



**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**

USO VETERINÁRIO

**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 Gebrauchsinformation ist gemäß § 11 Absatz 2 TierGesG zugelassen.

IDEXX **CSFV Ag Serum Plus**

06-40939-07

Test With Confidence™

IDEXX

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^{rns}) 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-Er ^{ns} mAb Coated Plate	2
2	Positive Control	1 x 1.6 mL
3	Negative Control	1 x 1.6 mL
4	Conjugate	1 x 25 mL
5	Tissue Soaking Buffer Concentrate (2X)	1 x 115 mL
A	TMB Substrate N.12	1 x 20 mL
B	Stop Solution N.3	1 x 20 mL
C	Wash Concentrate (10X)	1 x 125 mL
D	Detection Solution	1 x 15 mL
Other Components: Zip lock bag		1

Note: See table at the end of the insert for a description of symbols used on the insert and 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
- Vortex or equivalent
- Microplate covers (lid, aluminium foil or adhesive) and/or humid chamber
- Centrifuge (capacity 1500 x g)
- Incubator capable of maintaining a temperature of +37°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$)

Precautions and Warnings

- Handle all biological material as potentially infectious.
- Wear protective gloves / protective clothing / eye or face protection when handling samples and reagents.
- Refer to the product Safety Data Sheet for additional information.
- See the end of this insert for reagent hazard and precaution warnings.

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. Use a separate pipette tip for each sample and control.
- 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.

Preparation of Reagents

Wash Solution

The Wash Concentrate (10X) must 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) must 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.

Preparation of Samples

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 µL of the clean supernatant for testing as described in the Test Procedure.

The overnight incubation protocol (12–18 hours at 2–8°C) should be used for tissue samples.

Test Procedure

All reagents must be allowed to come to 18–26°C before use. Mix reagents by gentle inverting or swirling.

- 1 Obtain coated plate(s) and record the sample position. If using partial plates, remove only those wells sufficient for samples to be tested. Place the remaining wells, along with the desiccant, in the extra zip lock bag provided and return to 2–8°C.

- 2 Dispense 50 μ L of Detection Solution into each well.

- 3 Dispense 50 μ L of Negative Control (NC) into duplicate wells.

- 4 Dispense 50 μ L of Positive Control (PC) into duplicate wells.

- 5 Dispense 50 μ L of samples into remaining wells.

- 6 Mix the content of the microwells by gently tapping the plate or use a microplate shaker.

- 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 μ L 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.

- 9 Dispense 100 μ L of Conjugate into each well.

- 10 Incubate for 30 minutes (\pm 3 min.) at 18–26°C.

- 11 Repeat step 8.

- 12 Dispense 100 μ L of TMB Substrate N.12 solution into each well.

- 13 Incubate 10 minutes (\pm 1 min.) at 18–26°C away from direct light.

14 Dispense 100 μ L of Stop Solution N.3 into each well.

15 Measure and record the absorbance of the samples and controls at 450 nm or using a dual wavelength of 450 nm and 650 nm.

16 Calculations:

Controls

$$NC\bar{x} = \frac{NC1 A(450) + NC2 A(450)}{2}$$

$$PC\bar{x} = \frac{PC1 A(450) + PC2 A(450)}{2}$$

Validity criteria

$$PC\bar{x} - NC\bar{x} \geq 0.150$$

$$NC\bar{x} \leq 0.250$$

For invalid assays, technique may be suspect and the assay should be repeated following a thorough review of the package insert.

Samples

$$S-N = \text{Sample A}(450) - NC\bar{x}$$

The presence or absence of CSFV antigen in the sample is determined by corrected OD value (S-N) for each sample.

17 Interpretation:

Negative

Positive

$$S-N \leq 0.300$$

$$S-N > 0.300$$

Note: IDEXX has instrument and software systems available which calculate results and provide data summaries.

