir les plaques afin de prévenir toute évaporation ou incuber en chambre humide.
8. Eliminer le liquide contenu dans les puits de la microplaque et laver 5 fois chaque puits avec environ 300 μ l de Solution de lavage. Eviter la dessiccation des puits de la microplaque entre les lavages et préalablement à la distribution du prochain réactif. Après le dernier lavage, vider le liquide résiduel contenu dans les puits par retournement et tapotement de la plaque sur du papier absorbant.

Important: bien contrôler qu'il ne reste aucune trace de sang sur le bord des parois des puits. Il peut être nécessaire d'effectuer 2 à trois cycles de lavage supplémentaires pour ôter toute trace avant de passer à l'étape suivante.
9. Distribuer respectivement 100 μ l de Conjugué dans chaque puits.
10. Incuber 30 minutes (\pm 3 min.) à 18–26°C.
11. Répéter les étapes décrites aux point 8.
12. Distribuer respectivement 100 μ l de Substrat TMB N°12 dans chaque puits.
13. Incuber 10 minutes (\pm 1 min.) à 18–26°C à l'obscurité.

Commencer à décompter le temps à partir du moment où le premier puits est rempli.
14. Distribuer respectivement 100 μ l de Solution d'arrêt N°3 dans chaque puits dans le même ordre que celui de la solution de substrat.
15. Faire le blanc du spectrophotomètre sur l'air.
16. Mesurer la densité optique respective des échantillons et des contrôles à l'aide d'un lecteur de microplaques en monochromatisme à 450 nm, ou en bichromatisme à 450/650 nm.
17. Calculer les résultats.

Résultats

Le test est validé si la différence ($CP\bar{x} - CN\bar{x}$) entre la valeur moyenne de densité optique moyenne du Contrôle positif ($CP\bar{x}$) et la valeur moyenne de densité optique moyenne du Contrôle négatif ($CN\bar{x}$) est supérieure ou égale à 0,150. De plus, la valeur moyenne de densité optique du Contrôle négatif ($CN\bar{x}$) doit être inférieure ou égale à 0,250.

Répéter le test en cas de non-validation en respectant attentivement le protocole opératoire.

La présence ou l'absence d'antigène CSFV est déterminée par le calcul de la valeur de densité optique corrigée de chaque échantillon. Se reporter au paragraphe "Calculs" pour les exemples.

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

Calculs

Moyenne du Contrôle négatif ($CN\bar{x}$)	$CN\bar{x} = \frac{CN1 A450 + CN2 A450}{2}$
Moyenne du Contrôle positif ($CP\bar{x}$)	$CP\bar{x} = \frac{CP1 A450 + CP2 A450}{2}$
Valeur corrigée de l'échantillon ($E - N$)	$E - N = \text{Échantillon A450} - CN\bar{x}$

Interprétation

- Les échantillons dont la valeur $E - N$ est inférieure ou égale à 0,300 sont considérés comme négatifs en antigène CSFV.
- Les échantillons dont la valeur $E - N$ est supérieure à 0,300 sont considérés comme positifs en antigène CSFV.

👁 = *Modification majeure du mode d'emploi*

Résumé du Mode opératoire

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

Etape	Procédure
1. Préparation des réactifs	La Solution de lavage concentrée (10X) est à diluer au 1/10 dans de l'eau distillée ou déionisée. Le tampon d'éluion concentré pour tissus (2X) est dilué au 1:2 avec le même volume d'eau distillée ou déionisée.
2. Distribution des échantillons (Sérum, plasma ou tissu)	Distribuer 50 µl de Solution de détection dans chaque puits de la microplaque sensibilisée. Une pipette multicanaux (8 à 12 canaux) peut être utilisée pour ce faire. Distribuer 50 µl de Contrôle négatif dans deux puits appropriés. Distribuer 50 µl de Contrôle positif dans deux puits appropriés. Distribuer 50 µl d'échantillon dans les puits disponibles adjacents. Bien homogénéiser le contenu de la microplaque sensibilisée par agitation douce.
3. Incubation des échantillons	a. Sérum et plasma: incuber 2 heures à +37°C (±3°C) ou 12–18h à 2–8°C. b. Echantillons de tissus: incuber pendant 12–18 heures à 2–8°C. Note: Quelle que soit l'option choisie, couvrir les plaques afin de prévenir toute évaporation ou incuber en chambre humide.
4. Lavage des plaques	Éliminer le liquide contenu dans les puits de la microplaque et laver 5 fois chaque puits avec environ 300 µl de Solution de lavage.
5. Distribution du Conjugué	Distribuer respectivement 100 µl de Conjugué dans chaque puits.
6. Incubation du Conjugué	Incuber 30 minutes (±3 min.) à 18–26°C.
7. Répéter l'étape 4	
8. Distribution du Substrat	Distribuer respectivement 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'obscurité.
10. Arrêt de la réaction	Distribuer respectivement 100 µl de Solution d'arrêt N°3 dans chaque puits.
11. Lecture de la plaque	Mesurer la densité optique respective des échantillons et des Contrôles à l'aide d'un lecteur de microplaques en monochromatisme à 450 nm, ou en bichromatisme à 450/650 nm.
12. Interprétation (Sérum, plasma ou tissu)	Les échantillons dont la valeur E–N est inférieure ou égale à 0,300 sont considérés comme négatifs en antigènes CSFV. Les échantillons dont la valeur E–N est supérieure à 0,300 sont considérés comme positifs en antigènes CSFV.

Pour toute information:

Contactez votre représentant local IDEXX ou visitez: www.idexx.com/production/contact
IDEXX Technical Support: +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.

©2013 IDEXX Laboratories, Inc. Tous droits réservés.

Kit para Detecção de Antígeno do Vírus da Peste Suína Clássica (VPSC) / Soro Plus

Para uso exclusivamente veterinário

Nome e Indicações

IDEXX CSFV Ag Serum Plus é um ensaio imunoenzimático da IDEXX para detecção de antígenos (Ag) do VPSC em amostras de soro, plasma e tecido (preferencialmente tonsilas, baço, linfonodo mesentérico ou rins) 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 espalhar grandes quantidades de vírus antes de mostrarem 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, quando os porcos excretam o vírus continuamente ou intermitentemente até a morte. Os fetos de matrizes prenhes susceptíveis, expostos ao VPSC, podem tornar-se infectados 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, espalhando o vírus sem mostrarem sinais da doença na ausência de resposta imune. Suínos também podem infectar-se com o BVDV. Embora o vírus da diarréia viral bovina cause uma infecção leve e auto-limitante em porcos, a detecção do vírus nesses casos é muito rara. Uma vez que o teste IDEXX CSFV Ag Serum Plus é altamente sensível para todos os pestivirus, a detecção do BVDV não deve ser excluída. Resultados positivos devem ser, portanto, confirmado com o teste específico para VPSC.

