

VETLIS® Aujeszky gE bELISA Porcinos



Kit de ELISA de bloqueo para la detección de anticuerpos anti-gE del virus de la Enfermedad de Aujeszky en muestras de suero de porcinos.

Blocking ELISA kit for the detection of anti-gE antibodies to Aujeszky's disease virus in porcine serum.

Uso veterinario

Solo autorizada su venta a laboratorios inscriptos en la Red Nacional del SENASA.



ELISA



Porcinos



Chemtest Argentina S. A.
Av. 25 de Mayo 1021, San Martín (C.P. 1650), Buenos Aires, Argentina.
info@chemtest.net - chemtest.net

VETLIS®
Aujesky gE bELISA Porcinos

Presentaciones / Componentes

Componentes	Descripción	15-VL07-2P Presentación 2 placas	15-VL07-5P Presentación 5 placas
Microplaca de análisis	Microplacas de 96 pocillos (12 strips x 8 pocillos con marco) recubiertas con antígeno, selladas y almacenadas en seco	2 microplacas (192 determinaciones)	5 microplacas (480 determinaciones)
Conjugado anti-gE HRP (azul)	Listo para usar (anticuerpos anti-gE conjugados con peroxidasa de rábano)	1 x 30 ml	1 x 62,5 ml
Solución sustrato-cromógeno	Lista para usar [3,3',5,5'-Tetrametilbencidina en solución de sustrato con peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂)] – CONSERVAR EN OSCURIDAD	1 x 30 ml	1 x 60 ml
Solución de frenado	Lista para usar (contiene ácido clorhídrico 2%) - CORROSIVO	1 x 20 ml	1 x 40 ml
Solución de lavado	Concentrada 10X	1 x 60 ml, 10X (c. s. p. 0,6 litros)	1 x 120, 10X (c. s. p. 1,2 litros)
Diluyente de muestra (violeta)	Listo para usar - CONTIENE CONSERVANTE [Timerosal (C ₉ H ₉ HgNaO ₂ S) 0,01%]	1 x 40 ml	1 x 100 ml
Control positivo (rojo)	CONTIENE CONSERVANTE [Timerosal (C ₉ H ₉ HgNaO ₂ S) 0,01%]	1 x 1 ml	1 x 2 ml
Control negativo (verde)	CONTIENE CONSERVANTE [Timerosal (C ₉ H ₉ HgNaO ₂ S) 0,01%]	1 x 1 ml	1 x 2 ml
Manual de instrucciones		1	1

Nombre y aplicación

VETLIS®

Aujesky gE bELISA Porcinos

Kit de ELISA de bloqueo para la detección de anticuerpos anti-gE del virus de la Enfermedad de Aujesky en muestras de suero de porcinos.

El kit VETLIS® Aujesky gE bELISA Porcinos es un kit de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) de bloqueo para la detección de anticuerpos específicos contra la proteína gE del virus de la Enfermedad de Aujesky en muestras de suero de porcinos.

Introducción

La enfermedad de Aujesky (seudorrabia) es una enfermedad porcina altamente contagiosa y de gran importancia económica. Esta infección viral suele causar síntomas en el sistema nervioso central (SNC) en animales jóvenes, enfermedad respiratoria en cerdos mayores y pérdidas reproductivas en cerdas. La enfermedad de Aujesky es consecuencia de la infección por el herpesvirus suid 1 (SuHV-1), también conocido informalmente como virus de la enfermedad de Aujesky (ADV). La prueba VETLIS® Aujesky gE bELISA Porcinos está diseñada para detectar la presencia de anticuerpos anti-ADV gE/gI en suero de porcinos. Proporciona un método rápido, sencillo y específico para diferenciar los anticuerpos contra la infección por ADV y la vacunación con cepas del virus con una delección de gE/gI. Los cerdos infectados con ADV producen anticuerpos contra la proteína gE/gI de ADV. En cambio, los cerdos vacunados con cepas con una delección de gE o gI no producen anticuerpos contra las proteínas gE/gI. La presencia de anticuerpos anti-gE/gI es evidencia de infección viral.

Principio de la técnica

VETLIS® Aujesky gE bELISA Porcinos

se basa en la utilización de placas de ELISA tapizadas con antígenos del ADV y un sistema indicador para detectar la presencia o ausencia de anticuerpos anti-gE en las muestras de suero mediante la utilización de un anticuerpo monoclonal anti-gE conjugado a la enzima peroxidasa de rábano (HRP).