For technical assistance:

IDEXX USA Tel: +1 800 548 9997 or +1 207 556 4895

IDEXX Europe Tel: +800 727 43399

Contact your IDEXX area manager or distributor or visit our website: [idexx.com/contact](https://www.idexx.com/contact)

* 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. All other product and company names and logos are trademarks or registered trademarks of their respective holders.

© 2023 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.

Définition et application

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.



Réactifs

Volume

1	Plaque sensibilisée avec des Ac monoclon. anti-E ^{ms}	2
2	Contrôle positif	1 x 1,6 ml
3	Contrôle négatif	1 x 1,6 ml
4	Conjugué	1 x 25 ml
5	Tampon d'éluion concentré pour tissus (2X)	1 x 115 ml
A	Substrat TMB N°12	1 x 20 ml
B	Solution d'arrêt N°3	1 x 20 ml
C	Solution de lavage concentrée (10X)	1 x 125 ml
D	Solution de détection	1 x 15 ml
Autres composants: sachet plastique hermétique réutilisable		1

Note: voir le tableau à la fin du mode d'emploi pour la description des symboles utilisés dans ce mode d'emploi et 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 avec filtre(s) 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
- Vortex ou équivalent
- Couvre-capsules pour microplaques, aluminium ou adhésifs et/ou chambre humide
- Centrifugeuse (capacité 1500 x g)
- Incubateur de plaques capable de maintenir une température de +37°C (±3°C)

Précautions d'emploi et mises en garde

- Manipuler tout matériel biologique comme étant potentiellement infectieux.
- 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.
- Voir à la fin du mode d'emploi pour les risques et mesures de prévention liés aux réactifs.

Pratiques de laboratoire

- Des résultats optimaux seront obtenus en se conformant de manière stricte au protocole fourni.
La précision du test dépend des éléments suivants: pipetage, minutage et lavage minutieux au cours de cette procédure. Utiliser un embout de pipette différent pour chaque échantillon et chaque contrôle.
- Ne pas exposer la solution de substrat TMB à la lumière directe du soleil ou à des 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.

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'élution pour tissus

Le tampon d'élution concentré pour tissus (2X) est dilué au 1:2 avec le même volume d'eau distillée ou déionisée (exemple: 50 ml de Tampon d'élution pour tissus concentré (2X) plus 50 ml d'eau distillée ou déionisée pour une plaque). Le Tampon d'élution 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. À 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'élution 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 (12–18 heures à 2–8°C) du mode opératoire.

Mode opératoire

Porter tous les réactifs à 18–26°C avant utilisation et bien homogénéiser par agitation douce ou inversion.

- 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. En cas d'utilisation d'une portion de plaque seulement, retirer le nombre de barrettes requises pour les échantillons à tester et replacer le reste de la plaque dans le sachet plastique fournis avec le dessiccant à 2–8°C.

- 2 Distribuer 50 µl de Solution de détection dans chaque puits.

- 3 Distribuer 50 µl de Contrôle négatif (CN) dans deux puits.

- 4 Distribuer 50 µl de Contrôle positif (CP) dans deux puits.

- 5 Distribuer 50 µl d'échantillon dans les puits disponibles adjacents.

- 6 Bien homogénéiser le contenu de la microplaque sensibilisée en tappant doucement le côté de la plaque ou en utilisant un agitateur de plaque.

- 7 Incubation des échantillons:
 - a. Sérum et plasma: incuber 2 heures à +37°C (±3°C) ou 18–24 heures à 2–8°C. Quelle que soit l'option choisie, les plaques doivent être scellées hermétiquement ou couvertes et incubées en chambre humide pour éviter toute évaporation.
 - b. Échantillons de tissus: incuber pendant 12–18 heures à 2–8°C. Les plaques doivent être scellées hermétiquement ou couvertes et incubées en chambre humide pour éviter toute évaporation.

- 8 Éliminer le liquide contenu dans les puits de la microplaque et laver 5 fois chaque puits avec environ 300 µl de Solution de lavage. Éviter 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.