Descrição e Princípios

Um formato de microtitulação foi configurado através da imobilização de anticorpos monoclonais específicos nas placas. O antígeno do VPSC da amostra é capturado nas placas. Após a incubação das amostras de teste nas cavidades, antígenos capturados do VPSC são detectados pelo antisoro policlonal para VPSC (E^{ns}) específicos e um Conjugado de peroxidase de raiz forte. Depois o Conjugado não aderido é lavado e uma solução de Substrato/cromógeno é adicionada. Na presença da enzima, o Substrato é convertido em um produto que reage com o cromógeno para gerar uma coloração azul. Após a adição da Solução de Interrupção, uma coloração amarela é gerada. A absorbância com um comprimento de onda único de 450 nm é medido usando-se um espectrofotômetro. O valor de DO corrigido das amostras é calculado usando-se a absorbância A(450) ou A(450/650) obtida com a amostra de teste, corrigida para a absorbância do Controle Negativo.

Reagentes

Volume

		2	5
1	Placa Impregnada com Ac monocl. anti-E ^{ns}		
2	Controle Positivo	1 x 1,6 ml	1 x 2,0 ml
3	Controle Negativo	1 x 1,6 ml	1 x 2,0 ml
4	Conjugado	1 x 25 ml	1 x 60 ml
5	Tampão concentrado para imersão de tecido (2X)	1 x 115 ml	2 x 115 ml

A	Substrato TMB No.12	1 x 20 ml	1 x 60 ml
B	Solução de Interrupção No.3	1 x 20 ml	1 x 60 ml
C	Concentrado de Lavagem (10X)	1 x 125 ml	1 x 480 ml
D	Solução Detectora	1 x 15 ml	1 x 30 ml

Nota: veja a tabela no final do protocolo para descrição dos símbolos internacionais usados nos rótulos dos kits.

Armazenagem

Conservar os reagentes a 2–8°C. Os reagentes são estáveis até a data de validade, desde que sejam devidamente conservados.

Materiais Necessários, mas Não Fornecidos

- Micropipetas de precisão e micropipetas multicanal
- Ponteiros de pipeta descartáveis
- Proveta graduada para a solução de lavagem
- Leitor de placas para 96 cavidades (equipado com filtro 450 nm) em duploc Comprimento de onda de 450 nm e 650 nm.
- Lavador de microplaca (sistema manual, semi-automático ou automático)
- Use somente água destilada ou deionizada para o preparo dos reagentes usados no teste
- Tampa para placas (tampa plástica, papel alumínio ou adesivo)
- Câmara Úmida / Incubadora capaz de manter uma temperatura de +37°C ($\pm 3^\circ\text{C}$)
- Vórtex ou equivalente
- Centrífuga (capacidade de 1500 x g)

Precauções e Advertências

- A solução Substrato causa irritação aos olhos, ao sistema respiratório e à pele. Evite contato com a pele e os olhos.
- Usar luvas de protecção/vestuário/olhos ou o rosto de protecção ao manusear amostras e reagentes.
- Consulte o Ficha de Segurança produto para informações adicionais.

Práticas laboratoriais

- Resultados ótimos serão obtidos seguindo-se rigorosamente o protocolo deste teste. Pipetagem cuidadosa, observação dos tempos de incubação e lavagens corretas durante todo o procedimento são necessários para manter a precisão e acurácia.
- Não exponha a solução de TMB à luz forte ou a agentes oxidantes. Manuseie a solução de TMB em recipientes limpos de vidro ou plástico.
- Todos os resíduos devem ser descontaminados adequadamente antes do descarte. Descarte os conteúdos de acordo com as normas locais, regionais e nacionais.
- Tenha cuidado para evitar a contaminação dos componentes do kit. Não devolver a sobra do reagente ao frasco.
- Não utilize kits com prazo de validade vencido e não misture componentes de kits de lotes diferentes.

Preparação dos reagentes

Solução de Lavagem

O Concentrado de Lavagem (10X) deve ser trazida à 18–26°C e homogeneizada para permitir a dissolução de qualquer sal precipitado. O Concentrado de Lavagem (10X) deve ser diluído 1:10 em água destilada ou deionizada antes do uso. Exemplo., 30 ml de Concentrado de Lavagem (10X) mais 270 ml de água por placa a ser testada. Quando a Solução de Lavagem é preparada em condições estéreis, pode ser armazenada durante uma semana a uma temperatura de 2–8°C.

Tampão para imersão de tecido

O tampão concentrado para imersão de tecido deve ser trazido à 18–26°C e homogeneizado para permitir a dissolução de qualquer sal precipitado. O tampão concentrado para imersão de tecido deve ser diluído previamente na proporção 1:2 em água destilada ou deionizada antes do uso (exemplo, 50 ml de tampão concentrado para imersão de tecido (2X) mais 50 ml de água por placa a ser testada). Quando o tampão para imersão de tecido diluído é preparado em condições estéreis, pode ser armazenado a 2–8°C até duas semanas.

Preparação de amostras

Soro ou Plasma

Soro ou plasma fresco ou congelado podem ser testados.

Tecidos

Utilize preferencialmente tecidos frescos, entretanto, se necessário o tecido pode ser armazenado congelado. Para o teste utilize um ou dois tecidos de cada animal submetido, preferencialmente tonsilas, baço, linfonodo mesentérico ou rins.

- a.) Com auxílio de uma tesoura corte o tecido em pedaços pequenos (250 mg).
- b.) Coloque cada fragmento de tecido dentro de tubos de centrifugação apropriados ou em tubo Eppendorf e adicione 1 ml de tampão para a imersão de tecido. Passe o tubo no vortex e deixe à temperatura de 18–26°C por 1 a 2 horas.
- c.) Centrifugue a 1500 x g por 10 minutos e então utilize 50 μ l do sobrenadante limpo para o teste, conforme descrito na seção “Protocolo do Teste”.

Les échantillons de tissu doivent être testés selon le mode d'incubation longue du mode opératoire.

Protocolo de teste

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

1. Obtenha as placas impregnadas e anote a posição da amostra numa folha de trabalho.
2. Adicione 50 μ l de Solução Detectora em cada cavidade. Uma pipeta multicanal (8 ou 12 canais) pode ser usada para esse passo.
3. Adicione 50 μ l de Controle Negativo nas duas cavidades apropriadas.
4. Adicione 50 μ l de Controle Positivo nas duas cavidades apropriadas.
5. Adicione 50 μ l das amostras nas cavidades remanescentes.
6. Homogenize o conteúdo das cavidades agitando levemente a placa ou usando um agitador para placas.
7. Incubação das amostras:
 - a) Amostras de soro e plasma: incubar por 2 horas (\pm 5 min.) a 37°C (\pm 3°C) ou 12–18 horas a 2–8°C. Para qualquer uma das opções as placas devem ser seladas firmemente ou incubadas em câmara úmida, devidamente cobertas para evitar evaporação.
 - b) Amostras de tecido: incubar overnight (12 a 18 horas) a 2–8°C. As placas devem ser seladas firmemente ou incubadas em câmara úmida, devidamente cobertas para evitar evaporação.