El primer paso consiste en realizar una dilución del suero 1:2 sobre la placa recubierta con los antígenos del ADV. Durante la primera incubación, los anticuerpos anti-ADV presentes en el suero, incluyendo los anti-gE, reaccionan con los antígenos inmovilizados en la placa. Después de un lavado, se agrega al pocillo el conjugado de anticuerpos monoclonales anti-gE marcados con HRP donde compete por la unión al antígeno gE durante una segunda incubación. Si no hay anticuerpos anti-gE en el suero, el antígeno gE está disponible para reaccionar con el conjugado. Por el contrario, si hay anticuerpos anti-gE en el suero la unión del conjugado se encuentra bloqueada. Después de este periodo de incubación el conjugado que no ha reaccionado se elimina por lavado y se añade la solución sustrato/cromógeno. En presencia de la enzima, el sustrato se convierte en un producto que reacciona con el cromógeno generando un color azul. La reacción se detiene mediante el agregado de la solución de frenado y se observa un cambio de color al amarillo. La lectura de los resultados se realiza en un espectrofotómetro de microplacas midiendo la absorbancia a 450 nm. La absorbancia medida es inversamente proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos anti-gE presentes en la muestra de suero.

Almacenamiento y vencimiento

Conservación: entre 2 y 8°C.

Temperatura de transporte: 4 a 15°C hasta 72 horas. La conservación correcta de todos los componentes del kit permitirá el uso del mismo hasta la fecha de caducidad.

Período de vida útil: 18 meses. No utili-

zar componentes de diferentes lotes o después de la fecha de vencimiento.

Materiales necesarios que no se suministran

- Pipeta multicanal y/o micropipetas (20, 100 y 200 µl) de alta precisión.
- Contenedores para pipeta multicanal.
- Puntas de pipetas desechables.
- Lector de microplacas capaz de medir la absorbancia (Abs) a 450 nm.
- Cronómetro.
- Tubos para la dilución de los controles y muestras.
- Recipiente/bureta para preparación de la solución de lavado.
- Agua destilada (Tipo II) o ultrapura (Tipo I). Debe ser de la mayor calidad posible.
- Cobertor para microplacas (tapa, papel aluminio o film adhesivo).

Precauciones de uso

1. Leer atentamente y seguir todas las instrucciones de uso ajustándose estrictamente al procedimiento detallado en el manual de instrucciones incluido en el kit.
2. Conservar el kit y todos sus componentes a 2-8°C.
3. Antes de usar dejar que todos los componentes del kit alcancen la temperatura ambiente (20-25°C), y colocar nuevamente a 2-8°C inmediatamente después de su uso. La cantidad necesaria de Solución de sustrato-cromógeno y Conjugado debe retirarse del refrigerador solo 30 minutos antes de su uso (10 ml/placa).
4. Manipular todos los reactivos siguiendo la Buenas Prácticas de Laboratorio.
5. Las muestras de suero, como así también los controles positivo y negativo, deben considerarse potencialmente infecciosas y, por lo tanto, estas y los componentes del kit que las contactan deben manipularse con guantes y descartarse como residuo patológico según normativa legal vigente. La Solución de frenado contiene ácido clorhídrico (corrosivo). Su contacto con la piel genera irritación y debe manipularse con guantes. El resto de los componentes del kit no representa

ningún riesgo potencial para la salud y el medio ambiente.

6. No usar el kit pasada la fecha de caducidad o si los componentes no fueron conservados en las condiciones indicadas arriba.
7. No mezclar componentes o manuales de instrucciones de kits de distintos lotes.
8. Manipule los componentes del kit con cuidado para evitar la contaminación de los mismos.
9. Si se reutilizan los contenedores para pipeta multicanal, los mismos deben ser lavados de forma exhaustiva con agua de alta calidad e identificados para ser reutilizados con la misma solución.
10. Usar puntas de pipetas distintas para cada reactivo y para cada muestra.
11. Incluir los controles positivo y negativo por duplicado en cada serie de análisis.

Preparación de reactivos

a. Solución de lavado 1X

Preparar 150 ml de Solución de lavado 1X (suficiente para una microplaca) agregando 15 ml de Solución de lavado 10X a 135 ml de agua destilada (Tipo II) o ultrapura (Tipo I). Mezclar muy bien antes de usar. Una vez preparada, la Solución de lavado 1X se puede conservar a 2-8°C durante 7 días.

Nota: si se observaran cristales en la Solución de lavado 10X, la botella debe calentarse en baño maría a no más de 45°C y agitar muy bien hasta la completa disolución de los mismos.

Se recomienda preparar c.s.p. procesar las placas o pocillos del día.

b. Preparación de los controles

-Control positivo (CP): en un tubo de 1,5 ml agregar 100 µl del CP a 100 µl de Diluyente de muestra (dilución 1/2) y mezclar bien. Usar 100 µl por pocillo y por duplicado.