- 9 Distribuer 100 µl de Conjugué dans chaque puits.

- 10 Incuber 30 minutes (±3 min.) à 18–26°C.

- 11 Répéter l'étape 8.

- 12 Distribuer 100 µl de Substrat TMB N°12 dans chaque puits.

13 Incuber 10 minutes (± 1 min.) à 18–26°C à l'abri de la lumière.

14 Distribuer 100 μ l de Solution d'arrêt N°3 dans chaque puits.

15 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.

16 Calculs:

Contrôles

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A(450) + CN2 A(450)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A(450) + CP2 A(450)}{2}$$

Critères de validité

$$CP\bar{x} - CN\bar{x} \geq 0,150$$

$$CN\bar{x} \leq 0,250$$

Si le test est invalide, la technique doit être suspectée et le test répété en suivant scrupuleusement le mode opératoire.

Échantillons

$$E-N = \text{Échantillon A(450)} - CN\bar{x}$$

La présence ou l'absence d'antigène CSFV est déterminée par le calcul de la valeur de densité optique corrigée de chaque échantillon.

17 Interprétation:

Négatifs

$$E-N \leq 0,300$$

Positifs

$$E-N > 0,300$$

Remarque: IDEXX fournit équipements et logiciels pour le calcul des résultats et la synthèse des données.

Pour l'assistance technique:

IDEXX É.-U. Tél.: +1 800 548 9997 ou +1 207 556 4895

IDEXX Europe Tél.: +800 727 43399

Contactez votre responsable de secteur IDEXX, votre distributeur ou visitez notre site web:

idexx.com/contactipd

* 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. Tous les autres logos, noms de produits et de sociétés sont des marques de commerce ou des marques déposées de leur détenteur respectif.

© 2023 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^{rns}) 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 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

1	Placa Impregnada com Ac monocl. anti-E _{ms}	2
2	Controle Positivo	1 x 1,6 ml
3	Controle Negativo	1 x 1,6 ml
4	Conjugado	1 x 25 ml
5	Tampão concentrado para imersão de tecido (2X)	1 x 115 ml
A	Substrato TMB No.12	1 x 20 ml
B	Solução de Interrupção No.3	1 x 20 ml
C	Concentrado de Lavagem (10X)	1 x 125 ml
D	Solução Detectora	1 x 15 ml
Otros componentes: Embalagem zip		1

Nota: Ver a tabela no final do inserte para uma descrição dos símbolos utilizados na inserte e nos rótulos deste kit.

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
- Ponteiras de pipeta descartáveis
- Proveta graduada para a solução de lavagem
- Leitor de placas para 96 cavidades (equipado com filtro de 450 nm ou em duplo filtro de 450 nm e 650 nm)
- Lavador de microplaca (sistema manual, semi-automático ou automático)
- Usar somente água destilada ou deionizada para o preparo dos reagentes usados no teste
- Vórtex ou equivalente
- Tampa para placas (tampa plástica, papel alumínio ou adesivo) e/ou câmara úmida
- Centrifuga (capacidade de 1500 x g)
- Incubadora capaz de manter uma temperatura de +37°C (± 3°C)

Precauções e Advertências

- Manipular todos os materiais biológicos como potencialmente infectantes.
- Usar luvas de protecção / vestuário / protecção para olhos ou rosto ao manusear amostras e reagentes.
- Consultar a ficha de segurança do produto para informações adicionais.
- Ver no final da protocolo as medidas de prevenção relacionadas aos perigos potenciais de alguns reagentes.

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. Usar uma ponteira diferente para cada amostra e controle.
- Não expor a solução de TMB à luz forte ou a agentes oxidantes. Manusear a solução de TMB em recipientes limpos de vidro ou plástico.
- Todos os resíduos devem ser descontaminados adequadamente antes do descarte. Descartar os conteúdos de acordo com as normas locais, regionais e nacionais.
- Ter cuidado para evitar a contaminação dos componentes do kit. Não devolver a sobra do reagente ao frasco.
- Não utilizar kits com prazo de validade vencido.