8. Remova o conteúdo líquido das cavidades da placa e lave cada cavidade com aproximadamente 300 μl de Solução de Lavagem por 5 vezes. Evite que a placa seque entre as lavagens e antes da adição adicionar o próximo reagente. Após a lavagem final, remova o fluido residual de lavagem de cada placa batendo-a firmemente em material absorvente.
- Importante!** Controle cuidadosamente para que não restem traços de sangue nas paredes ou cantos das cavidades. 2 a 3 lavagens adicionais podem ser necessárias para remoção do sangue antes de se proceder ao próximo passo.
9. Adicione 100 μl de Conjugado em cada cavidade.
 10. Incube por 30 minutos (± 3 min.) a 18–26°C.
 11. Repita os passos 8.
 12. Adicione 100 μl de Substrato TMB No.12 em cada cavidade.
 13. Incube por 10 minutos (± 1 min.) a 18–26°C no escuro. Comece a contar o tempo depois que a primeira cavidade for preenchida.
 14. Adicione 100 μl de Solução de Interrupção No.3 em cada cavidade para parar a reação. Adicione a solução de parada na mesma ordem em que a Solução de Substrato.
 15. Calibre o espectrofotômetro com ar.
 16. Meça e anote a absorbância das amostras e controles a 450 nm, ou em duplo comprimento de onda de 450 nm e 650 nm.
 17. Calcule os resultados.

Resultados

Para que o teste ensaio seja válido, a diferença (CP–CN) entre a DO média do Controle Positivo (CP \bar{x}) e a DO média do Controle Negativo (CN \bar{x}) deve ser maior ou igual a 0,150. Além disso, a DO média do Controle Negativo (CN \bar{x}) deve ser menor ou igual a 0,250. Para testes inválidos, deve-se suspeitar da técnica, e o teste deve ser repetido após a revisão cuidadosa da bula do produto. A presença ou ausência de antígenos contra CSF na amostra é determinada pelo cálculo do valor de DO corrigido (A–N) para cada amostra. Veja CÁLCULOS para exemplos.

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

Cálculos

Média dos Controles Negativos (CN \bar{x})	$\text{CN}\bar{x} = \frac{\text{CN1 A450} + \text{CN2 A450}}{2}$
Média dos Controles Positivos (CP \bar{x})	$\text{CP}\bar{x} = \frac{\text{CP1 A450} + \text{CP2 A450}}{2}$
Cálculo do valor de DO corrigido (A–N) para cada amostra:	$\text{A} - \text{N} = \text{Amostra A450} - \text{CN}\bar{x}$

Interpretação de Resultados

- Amostras com valores de A–N igual ou menor que 0,300 são classificadas como negativas para VPSC Ag.
 - Amostras com valores de A–N maiores que 0,300 são classificadas como positivas para VPSC Ag.
- Os resultados positivos devem ser comunicados ao Serviço Oficial do país.

☞ = *Modificações importante nas instruções de uso*

Resumo do procedimento de teste

É altamente recomendável que todas as instruções sejam lidas cuidadosamente antes do uso do teste pela primeira vez.

Etapa	Ação
1. Procedimento dos reagentes	A Solução de Lavagem Concentrada (10X) deve ser diluída 1:10 em água destilada ou deionizada antes do uso. O Tampão concentrado para imersão de tecido deve ser diluído previamente na proporção 1:2 em água destilada ou deionizada antes do uso.
2. Distribuição das amostras (Soro, plasma ou tecidos)	Adicione 50 µl de Solução Detectora em cada cavidade. Uma pipeta multicanal (8 ou 12 canais) pode ser usada para esse passo. Adicione 50 µl de Controle Negativo nas duas cavidades apropriadas. Adicione 50 µl de Controle Positivo nas duas cavidades apropriadas . Adicione 50 µl das amostras nas cavidades remanescentes. Homogenize o conteúdo das cavidades agitando levemente a placa ou usando um agitador para placas.
3. Incubação da amostra	a. Amostras de soro e plasma: incubar por 2 horas (± 5 min.) a 37°C (± 3°C) ou 12–18 horas a 2–8°C. Para qualquer uma das opções as placas devem ser seladas firmemente ou incubadas em câmara úmida, devidamente cobertas para evitar evaporação. b. Amostras de tecido: incubar overnight (12 a 18 horas) a 2-8°C. As placas devem ser seladas firmemente ou incubadas em câmara úmida, devidamente cobertas para evitar evaporação.
4. Lavagem da placa	Remova o conteúdo líquido das cavidades da placa e lave cada cavidade com aproximadamente 300 µl de Solução de Lavagem por 5 vezes.
5. Distribuição do Conjugado	Adicione 100 µl de Conjugado em cada cavidade.
6. Incubação do Conjugado	Incube por 30 minutos (±3 min.) a 18–26°C.
7. Repita a etapa 4	
8. Distribuição do substrato	Adicione 100 µl de Substrato TMB No.12 em cada cavidade.
9. Incubação do Substrato	Incube por 10 minutos (± 1 min.) a 18–26°C no escuro.
10. Bloqueio da reação	Adicione 100 µl de Solução de Interrupção No.3 em cada cavidade para parar a reação.
11. Leitura da placa	Calibre o espectrofotômetro com ar. Meça e anote a absorbância das amostras e controles a 450 nm, ou em duplo comprimento de onda de 450 nm e 650 nm. Calcule os resultados.
12. Interpretação (A–N)	Amostras com valores de A–N igual ou menor que 0,300 são classificadas como negativas para VPSC Ag. Amostras com valores de A–N maiores que 0,300 são classificadas como positivas para VPSC Ag.

Assistência técnica:

Entre em contato com seu gerente de área ou distribuidor IDEXX. Ou visite: www.idexx.com/production/contact
Assistência Técnica IDEXX Europe: +800 727 43399

*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.

©2013 IDEXX Laboratories, Inc. Todos os direitos reservados.

Kit para la detección de Antígeno del Virus de la Peste Porcina Clásica (CSFV) / Suero Plus

Para uso veterinario exclusivo

Nombre y uso previsto

IDEXX CSFV Ag Serum Plus es un ensayo inmunoenzimático de IDEXX para la detección de antígeno del virus de la Peste Porcina Clásica (CSFV) a partir de muestras de suero, plasma y tejidos (preferiblemente tonsilas, bazo, nódulo linfático mesentérico o riñón) de porcino.