-Control negativo (CN): en tubo de 1,5 ml agregar 100 µl del CN a 100 µl de Diluyente de muestra (dilución 1/2) y mezclar

bien. Usar 100 µl por pocillo y por duplicado.

c. Preparación de las muestras

Las muestras de suero deben diluirse 1/2 utilizando el Diluyente de muestra. Para ello, agregar 100 µl de suero a 100 µl de Diluyente de muestra. Se utilizan 100 µl de muestra diluida por pocillo.

La dilución al 1/2 de los controles y las muestras también puede realizarse directamente sobre la placa de análisis agregando primero en cada pocillo 50 µl de Diluyente de muestra y luego 50 µl del suero control o problema. Homogeneizar muy bien subiendo y bajando con la micropipeta al menos 4 veces.

Notas:

-Pueden analizarse sueros frescos, refrigerados o congelados, libres de turbidez. Las muestras se pueden guardar en heladera durante 1 ó 2 días. Para una conservación más prolongada, se deben guardar a -20°C y, en estos casos, las muestras se deben descongelar totalmente, llevar a temperatura ambiente y homogeneizar antes de realizar el análisis.

-Las muestras de suero se pueden analizar en un solo pocillo. Sin embargo, se recomienda analizar las muestras por duplicado.

-Las muestras contaminadas y/o en mal estado pueden producir resultados erróneos.

Procedimiento de la prueba

1. Sacar la placa de su envoltorio.

Importante: no retirar la placa de su envoltorio hasta que la misma haya alcanzado la temperatura ambiente. Si no se utiliza toda la placa, separar únicamente los strips de 8 pocillos necesarios para analizar los controles y las muestras. Guardar el resto de los strips, junto con los desecantes, en la bolsa de aluminio original cerrada herméticamente y volver a almacenar en el refrigerador (2-8°C).

2. Agregar 100 µl por pocillo de cada muestra de suero. Ver ítem Preparación de las muestras. Tenga cuidado de no derramar muestras de un pocillo a otro.

Nota: las muestras se pueden procesar en un solo pocillo o por duplicado. Sin embargo, para obtener un resultado más confiable se recomienda procesar las muestras al menos por

duplicado.

3. Agregar por duplicado 100 µl por pocillo del CN y CP. Ver ítem Preparación de los controles.

4. Cubrir la placa e incubar a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 60 minutos.

Nota: cubrir la placa con una tapa plástica o papel aluminio para evitar la evaporación.

5. Lavar 3 veces con 200 µl de Solución de lavado 1X por pocillo. Ver ítem Preparación de reactivos.

Nota: retirar el líquido completamente después de cada lavado por volcado y golpeando la placa sobre material absorbente. Evitar que las placas se sequen entre los lavados y antes de agregar el reactivo siguiente.

6. Agregar 100 µl de Conjugado a cada pocillo.

7. Cubrir la placa e incubar a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 30 minutos.

Nota: cubrir la placa con una tapa plástica o papel aluminio para evitar la evaporación.

8. Repetir los lavados como se indica en el paso 5.

9. Agregar 100 µl de Solución sustrato-cromógeno en cada pocillo e incubar durante 10 minutos (± 1 minuto) a temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) y en oscuridad (por ejemplo, cubrir la placa con papel aluminio). Agitar manualmente. Comenzar a contar el tiempo luego de llenar el primer pocillo.

Nota: la Solución de sustrato-cromógeno debe dejarse 30 minutos a temperatura ambiente (20-25 °C) antes de su uso (10 ml/placa).

10. Detener la reacción agregando 50 µl de Solución de frenado en cada pocillo y mezclar cuidadosamente aplicando ligeros golpes en los bordes de la placa. Tenga cuidado de no derramar.

Nota: la Solución de frenado debe agregarse en el mismo orden y velocidad que la Solución sustrato-cromógeno (ver paso 9).

11. Medir la absorbancia a 450 nm (Abs450) inmediatamente utilizando un espectrofotómetro de placas. No es necesario realizar una lectura de blanco.

Importante: respetar los tiempos de in-

cubación.

Cálculos

Expresión de los resultados

Los resultados se expresan mediante el cálculo de la relación S/N (Abs450 de la muestra sobre la Abs450 del CN). La relación S/N se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$S/N = \frac{\text{Abs450 Muestra*}}{\text{Promedio Abs450 CN}}$$

* Abs450 promedio en caso de procesar las muestras por duplicado.