Preparo das 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.

Preparo das Amostra

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”.

Protocolo de incubação overnight (12–18 horas a 2–8°C) deverão ser usados para amostras de tecidos.

Procedimento de Teste

Permitir que os reagentes atinjam 18–26°C, então mesclar gentilmente através de inversão ou movimentos circulares leves.

- 1 Obtenha as placas impregnadas e anote a posição da amostra numa folha de trabalho. Se utilizar parcialmente as placas, remover apenas as cavidades suficientes para as amostras a serem testadas. Guardar as cavidades remanescentes com o dissecante no saco ziplock fornecido adicionalmente e armazenar entre 2–8°C.

- 2 Dispensar 50 µl de Solução Detectora em cada cavidade.

- 3 Dispensar 50 µl de Controle Negativo (CN) em duplicata.

- 4 Dispensar 50 µl de Controle Positivo (CP) em duplicata.

- 5 Dispensar 50 µl das amostras nas cavidades restantes.

- 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 (± 5 min.) a 37°C (± 3 °C) ou 12–18 horas a 2–8°C. Em ambas opções, a placa(s) deve ser hermeticamente selada ou ser coberta e incubada em uma câmara úmida.
 - b. Amostras de tecido: incubar overnight (12–18 horas) a 2–8°C. A placa(s) deve ser hermeticamente selada ou ser coberta e incubada em uma câmara úmida.

- 8 Remover o conteúdo líquido das cavidades da placa e lavar cada cavidade com aproximadamente 300 µl de Solução de Lavagem por 5 vezes. Evitar que a placa seque entre as lavagens e antes da adição do próximo reagente. Após a lavagem final, remover o fluido residual de lavagem de cada placa batendo-a firmemente em material absorvente.

- 9 Dispensar 100 µl de Conjugado em cada cavidade.

- 10 Incubar por 30 minutos (± 3 min.) á 18–26°C.

- 11 Repetir o passo 8.

- 12 Dispensar 100 µl de Substrato TMB No.12 em cada cavidade.

13 Incubar 10 minutos (± 1 min.) á 18–26°C longe da luz direta.

14 Dispensar 100 μ l de Solução de Interrupção No.3 em cada cavidade.

15 Meça e anote a absorbância das amostras e controles a 450 nm, ou em duplo comprimento de onda de 450 nm e 650 nm.

16 Cálculos:

Controles

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A(450) + CN2 A(450)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A(450) + CP2 A(450)}{2}$$

Crítérios de Validade

$$CP\bar{x} - CN\bar{x} \geq 0,150$$

$$CN\bar{x} \leq 0,250$$

Para testes inválidos, deve-se suspeitar da técnica, e o teste deve ser repetido após a revisão cuidadosa do protocolo do produto.

Amostras

$$A-N = \text{Amostra } A(450) - CN\bar{x}$$

A presença ou ausência de antígenos contra CSF na amostra é determinada pelo cálculo do valor de DO corrigido (A–N) para cada amostra.

17 Interpretação:

Negativas

$$A-N \leq 0,300$$

Positivas

$$A-N > 0,300$$

Nota: IDEXX têm instrumentos e software disponíveis para o cálculo de resultados e a elaboração de resumo de dados.

Para assistência técnica:

IDEXX EUA Tel: +1 800 548 9997 ou +1 207 556 4895

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Contate o representante local ou distribuidor IDEXX ou visite: idexx.com/contactlpd

* 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. Todos os outros nomes de produtos e de empresas, assim como logotipos, são marcas ou marcas registradas de seus respectivos proprietários.

© 2023 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 propuesto

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 Vírica 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 de confirmarse los resultados positivos con una prueba específica para CSFV.