Información general

El Virus de la Diarrea Virica Bovina (BVDV), el Virus de la Enfermedad de la Frontera (Border Disease, BDV) y el Virus de la Peste Porcina Clásica (Classical Swine Fever Virus, CSFV) pertenecen al género Pestivirus, de la familia *Flaviviridae*. El virus de la CSFV es responsable de pérdidas considerables en la industria porcina puesto que es altamente patógeno y puede engendrar una tasa de mortalidad elevada. Los cerdos infectados por cepas altamente virulentas del virus de la CSFV pueden excretar grandes cantidades de virus antes de la aparición de los signos clínicos de la infección. Los animales que sobreviven a una infección aguda desarrollan anticuerpos y no excretan más virus. Las cepas moderadamente virulentas y menos patógenas pueden generar infecciones crónicas, y los animales excretan entonces el virus de manera continua o intermitente hasta su muerte.

Los fetos de las cerdas sensibles pueden infectarse en el útero durante la exposición de la madre al virus de la CSFV. La infección congénita puede producir abortos, momificaciones fetales, animales nacidos muertos y/o lechones débiles y malformaciones fetales. En raras ocasiones los cerdos pueden resultar infectados con BVDV o BDV, pero estas infecciones son generalmente ligeras y autolimitantes. La detección del virus en estos casos es muy rara. Como el kit IDEXX CSFV Ag Serum Plus tiene una elevada sensibilidad para todos los Pestivirus, la detección de BVDV o BDV no puede excluirse. Por ello deben confirmarse los resultados positivos con una prueba específica para CSFV. Diagnóstico in vitro, sólo para uso veterinario.

Descripción y principios

Se ha configurado un formato de placas de microtitulación tapizadas con anticuerpos monoclonales. El antígeno del CSFV de la muestra es capturado en las placas. Tras incubación de la muestra en el pocillo, el antígeno de CSFV unido a la placa es detectado por un antisuero policlonal para CSFV (E^{rns}) conjugado a peroxidasa de rábano picante. Después se lava el conjugado para eliminarlo y se añade una solución de sustrato/cromógeno. En presencia del enzima, el sustrato se convierte en un producto que reacciona con el cromógeno, generando una coloración azul. Con la adición de la solución de frenado se genera un color amarillo. La absorbancia se mide en el espectrofotómetro a una longitud de onda única de 450 nm [A(450)] o doble de 450 nm y 650 nm [A(450/650)]. El valor de la densidad óptica (DO) corregida de las muestras se calcula usando la absorbancia [A(450)] o [A(450/650)] obtenida con la muestra del ensayo y corregida con la absorbancia del control negativo.

Reactivos

Volumen

		2	5
1	Placa tapizada con Ac monoclonales anti-E ^{rns}		
2	Control Positivo	1 x 1,6 ml	1 x 2,0 ml
3	Control Negativo	1 x 1,6 ml	1 x 2,0 ml
4	Conjugado	1 x 25 ml	1 x 60 ml

5	Solución Tampón para Tejidos Concentrada (2X)	1 x 115 ml	2 x 115 ml
A	Substrato TMB n.º12	1 x 20 ml	1 x 60 ml
B	Solución de Frenado n.º3	1 x 20 ml	1 x 60 ml
C	Solución de Lavado Concentrada (10X)	1 x 125 ml	1 x 480 ml
D	Solución de Detección	1 x 15 ml	1 x 30 ml

Nota: Ver tabla al final del protocolo para las explicaciones de los símbolos internacionales utilizados en las etiquetas del kit.

Almacenamiento

Almacenar los reactivos a 2–8°C. Los reactivos son estables hasta su fecha de caducidad, siempre y cuando hayan sido almacenados en las condiciones correctas.

Materiales necesarios que no se suministran

- Micropipetas de precisión y micropipetas multidispensadoras
- Puntas de pipeta desechables
- Probetas graduadas para la solución de lavado
- Lector de placas de 96 pocillos (equipado con filtros de 450-nm o usando doble longitud de onda, a 450 nm y 650 nm)
- Lavador de microplacas, manual, semiautomática o automática
- Usar sólo agua destilada o desionizada para preparar los reactivos de la prueba
- Cubiertas de placas (tapa, papel de aluminio o adhesivo, etc)
- Cámara húmeda o incubadora a +37°C ($\pm 3^\circ\text{C}$)
- Vortex o equivalente
- Centrífuga (1500 x g)

Precauciones y advertencias

- Considerar todo material biológico como potencialmente infeccioso cuando lo manipule.
- La solución substrato irrita los ojos, el aparato respiratorio y la piel. Evitar el contacto con la piel y los ojos.
- Usar guantes de protección / prendas de protección / gafas o protección de la cara al manipular muestras y reactivos.
- Consultar la Ficha de Datos de Seguridad de Materiales del producto para obtener información adicional.

Prácticas de laboratorio

- Los resultados óptimos se obtendrán siguiendo estrictamente este protocolo. El pipeteo cuidadoso, la coordinación y el lavado durante todo este procedimiento son necesarios para mantener la precisión y exactitud.
- No exponer las soluciones TMB a la luz fuerte o a cualquier agente oxidante. Manejar el Substrato TMB con material de cristal limpio o material plástico.
- Todos los desechos deben descontaminarse adecuadamente antes de ser eliminados.
- Desechar el contenido de conformidad con las regulaciones locales, regionales y nacionales.
- Extremar la precaución para evitar la contaminación de los componentes del kit. No verter los reactivos no utilizados de nuevo en contenedores.
- No utilizar los kits pasada su fecha de caducidad y no mezclar componentes de kits con número de lote distintos.

Preparación de los reactivos

Solución de lavado

La Solución de Lavado Concentrada (10X) debe alcanzar 18–26°C y debe agitarse para asegurar la disolución de posibles precipitados. La Solución de Lavado Concentrada (10X) debe diluirse 1:10 con agua destilada/desionizada antes de su uso (ejemplo: 30 ml de concentrado + 270 ml de agua por placa a analizar). Preparándose en condiciones estériles, la Solución de Lavado puede almacenarse durante una semana a 2–8°C.

Solución Tampón para inmersión de Tejidos

La Solución Tampón para Tejidos Concentrada (2X) debe alcanzar 18–26°C y debe agitarse para asegurar la disolución de posibles precipitados. La Solución Tampón para Tejidos Concentrada (2X) debe diluirse 1:2 con agua destilada/desionizada antes de su uso (por ejemplo 50 ml de Solución Tampón para Tejidos Concentrada (2X) + 50 ml de agua destilada/desionizada por placa a analizar). Preparándose en condiciones estériles, la Solución Tampón para Tejidos diluida puede almacenarse a 2–8°C hasta dos semanas.