Criterios de validez de la prueba

Para confirmar la validez del ensayo deben cumplirse los siguientes criterios:

- Los valores de Abs450 de los duplicados de los controles (CP y CN) y las muestras no deben diferir en más del 20% con respecto al promedio del duplicado.
- La media de la relación S/N del CP debe ser inferior a 0,3 (S/N del CP < 0,3).
- La media de la Abs450 del CN debe ser superior a 0,5 (Abs450 del CN > 0,5).

Si no se cumple alguno de estos criterios, la prueba se debe considerar inválida. En este caso debe repetirse la prueba ajustándose estrictamente al procedimiento detallado en el manual de instrucciones del kit.

Interpretación de los resultados

Los resultados de las muestras deben interpretarse de la siguiente manera:

Suero (dilución 1/2)

S/N	Interpretación
$S/N \leq 0,65$	Positivo
$S/N > 0,65$	Negativo

Ejemplo de cálculo e interpretación del resultado

1) Abs450 del CP (duplicado): 0,301 y 0,305

Media Abs450 = $(0,301 + 0,305) / 2 = 0,303$

2) Abs450 del CN (duplicado): 1,521 y 1,501

Media Abs450 CN = $(1,521 + 1,501) / 2 = 1,511$ (válido)

S/N (CP) = $0,303 / 1,511 = 0,20$ (válido)

3) Abs450 de la muestra: 0,431

Valor S/N de la muestra = $(0,431 / 1,511) = 0,285$

4) Interpretación del resultado: Positivo

Para facilitar los cálculos, la evaluación de los criterios de validez y la interpretación de los resultados de la prueba, se encuentra disponible una planilla de cálculos en la página web de la empresa (<https://www.chemtest.net/elisa-aujeszky.php>). También puede solicitarla vía email a info@chemtest.net.

Importante: verificar siempre que el número de versión del manual de instrucciones provisto en el kit coincida con la versión de la planilla de cálculos.

Advertencias

Mantener fuera del alcance de los niños y animales domésticos. Centro Nacional de Intoxicaciones: Tel. 0800-333-0160.

SENASA

-Certificado de uso y comercialización
N° Primera serie a control E/T
-Estab. Elaborador N° 8675

Para asistencia técnica

Tel: (54-11) 2033-1455 (Ext. 6028)
info@chemtest.net
chemtest.net

VETLIS®
Aujeszky gE bELISA Porcine

Presentations / Components

Components	Description	15-VL07-2P 2 microplates	15-VL07-5P 5 microplates
Microplate	96-well microtitre plate (12 x 8 strip wells with strip holder) coated with the antigen, sealed and stored in dry	2 microplates (192 tests)	5 microplates (480 tests)
HRP anti-gE conjugate (blue)	Ready to use (horseradish peroxidase conjugated anti-gE antibodies)	1 x 30 ml	1 x 62.5 ml
Substrate-chromogen solution	Ready to use [3,3',5,5'-Tetramethylbencidine (H ₂ O ₂)] – STORE IN THE DARK	1 x 30 ml	1 x 60 ml
Stop solution	Ready to use (contains HCl 2%) - CORROSIVE	1 x 20 ml	1 x 40 ml
Wash solution	10X concentrate	1 x 60 ml, 10X (c. s. p. 0.6 litros)	1 x 120, 10X (c. s. p. 1.2 litros)
Sample diluent (violet)	Ready to use - CONTAINS PRESERVATIVE [Thimerosal (C ₉ H ₉ HgNaO ₂ S) 0.01%]	1 x 40 ml	1 x 100 ml
Positive control (red)	CONTAINS PRESERVATIVE [Thimerosal (C ₉ H ₉ HgNaO ₂ S) 0.01%]	1 x 1 ml	1 x 2 ml
Negative control (green)	CONTAINS PRESERVATIVE [Thimerosal (C ₉ H ₉ HgNaO ₂ S) 0.01%]	1 x 1 ml	1 x 2 ml
Instruction manual		1	1

Name and application

VETLIS®

Aujeszky gE bELISA Porcine

Blocking ELISA kit for the detection of anti-gE antibodies to Aujeszky's disease virus in porcine serum.

The VETLIS® Aujeszky gE bELISA Porcine kit is a blocking ELISA kit (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) for the detection of specific antibodies against the gE protein of the Aujeszky's disease virus in porcine serum.