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^{ns}) 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	
1	Placa tapizada con Ac monoclonales anti-E ^{ms}	2
2	Control Positivo	1 x 1,6 ml
3	Control Negativo	1 x 1,6 ml
4	Conjugado	1 x 25 ml
5	Solución Tampón para Tejidos Concentrada (2X)	1 x 115 ml
A	Substrato TMB n.º12	1 x 20 ml
B	Solución de Frenado n.º3	1 x 20 ml
C	Solución de Lavado Concentrada (10X)	1 x 125 ml
D	Solución de Detección	1 x 15 ml
Otros componentes: Bolsa de plástico de cierrehermético reutilizable		1

Nota: Ver tabla al final del protocolo para las explicaciones de los símbolos utilizados en este protocolo y 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 450/650 nm)
- Lavador de placas, manual, semiautomático o automático
- Usar sólo agua destilada o desionizada para preparar los reactivos de la prueba
- Vortex o equivalente
- Cubiertas de placas (tapa, papel de aluminio o adhesivo, etc) y/o cámara húmeda
- Centrífuga (1500 x g)
- Incubadora capaz de mantener una temperatura de +37°C (± 3°C)

Precauciones y advertencias

- Considerar todo material biológico como potencialmente infeccioso cuando se manipule.
- 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 del producto para obtener información adicional.
- Consultar al final de este protocolo para los peligros y medidas de prevención relacionados con los reactivos.

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. Usar una punta de pipeta diferente para cada muestra y control.
- 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.

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. La cantidad de Solución Tampón para Tejidos necesita ser calculada según se requiera. 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 µl de sobrenadante limpio para el análisis como se describe en el apartado "Protocolo del ensayo".

Para las muestras de tejidos se debe de usar el protocolo de incubación nocturna (12–18 horas a 2–8°C).

Procedimiento de la Prueba

Debe dejarse que todos los reactivos adquieran 18–26°C antes de usarlos. Los reactivos deberán mezclarse invirtiéndolos o agitándolos suavemente.

- 1 Obtener las placas tapizadas y marcar la posición de las muestras. Si no se utiliza toda la placa, separar únicamente los pocillos necesarios para analizar las muestras. Guardar el resto de pocillos, junto con el desecante, en la bolsa de plástico de cierre hermético reutilizable y volver a almacenar a 2–8°C.

- 2 Dispensar 50 µl de Solución de Detección en cada pocillo.

- 3 Dispensar 50 µl de Control Negativo (CN) en pocillos duplicados.

- 4 Dispensar 50 µl de Control Positivo (CP) en pocillos duplicados.

- 5 Dispensar 50 µl de las muestras en los pocillos restantes.

- 6 Mezclar el contenido de los pocillos golpeando levemente la placa o usar un agitador de placas.

- 7 Incubación de las muestras:
 - a. Muestras de suero y plasma: incubar durante 2 horas (± 5 min.) a +37°C ($\pm 3^\circ\text{C}$) o 12–18 horas a 2–8°C. 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 Eliminar el contenido líquido de cada pocillo y lavar cada pocillo con aproximadamente 300 µl de Solución de Lavado 5 veces. Evitar que las placas se sequen entre los lavados y antes de añadir el reactivo siguiente. Después del lavado final, eliminar el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola sobre material absorbente.

- 9 Dispensar 100 µl de Conjugado en cada pocillo.

- 10 Incubar 30 minutos (± 3 min.) a 18–26°C.

- 11 Repetir el paso 8.

12 Dispensar 100 μ l de Substrato TMB n.º12 en cada pocillo.

13 Incubar 10 minutos (\pm 1 min.) a 18–26°C lejos de la luz directa.

14 Dispensar 100 μ l de la Solución de Frenado n.º3 en cada pocillo.

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 Cálculos:

Controles

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A(450) + CN2 A(450)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A(450) + CP2 A(450)}{2}$$

Criterios de Validación

$$CP\bar{x} - CN\bar{x} \geq 0,150$$

$$CN\bar{x} \leq 0,250$$

En los ensayos no válidos, debe sospecharse de la técnica, y el ensayo tiene que repetirse siguiendo una revisión meticulosa del protocolo suministrado con el producto.