Preparación de las muestras

Suero y Plasma

Pueden analizarse muestras frescas o congeladas de suero o plasma

Tejidos

Usar preferentemente muestras de tejido frescas, pero, si necesario, se pueden conservar las muestras de tejido congeladas. Procesar una o dos muestras por cada animal, preferiblemente de tonsilas, bazo, nódulo linfático mesentérico o riñón.

- a.) Con tijeras, cortar el tejido en trozos pequeños (250 mg).
- b.) Colocar los trozos de tejido en un tubo de centrifuga apropiado o en un tubo Eppendorf y añadir 1 ml de Solución Tampón para Tejidos diluida. Agitar en vortex. Dejar a 18–26°C durante 1-2 horas.
- c.) Centrifugar a 1.500 x g durante 10 minutos y usar 50 μ l de sobrenadante limpio para el análisis como se describe en el apartado “Protocolo del ensayo”.

Por favor usar el protocolo de incubación nocturna para las muestras de tejido.

Protocolo de la prueba

Todos los reactivos deben alcanzar 18–26°C antes de usarse. Los reactivos deben mezclarse mediante un agitado o utilizando el vortex. Use una punta de pipeta diferente para cada muestra.

1. Tomar las placas tapizadas y marque la posición de las muestras en una hoja de trabajo.
2. Añadir 50 μ l de Solución de Detección en cada pocillo. En esta operación puede usarse una pipeta multicanal (8 ó 12 canales).
3. Añadir 50 μ l de Control Negativo en dos pocillos apropiados.
4. Añadir 50 μ l de Control Positivo en dos pocillos apropiados.
5. Añadir 50 μ l de las muestras en los pocillos restantes.
6. Mezclar el contenido de los pocillos golpeando levemente la placa o usar un agitador de placas de microtitulación.
7. Incubación de las muestras:
 - a) Muestras de suero y plasma: incubar durante 2 horas (\pm 5 min.) a +37°C (\pm 3°C) o 12–18 horas a 2–8°C. Nota: En cualquier opción de incubación, las placas deben ser firmemente selladas o incubadas en una cámara húmeda con cubiertas de placas para evitar evaporaciones.
 - b) Muestras de tejido: incubar durante 12–18 horas a 2–8°C. Las placas deben ser firmemente selladas o incubadas en una cámara húmeda con cubiertas de placas para evitar evaporaciones.

- 8. Elimine el contenido líquido de cada pocillo y lave cada pocillo con aproximadamente 300 μl de Solución de Lavado cinco veces. Evite que las placas se sequen entre los lavados y antes de añadir el reactivo siguiente. Después del lavado final, elimine el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola sobre material absorbente.
Importante! Controlar cuidadosamente que no queden rastros de sangre en las paredes o bordes de los pocillos. Para eliminar la sangre antes de pasar a la siguiente fase puede ser necesario realizar 2 ó 3 lavados más.
- 9. Dispensar 100 μl de Conjugado en cada pocillo.
- 10. Incubar durante 30 minutos (± 3 min.) a 18–26°C.
- 11. Repetir los pasos 8.
- 12. Dispensar 100 μl de Substrato TMB n.º12 en cada pocillo.
- 13. Incubar 10 minutos (± 1 min.) a 18–26°C en oscuridad. Comenzar a cronometrar después de llenar el primer pocillo.
- 14. Dispensar 100 μl de la Solución de Frenado n.º3 en cada pocillo para frenar la reacción. Añadir la Solución de Frenado en el mismo orden en que la solución Substrato TMB n.º12. Calibrar el espectrofotómetro con aire.
- 15. Medir y anotar la absorbancia de las muestras y controles a 450 nm o usando una longitud de onda dual de 450 nm y 650 nm.
- 16. Calcular los resultados.

Interpretación de los resultados

Para que el ensayo sea válido, la diferencia (CP–CN) entre la media del Control Positivo (CP \bar{x}) y la media del Control Negativo (CN \bar{x}) debe ser mayor o igual a 0,150 de densidad óptica (DO). Además, la media del Control Negativo (CN \bar{x}) debe ser menor o igual a 0,250 DO. Para los ensayos no válidos, debe sospecharse de la técnica y el ensayo debe repetirse siguiendo una revisión meticulosa del protocolo. La presencia o ausencia de antígenos de CSFV en la muestra se determina mediante el valor de la densidad óptica corregida (M–N) de cada muestra.

Vea la sección “Cálculos” para consultar ejemplos.

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

Cálculos

Media del Control Negativo (CN \bar{x})	$\text{CN}\bar{x} = \frac{\text{CN1 A450} + \text{CN2 A450}}{2}$
Media del Control Positivo (CP \bar{x})	$\text{CP}\bar{x} = \frac{\text{CP1 A450} + \text{CP2 A450}}{2}$
Cálculo del resultado de la muestra analizada	$\text{M-N} = \text{Muestra A450} - \text{CN}\bar{x}$

Interpretación de los resultados

- Las muestras con valores M–N iguales o inferiores a 0,300 se clasifican como Negativas en antígenos del CSFV.
- Las muestras con valores M–N superiores a 0,300 se clasifican como Positivas en antígenos del CSFV.

☞ = *Modificación importante en el manual de instrucciones*

Resumen del procedimiento de análisis

Se recomienda especialmente antes de la realización del test por primera vez, y de la utilización de éste resumen, realizar una lectura completa y cuidadosa del manual de instrucciones.

Paso	Acción
1. Preparación de los reactivos	La Solución de Lavado Concentrada (10X) debe diluirse 1:10 con agua destilada/desionizada antes de su uso. La Solución Tampón para Tejidos Concentrada (2X) debe diluirse 1:1 con agua destilada/desionizada antes de su uso.
2. Distribución de las muestras (Suero, plasma o tejidos)	Añadir 50 µl de Solución de Detección en en cada pocillo. En esta operación puede usarse una pipeta multicanal (8 ó 12 canales). Añadir 50 µl de Control Negativo en dos pocillos apropiados. Añadir 50 µl de Control Positivo en dos pocillos apropiados. Añadir 50 µl de las muestras en los pocillos restantes. Mezclar el contenido de lo pocillos golpeando levemente la placa o usar un agitador de placas de microtitulación.
3. Incubación de las muestras	a. Muestras de suero y plasma: incubar durante 2 horas (\pm 5 min.) a +37°C (\pm 3°C) o 12–18 horas a 2–8°C. Nota: En cualquier opción de incubación, las placas deben ser firmemente selladas o incubadas en una cámara húmeda con cubiertas de placas para evitar evaporaciones. b. Muestras de tejido: incubar durante 12–18 horas a 2–8°C. Las placas deben ser firmemente selladas o incubadas en una cámara húmeda con cubiertas de placas para evitar evaporaciones.
4. Lavado de la placa	Elimine el contenido líquido de cada pocillo y lave cada pocillo con aproximadamente 300 µl de Solución de Lavado 5 veces.
5. Distribución del Conjugado	Dispensar 100 µl de Conjugado en cada pocillo.
6. Incubación del Conjugado	Incubar durante 30 minutos (\pm 3 min.) a 18–26°C.
7. Repetir la etapa 4	
8. Distribución del Substrato	Dispensar 100 µl de Substrato TMB n.º12 en cada pocillo.
9. Incubación del Substrato	Incubar 10 minutos (\pm 1 min.) a 18–26°C en oscuridad.
10. Frenado de la reacción	Dispensar 100 µl de la Solución de Frenado n.º3 en cada pocillo para frenar la reacción.
11. Medición de la placa	Calibrar el espectrofotómetro con aire. Medir y anotar la absorbancia de las muestras y controles a 450 nm o usando una longitud de onda dual de 450 nm y 650 nm. Calcular los resultados.
12. Interpretación	Las muestras con valores M–N iguales o inferiores a 0,300 se clasifican como Negativas en antígenos del CSFV. Las muestras con valores M–N superiores a 0,300 se clasifican como Positivas en antígenos del CSFV.