Muestras

$$M-N = \text{Muestra A}(450) - CN\bar{x}$$

La presencia o ausencia de antígeno de CSFV en la muestra se determina mediante el valor de la densidad óptica corregida (M–N) de cada muestra.

17 Interpretación:

Negativo

Positivo

$$M-N \leq 0,300$$

$$M-N > 0,300$$

Nota: IDEXX tiene a disposición instrumentos y sistemas de software para el cálculo de resultados y la elaboración de resúmenes de datos.

Para asistencia técnica:

IDEXX EE.UU. Tel: +1 800 548 9997 o +1 207 556 4895

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Contacte al representante local o distribuidor IDEXX o visite: idexx.com/contactlpld

N.º de registro: 1528-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. Todos los demás logotipos y nombres de productos y compañías son marcas o marcas registradas de sus respectivos titulares.

© 2023 IDEXX Laboratories, Inc. Todos los derechos reservados.

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

Gebrauchsinformation. In-vitro-Diagnostikum. 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 Gewebeproben (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 Pestiviren, 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 des Testprinzips

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 polyklonales Antiserum gegen CSFV (E^{ns}) 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
2	Positive Kontrolle	1 x 1,6 ml
3	Negative Kontrolle	1 x 1,6 ml
4	Konjugat	1 x 25 ml
5	Pufferkonzentrat für Gewebeproben (2X)	1 x 115 ml
A	TMB-Substrat Nr.12	1 x 20 ml
B	Stopplösung Nr.3	1 x 20 ml
C	Waschkonzentrat (10X)	1 x 125 ml
D	Detektorlösung	1 x 15 ml
Sonstige Komponenten: Wiederverwendbarer Druckverschlussbeutel.		1

Hinweis: Am Ende dieser Gebrauchsinformation befindet sich eine Tabelle, welche die im Text und auf den Etiketten verwendeten 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 oder 450 und 650 nm Messfiltern)
- Manuelles, halbautomatisches oder automatisches Mikrotiterplatten-Waschsystem
- Zur Vorbereitung der Reagenzien nur destilliertes oder demineralisiertes Wasser verwenden
- Vortex-Mischer oder gleichwertiger Mischer
- Abdeckungen für Mikrotiterplatten (Deckel, Alu-Folie oder Klebefolie) und/oder feuchte Kammer
- Zentrifuge 1500 x g
- Inkubator für eine konstante Temperatur von +37°C (±3°C)

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

- Alle biologischen Substanzen als potenziell infektiös behandeln.
- Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz oder Gesichtsschutz beim Umgang mit Proben und Reagenzien verwenden.
- Weitere Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten.
- Nähere Informationen zur Reagenziensicherheit und Vorsichtsmaßnahmen befinden sich am Ende der Gebrauchsinformation.

Laborpraktiken

- Bei strikter Einhaltung dieser Anweisungen werden optimale Ergebnisse erzielt. Sorgfältiges Pipettieren und Waschen sowie eine genaue Zeiteinteilung während der Testdurchführung sind notwendig, um die Genauigkeit der Werte zu gewährleisten. Für jede Probe und Kontrolle eine neue Pipettenspitze benutzen.
- 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.

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 (12–18 Stunden bei 2–8°C) behandeln.

Testanweisung

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

- 1 Die beschichteten Platten nehmen und die Position der Proben notieren. Falls nur ein Teil der Platte verwendet wird, die notwendige Menge an Vertiefungen entnehmen und den Rest der Platte mit dem Trockenmittel in dem mitgelieferten Plastikbeutel bei 2–8°C zurückstellen.

- 2 50 µl des Detektorlösung in jede Vertiefung geben.

- 3 50 µl negative Kontrolle (NK) in jeweils zwei Vertiefungen geben.

- 4 50 µl positive Kontrolle (PK) in jeweils zwei Vertiefungen geben.

- 5 50 µl jeder Probe in die restlichen Vertiefungen geben.

- 6 Den Inhalt durch vorsichtiges Klopfen an die Mikrotiterplatte mischen oder einen Schüttler für Mikrotiterplatten verwenden.

- 7 Proben inkubieren:
 - a. Serum- und Plasmaproben: Mikrotiterplatten 2 Stunden (± 5 Min.) bei +37°($\pm 3^\circ\text{C}$) 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 fest verschlossen oder abgedeckt in einer feuchten Kammer inkubieren, um eine Verdunstung zu vermeiden.

- 8 Den flüssigen Inhalt aus den Vertiefungen entfernen und sodann mit etwa 300 µl Waschlösung 5-mal waschen. Dabei ein Austrocknen der Platte zwischen den Waschschrritten und der Zugabe des nächsten Reagenz vermeiden. Nach dem letzten Waschen die Platte auf saugfähigem Material ausklopfen, um verbleibende Restflüssigkeit zu entfernen.

- 9 100 µl Konjugat in jede Vertiefung geben.

- 10 30 Minuten (± 2 Min.) bei 18–26°C inkubieren.

- 11 Schritt 8 wiederholen.

12 100 µl TMB-Substrat Nr.12 in jede Vertiefung geben.

13 10 Minuten (± 1 Min.) bei 18–26°C vor direktem Licht geschützt inkubieren.

14 100 µl Stopplösung Nr.3 in jede Vertiefung geben.

15 Messen und Notieren der Extinktionswerte bei 450 nm (oder für duale Wellenlänge bei 450 und 650 nm).

16 Berechnungen:

Kontrollen

$$NK\bar{x} = \frac{NK1 A(450) + NK2 A(450)}{2}$$

$$PK\bar{x} = \frac{PK1 A(450) + PK2 A(450)}{2}$$

Validitätskriterien

$$PK\bar{x} - NK\bar{x} \geq 0,150$$

$$NK\bar{x} \leq 0,250$$

Ungültige Ergebnisse sind möglicherweise auf eine nicht sachgemäße Durchführung zurückzuführen. Der Test sollte nach erneutem, sorgfältigem Durchlesen der Gebrauchsinformation wiederholt werden.

Proben

$$P-NK = \text{Probe A}(450) - NK\bar{x}$$

Das Vorhandensein oder Fehlen von CSFV-Antigen wird festgestellt, indem man den korrigierten OD-Wert der Probe (P–NK) ermittelt.

17 Interpretation:

Negativ

Positiv

$$P-NK \leq 0,300$$

$$P-NK > 0,300$$

Hinweis: IDEXX bietet auch Geräte und Softwaresysteme zur Berechnung der Ergebnisse und zur Datenverarbeitung an.

Technische Unterstützung:

IDEXX USA Tel: +1 800 548 9997 oder +1 207 556 4895

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Kontaktieren Sie Ihren lokalen IDEXX-Vertreter oder besuchen Sie unsere Webseite: idexx.com/contactlpd

Zul.-Nr.: FLI-B 492

* 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. Alle anderen Produktnamen, Firmennamen und Logos sind Schutzmarken oder eingetragene Schutzmarken von ihrer jeweiligen Eigentümer.

© 2023 IDEXX Laboratories, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

DANGER / DANGER / PERIGO / PELIGRO / GEFAHR



H317 / H412 / P261 / P280 / P333+P313

Positive control / Negative control / Conjugate / Tissue Soaking Buffer Concentrate (2X) / Wash concentrate (10X) / Detection Solution – May cause an allergic skin reaction. Harmful to aquatic life with long lasting effects. Avoid breathing mist/vapors. Wear protective gloves. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.

Contrôle positif / Contrôle négatif / Conjugué / Tampon d'élu­tion concentré pour tissus (2X) / Solution de lavage concentrée (10X) / Solution de détec­tion – Peut provoquer une allergie cutanée. Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Éviter de respirer les brouillards/vapeurs. Porter des gants de protection. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.