No. de registro: 1528-RD

Para asistencia técnica:

Contacte el representante local IDEXX o visite: www.idexx.com/production/contact

Servicio Técnico de IDEXX: +800 727 43399

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

©2013 IDEXX Laboratories, Inc. Todos los derechos reservados.

Testkit zum Nachweis des Virus der klassischen Schweinepest (CSFV) / Serum Plus

Nur zum tierärztlichen Gebrauch

Name und Verwendungszweck

IDEXX CSFV Ag Serum Plus ist ein Enzymimmunoassay zum Nachweis von viralem Antigen des Virus der klassischen Schweinepest (CSFV) in Serum-, Plasma- und Gewebeprobe (bevorzugt Tonsillen, Milz, mesenterische Lymphknoten oder Nieren) von Schweinen.

Allgemeine Informationen

Das Virus der Bovinen Virus Diarrhoe (BVDV), das Border Disease Virus (BDV) und das Virus der Klassischen Schweinepest (KSPV, engl. CSFV) gehören zum Genus Pestivirus innerhalb der Familie der *Flaviviridae*. Das CSFV ist eines der wichtigsten pathogenen Viren beim Schwein und führt weltweit zu beträchtlichen Verlusten in der Schweineproduktion. Infizierte Schweine können noch vor dem Auftreten klinischer Symptome das Virus ausscheiden und verbreiten. Tiere, die eine akute CSFV-Infektion überleben, entwickeln Antikörper und scheiden das Virus nicht mehr aus. Neben der akuten Infektion können chronische Infektionen auftreten, die insbesondere mit moderat bzw. niedrig pathogenen CSFV-Stämmen in Verbindung stehen. Chronisch erkrankte Tiere scheiden das Virus kontinuierlich oder intermittierend bis zu ihrem Tode aus. Die Infektion tragender Sauen kann zu einer transplazentaren Infektion der Feten führen. Je nach Trächtigkeitsstadium können Feten abortiert, tot-, oder mit schweren Anomalien geboren werden. Schweine können sich in einigen Fällen auch mit BVDV oder BDV infizieren. Diese Infektionen verlaufen in der Regel ohne bzw. mit milden klinischen Symptomen und sind selbst limitierend. Virusnachweise sind in diesen Fällen sehr selten. Das vorliegende Testsystem erkennt hochspezifisch und empfindlich alle Pestviren, so dass in den seltenen Fällen einer klinisch apparenten BVDV- oder BDV-Infektion eine Detektion dieser Viren nicht ausgeschlossen ist. Aus diesem Grund sind positive Ergebnisse mit einem CSFV-spezifischen Testsystem zu bestätigen.

Beschreibung/Prinzipien

Es wurde ein Mikrotiterformat entwickelt, bei dem monoklonale Antikörper in den Plattenvertiefungen immobilisiert wurden. Dadurch wird in der Probe vorhandenes CSFV-Antigen an die Platte gebunden. Nach der Probeninkubation wird gebundenes CSFV Ag durch ein polyklokales Antiserum gegen CSFV (E^{ms}) und ein Meerrettich-Peroxydase-Konjugat nachgewiesen. Ungebundenes Konjugat wird durch Waschen weggespült. Danach wird eine Substrat/Chromogen-Lösung hinzugegeben, die mit der Meerrettich-Peroxydase reagiert. Bei Vorhandensein des Enzyms kommt es zu einer Farbreaktion. Durch Zugabe der Stopplösung kommt es zum Farbumschlag von blau nach gelb. Die Farbreaktion wird mit einem Photometer bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen mit oder ohne Messung bei der Referenzwellenlänge von 650 nm. Das Ergebnis wird berechnet, indem der OD-Wert der Probe (P) um den OD-Wert der negativen Kontrolle (NK) korrigiert wird.

Reagenzien

Menge

1	Mit Anti-E ^{ms} mAk beschichtete Testplatte (inaktiviert)	2	5
2	Positive Kontrolle	1 x 1,6 ml	1 x 2,0 ml
3	Negative Kontrolle	1 x 1,6 ml	1 x 2,0 ml
4	Konjugat	1 x 25 ml	1 x 60 ml

5	Pufferkonzentrat für Gewebeproben (2X)	1 x 115 ml	2 x 115 ml
A	TMB-Substrat Nr.12	1 x 20 ml	1 x 60 ml
B	Stopplösung Nr.3	1 x 20 ml	1 x 60 ml
C	Waschkonzentrat (10X)	1 x 125 ml	1 x 480 ml
D	Detektorlösung	1 x 15 ml	1 x 30 ml

Hinweis: Am Ende dieser Gebrauchsinformation befindet sich eine Tabelle, welche die auf den Etiketten verwendeten internationalen Symbole erläutert.

Lagerung

Reagenzien bei 2–8°C lagern. Bei entsprechender Lagerung sind die Reagenzien bis zum Verfalldatum stabil.

Notwendiges Material, das nicht mitgeliefert wird

- Präzisionspipetten und Multikanalmikropipetten
- Einweg-Pipettenspitzen
- Graduierter Zylinder für die Waschlösung
- Photometer (für 96 Vertiefungen, ausgestattet mit 450 nm und ggf. 650 nm Messfilter)
- Manuelles, halbautomatisches oder automatisches Mikrotiterplatten-Waschsystem
- Zur Vorbereitung der Reagenzien nur destilliertes oder demineralisiertes Wasser verwenden
- Abdeckungen für Mikrotiterplatten (Deckel, Alu-Folie oder Klebefolie)
- Feuchte Kammer / Inkubator für eine konstante Temperatur von +37°C (±3°C)
- Vortex-Mischer oder gleichwertiger Mischer
- Zentrifuge (1500 x g)

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

- Alle biologischen Substanzen als potenziell infektiös behandeln.
- Die Substratlösung reizt Augen, Atemwege und Haut. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden.
- Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz oder Gesichtsschutz beim Umgang mit Proben und Reagenzien verwenden.
- Weitere Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten.

Laborpraktiken

- Bei strikter Einhaltung dieser Anweisungen werden optimale Ergebnisse erzielt. Sorgfältiges Pipettieren und Waschen und eine genaue Zeiteinteilung während der Testdurchführung sind notwendig, um die Genauigkeit der Werte zu gewährleisten.
- Substrat nicht starkem Licht oder oxidierenden Mitteln aussetzen. Nur saubere Glas- oder Plastikbehälter benutzen.
- Alle Abfälle vor der Entsorgung ordnungsgemäß dekontaminieren. Den Inhalt im Einklang mit den lokalen, regionalen und nationalen Bestimmungen entsorgen.
- Eine Verunreinigung der Bestandteile des Testkits sorgfältig vermeiden. Keine unbenutzten Reagenzien zurück in die Originalflaschen schütten.
- Die Bestandteile nicht nach Ablauf des Verfalldatums benutzen und nicht mit Bestandteilen aus anderen Chargen vermischen.

Vorbereitung der Reagenzien

Waschlösung

Das Waschkonzentrat (10X) auf 18–26°C erwärmen lassen und eventuell ausgefällte Salzkristalle durch Schütteln der Flasche wieder in Lösung bringen. Sodann das Waschkonzentrat (10X) 1:10 mit destilliertem oder demineralisiertem Wasser (z.B. 30 ml des Waschkonzentrats (10X) mit 270 ml Aqua dest. pro Mikrotiterplatte) verdünnen. Bei steriler Behandlung kann die Waschlösung eine Woche bei 2–8°C aufbewahrt werden.

Pufferkonzentrat für Gewebeproben

Das Pufferkonzentrat für Gewebeproben auf 18–26°C erwärmen lassen, eventuell ausgefallene Salze durch Schütteln wieder in Lösung bringen, sodann mit Wasser verdünnen (z.B. 50 ml Pufferkonzentrat für Gewebeproben (2X) mit 50 ml Wasser pro zu untersuchender Platte). Bei steriler Behandlung kann der so verdünnte Puffer für Gewebeproben bis zu zwei Wochen bei 2–8°C aufbewahrt werden.

Vorbereitung der Proben

Serum- und Plasmaproben

Es können frische oder gefrorene Serum- oder Plasmaproben untersucht werden.

Gewebeproben:

Frische Gewebeproben verwenden, wenn nötig können jedoch auch zur Lagerung eingefrorene Proben verwendet werden. Ein bis zwei Gewebeproben (vorzugsweise Tonsillen, Milz, mesenterische Lymphknoten oder Nieren) von jedem Tier untersuchen,

- a.) Gewebe mit der Schere in kleine Teile (250 mg) schneiden.
- b.) Gewebeteile in ein entsprechendes Zentrifugenröhrchen oder ein Eppendorf-Röhrchen plazieren, 1 ml Puffer für Gewebeproben dazugeben und mit Vortex-Mischer mischen. Bei 18–26°C 1-2 Stunden stehen lassen.
- c.) Bei 1500 g 10 Minuten zentrifugieren und 50 µl des klaren Überstands wie in der Testanweisung beschrieben untersuchen.

Gewebeproben nach dem Protokoll für Übernachtinkubation behandeln.

Testprotokoll

Alle Reagenzien müssen vor Gebrauch auf 18–26°C gebracht werden. Die Reagenzien durch leichtes Schütteln mischen. Für jede Probe eine neue Pipettenspitze verwenden.

1. Die beschichtete(n) Platte(n) hernehmen und die Position der Proben auf einem Arbeitsblatt notieren.
2. 50 µl des Detektorlösung in jede Vertiefung geben. (Dazu kann eine Multikanalpipette verwendet werden).
3. 50 µl negative Kontrolle in die zwei entsprechenden Vertiefungen geben.
4. 50 µl positive Kontrolle in die zwei entsprechenden Vertiefungen geben.
5. 50 µl jeder Probe in die entsprechenden Vertiefungen geben.
6. Den Inhalt der Vertiefungen durch vorsichtiges Klopfen an die Seite der Platte mischen oder einen Plattenschüttler verwenden
7. Proben inkubieren:
 - a) Serum- und Plasmaproben: Mikrotiterplatten 2 Stunden (± 5 Min.) bei $+37^{\circ}(\pm 3^{\circ}\text{C})$ oder 12–18 Stunden bei 2–8°C inkubieren. In beiden Fällen die Platten dicht verschlossen oder in einer feuchten Kammer mit Abdeckung inkubieren, um jegliche Evaporation zu vermeiden.
 - b) Gewebeproben: Inkubation über Nacht (12–18 Stunden) bei 2–8°C. Die Platten dicht verschlossen oder in einer feuchten Kammer mit Abdeckung inkubieren, um jegliche Evaporation zu vermeiden.

- 8. Den flüssigen Inhalt aus den Vertiefungen absaugen und sodann mit etwa 300 µl Waschlösung fünfmal waschen. Dabei ein Austrocknen der Platte zwischen den Waschrufen und der Zugabe des nächsten Reagenz vermeiden. Nach dem letzten Waschen die Platte auf saugfähigem Material ausklopfen, um verbleibende Restflüssigkeit zu entfernen.
Wichtiger Hinweis: Sicherstellen, dass keine Blutrückstände in den Vertiefungen oder an den Rändern zurückbleiben. Zwei bis drei weitere Waschrufen können vor dem nächsten Arbeitsschritt notwendig sein, um eventuelle Blutreste vollständig zu entfernen.
- 9. 100 µl Konjugat in jede Vertiefung geben.
- 10. Platte(n) sorgfältig abdecken und 30 Minuten (±3 Min.) bei 18–26°C inkubieren.
- 11. Schritt 8 wiederholen.
- 12. 100 µl TMB-Substrat Nr.12 in jede Vertiefung geben.
- 13. Die Platte(n) 10 Minuten (±1 Min.) bei 18–26°C unter Ausschluss von direktem Tageslicht inkubieren. (Mit der Zeitmessung nach dem Füllen der ersten Vertiefung beginnen.)
- 14. 100 µl Stopplösung Nr.3 in jede Vertiefung geben.
Die Stopplösung in der gleichen Reihenfolge wie die Substratlösung zugeben.
- 15. Das Photometer mit Luft als Leerwert kalibrieren.
- 16. Messen und Notieren der Extinktionswerte bei 450 nm (oder für duale Wellenlänge bei 450 und 650 nm).
- 17. Ergebnisse berechnen.