Controle Positivo / Controle Negativo / Conjugado / Tampão concentrado para imersão de tecido (2X)/ Concentrado de Lavagem (10X) / Solução Detectora – Pode provocar uma reação alérgica cutânea. Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Evitar respirar as névoas/ vapores. Usar luvas de proteção. Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.

Control Positivo / Control Negativo / Solución Tampón para Tejidos Concentrada (2X) / Conjugado / Solución de Lavado Concentrada (10X) / Solución de Deteccción – Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Evitar respirar la niebla/los vapores. Llevar guantes de protección. En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

Positive Kontrolle / Negative Kontrolle / Pufferkonzentrat für Gewebeproben (2X) / Konjugat / Waschkonzentrat (10X) / Detektorlösung – Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Einatmen von Nebel/Dampf vermeiden. Schutzhandschuhe tragen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.



H314 / H317 / H318 / P260 / P280 / P303+P361+P353
P305+P351+P338 / P310 / P333+P313.

Stop solution No.3 – Causes severe skin burns and eye damage. May cause an allergic skin reaction. Causes serious eye damage. Do not breath mist/vapors. Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water. IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.














Solution d'arrêt N°3 – Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Peut provoquer une allergie cutanée. Provoque des lésions oculaires graves. Ne pas respirer les brouillards/vapeurs. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage/des protections auditives. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement tout vêtement souillé ou éclaboussé. Rincer la peau à l'eau. EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.

Solução de Interrupção No.3 – Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. Pode provocar uma reacção alérgica cutânea. Provoca lesões oculares graves. Não respirar as névoas/ vapores. Usar luvas de proteção/ vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água. SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.

Solución de Frenado n.º3 – Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Provoca lesiones oculares graves. No respirar el niebla/los vapores. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico. En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

Stopplösung Nr.3 – Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Verursacht schwere Augenschäden. Nebel/Dampf nicht einatmen. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder den Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

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

	Batch Code (Lot) / Numéro de lot / Código de lote (Lote) Número de Partida (Lote) / Chargenbezeichnung (Ch.-B.)
	Serial Number / Numéro de série / Número de série Número de serie / Seriennummer
	Catalog Number / Numéro de catalogue / Número de catálogo Número de catálogo / Katalognummer
	In vitro diagnostic / Diagnostic in vitro / Diagnóstico in-vitro Diagnóstico in-vitro / In-vitro-Diagnostikum
	Authorized Representative in the European Community Représentant agréé pour la Communauté européenne Representante autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Autorisierte EG-Vertretung
	Positive Control / Contrôle positif / Controle Positivo Control Positivo / Positive Kontrolle
	Negative Control / Contrôle négatif / Controle Negativo Control Negativo / Negative Kontrolle
	Use by date / À utiliser avant la date / Data de Vencimento Usar antes de / Verwendbar bis
	Date of manufacture / Date de fabrication / Data de Fabricação Fecha de fabricación / Herstellungsdatum
	Manufacturer / Fabricant / Fabricante Fabricante/ Hersteller
	Temperature limitation / Limite de température Limite de temperatura / Límite de temperatura Zulässiger Temperaturbereich
	Consult instructions for use / Consulter la notice d'utilisation Consulte instruções para o uso / Consultar las instrucciones de uso Gebrauchsinformation beachten
	Major change in the user instructions Modification majeure du mode d'emploi Modificações importantes nas instruções de uso Modificación importante en el manual de instrucciones Wesentliche Änderung der Gebrauchsinformation

IDEXX Laboratories, Inc.
One IDEXX Drive
Westbrook, Maine 04092
USA

Manufacturer
IDEXX Switzerland GmbH
Stationsstrasse 12
CH-3097 Liebefeld-Bern
Switzerland

EU-Representative
IDEXX B.V.
P.O. Box 1334
2130 EK Hoofddorp
The Netherlands

idexx.com

IDEXX