Ergebnisse

Damit der Test gültig ist, muss die Differenz (PK–NK) zwischen dem Mittelwert der positiven Kontrollen (PK \bar{x}) und dem Mittelwert der negativen Kontrollen (NK \bar{x}) größer oder gleich als 0,150 sein. Zusätzlich sollte der Mittelwert der negativen Kontrolle (NK \bar{x}) kleiner oder gleich 0,250 sein. Bei ungültigen Ergebnissen sollte der Test nach gründlichem Lesen der Gebrauchsinformation wiederholt werden. Das Vorhandensein oder Fehlen von CSFV-Antigen wird festgestellt, indem man den korrigierten OD-Wert der Probe (P-NK) ermittelt.

Siehe Abschnitt "Berechnungen".

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

Berechnungen

Mittelwert der negativen Kontrolle (NK \bar{x})	$NK\bar{x} = \frac{NK1 A_{450} + NK2 A_{450}}{2}$
Mittelwert der positiven Kontrolle (PK \bar{x})	$PK\bar{x} = \frac{PK1 A_{450} + PK2 A_{450}}{2}$
Berechnung des P-NK Verhältnisses	$P-NK = \text{Probe } A_{450} - NK\bar{x}$

Interpretation der Ergebnisse

- Proben mit einem P–NK -Verhältnis kleiner oder gleich 0,300 sind CSF Ag negativ.
- Proben mit einem P–NK -Verhältnis größer als 0,300 sind CSF Ag positiv.

☞ = *Wesentliche Änderung der Gebrauchsinformation*

Zusammenfassung der Testdurchführung

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

Arbeitsschritt	Maßnahme
1. Vorbereitung der Reagenzien	Das Waschkonzentrat (10X) 1:10 mit destilliertem oder demineralisiertem Wasser verdünnen. Das Pufferkonzentrat für Gewebeproben (2X) 1:2 mit Wasser verdünnen.
2. Probenverteilung, (Serum-, Plasma- oder Gewebeproben)	50 µl der Detektorlösung in jede Vertiefung geben. (Dazu kann eine Multikanalpipette verwendet werden). 50 µl negative Kontrolle in die zwei entsprechenden Vertiefungen geben. 50 µl positive Kontrolle in die zwei entsprechenden Vertiefungen geben. 50 µl jeder Probe in die entsprechenden Vertiefungen geben. Den Inhalt der Vertiefungen durch vorsichtiges Klopfen an die Seite der Platte mischen oder einen Plattenschüttler verwenden.
3. Probeninkubation	a. Serum- und Plasmaproben: 2 Stunden (±5 Min.) bei +37°(±3°C) oder über Nacht (12–18) Stunden bei 2–8°C. In beiden Fällen die Platten dicht verschlossen oder in einer feuchten Kammer mit Abdeckung inkubieren, um jegliche Evaporation zu vermeiden. b. Gewebeproben: Inkubation über Nacht (12–18 Stunden) bei 2–8°C. Die Platten dicht verschlossen oder in einer feuchten Kammer mit Abdeckung inkubieren, um jegliche Evaporation zu vermeiden.
4. Waschen der Platte	Den flüssigen Inhalt aus den Vertiefungen absaugen und sodann mit etwa 300 µl Waschlösung fünfmal waschen.
5. Konjugatverteilung	100 µl Konjugat in jede Vertiefung geben.
6. Konjugatinkubation	Platte(n) sorgfältig abdecken und 30 Minuten (±3 Min.) bei 18–26°C inkubieren
7. Schritt 4 wiederholen	
8. Substratverteilung	100 µl TMB-Substrat Nr.12 in jede Vertiefung geben.
9. Substratinkubation	Die Platte(n) 10 Minuten (±1 Min.) bei 18–26°C unter Ausschluss von direktem Tageslicht inkubieren. Messung mit dem Befüllen der ersten Vertiefung beginnen.
10. Stoppen der Reaktion	100 µl Stopplösung Nr.3 in jede Vertiefung geben.
11. Messen der Platte	Das Photometer mit Luft als Leerwert kalibrieren. Messen und Notieren der Extinktionswerte bei 450 nm (oder für duale Wellenlänge bei 450 und 650 nm). Ergebnisse berechnen.
12. Interpretation (P-NK) (Serum-, Plasma- und Gewebeproben)	Proben mit einem P–NK -Verhältnis kleiner oder gleich 0,300 sind CSF Ag negativ. Proben mit einem P–NK -Verhältnis größer als 0,300 sind CSF Ag positiv.

Zul.-Nr.: FLI-B 492

Technischer Kundendienst:

Kontaktieren Sie Ihren zuständigen IDEXX Area Manager oder Vertriebshändler oder besuchen Sie unsere Webseite:

www.idexx.com/production/contact

IDEXX Europa Tel.: 00800 727 43399

*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.

©2013 IDEXX Laboratories, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

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

<p align="center">LOT</p> <p>Batch Code (Lot) Numéro de lot Chargenbezeichnung (Ch.-B.) Codice del lotto (partita) Código de lote (Lote) Número de Partida (Lote)</p>	<p align="center"></p> <p>Use by date À utiliser avant la date Verwendbar bis Usare entro Usar antes de Data de Vencimento</p>
<p align="center">SN</p> <p>Serial Number Numéro de série Seriennummer Numero di serie Número de serie Número de série</p>	<p align="center">CONTROL +</p> <p>Control positive Contrôle positif Positive Kontrolle Controllo Positivo Control Positivo Controle Positivo</p>
<p align="center">REF</p> <p>Catalog Number Numéro de catalogue Katalognummer Numero di catalogo Número de catálogo Número de catálogo</p>	<p align="center">CONTROL -</p> <p>Control negative Contrôle négatif Negative Kontrolle Controllo Negativo Control Negativo Controle Negativo</p>
<p align="center"></p> <p>Date of manufacture Date de fabrication Herstellungsdatum Data di produzione Fecha de fabricación Data de Fabricação</p>	<p align="center">IVD</p> <p>In vitro diagnostic Diagnostic in vitro In vitro-Diagnostikum Diagnostico in vitro Diagnóstico in-vitro Diagnóstico in-vitro</p>
<p align="center"></p> <p>Manufacturer Fabricant Hersteller Ditta produttrice Fabricante Fabricante</p>	<p align="center"></p> <p>Temperature limitation Limite de température Zulässiger Temperaturbereich Limite di temperatura Limite de temperatura Limite de temperatura</p>
<p align="center">EC REP</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 Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea</p>	<p align="center"></p> <p>Consult instructions for use Consulter la notice d'utilisation 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