Introduction

Aujeszky's disease (pseudorabies) is a highly contagious, economically significant disease of pigs. This viral infection tends to cause central nervous system (CNS) signs in young animals, respiratory illness in older pigs, and reproductive losses in sows. Aujeszky's disease results from infection by Suid Herpesvirus 1 (SuHV-1), which is also known informally as Aujeszky's disease virus (ADV). The VETLIS® Aujeszky gE bELISA Porcine kit is designed to detect the presence of anti-ADV gE/gI antibodies in swine serum. It provides a rapid, simple and specific method for differentiating ADV infected animals from those vaccinated with virus strains deleted in the gene that express gE/gI. Animals infected with ADV produce antibodies against ADV gE/gI proteins. However, swine vaccinated with gE/gI deleted vaccines do not produce antibodies against gE/gI proteins. The presence of gE/gI antibodies are evidence of viral infection.

Principle of the technique

VETLIS® Aujeszky gE bELISA Porcine is based on the use of ELISA plates coated with ADV antigens and an indicator system to detect the presence or absence of anti-gE antibodies in serum samples using a monoclonal anti-gE

antibody conjugated to horseradish peroxidase (HRP).

The first step involves performing a 1:2 dilution of the serum on the plate coated with the ADV antigens. During the first incubation, anti-ADV antibodies present in the serum, including those produced against gE, react with the antigens on the plate. After washing, an HRP (horseradish peroxidase)-labeled monoclonal anti-gE antibody conjugate is added to the well and allowed to compete for the gE viral antigen during a second incubation. If anti-gE antibodies are absent in the serum, the gE antigen is available to react with the conjugate. Conversely, if anti-gE antibodies are present in the serum, conjugate binding is blocked. After this incubation period, the unreacted conjugate is removed by washing, and a substrate/chromogen solution is added. In the presence of the enzyme, the substrate is converted into a product that reacts with the chromogen, generating a blue color. The reaction is stopped by adding the stopping solution, and a color change to yellow is observed. The results are read using a microplate spectrophotometer by measuring the absorbance at 450 nm. The measured Abs is inversely proportional to the amount of specific anti-gE antibodies present in the serum sample.

Storage and expiration

Store: between 2 and 8°C.

Transport temperature: 4 to 15°C for 72 hours. Proper storage of the kit and all reagents will allow the use until the expiration date.

Expiration: 18 months. Do not use reagents from different lots or after the expiration date.

Materials needed but not provided

- High precision multichannel pipette and/or micropipettes (50, 100 and 200 µl).
- Containers for multichannel pipette.
- Disposable pipette tips.

- Microplate reader for absorbance determination at 450 nm.
- Timer.
- Tubes for the dilutions of the controls and samples.
- Container/burette for the preparation of the wash solution.
- Distilled (Type II) or ultrapure (Type I) water or any similar high quality water.
- Microplate covers (lid, aluminium foil or adhesive).

Precautions

1. Carefully read and strictly follow all instructions detailed in the instruction manual included in the kit.
2. Store the kit and all reagents at 2-8 °C.
3. All reagents should equilibrate at room temperature (20-25°C) before use, and return to 2-8 °C following use. The required amount of Substrate-chromogen solution and Conjugate should be removed from the refrigerator only 30 minutes before use (10 ml/plate).
4. Handle all materials and reagents according to the Good Laboratory Practices.
5. Serum samples, as well as positive and negative controls, should be considered potentially infectious and, therefore, the kit components that contact them should be handled with gloves and disposed as pathological waste according to legal regulations. The stop solution contains hydrochloric acid (corrosive). Skin contact generates irritation and should be handled with gloves. The rest of the kit components does not represent any potential risk for health and the environment.
6. Do not use the kit beyond expiration date or if the kit components were not kept in the conditions indicated above.
7. Do not mix components or instruction manuals from different test kits batches.
8. Care should be taken to avoid contamination of kit components.
9. If multichannel pipette containers are reused, they should be washed thor-

oughly with high quality water for reuse and identified to be used with the same solution.

10. Use different pipettes tips for each reagent and for each sample.

11. Include positive and negative controls in duplicate in each test.

Reagents preparation

a. Wash solution 1X

Prepare 150 ml of 1X Wash Solution (enough for a microplate) by adding 15 ml of 10X Wash Solution to 135 ml of distilled (Type II) or ultrapure (Type I) water. Mix well before using. Once prepared, the 1X Washing Solution can be stored at 2-8°C for 7 days.

Note: if crystals appear in the 10X Wash solution, the bottle must be heated not above 45°C and shake well until completely dissolve.

It is recommended to prepare sufficient quantity to process the plates or wells of the day.

b. Preparation of controls

-Positive control (PC): in tubes of 1.5 ml add 100 µl of the PC to 100 µl of Sample diluent (1/2 dilution). Mix well before using. In each microplate the PC should be added at least in duplicate (100 µl per well).

-Negative control (NC): in tubes of 1.5 ml add 100 µl of the NC to 100 µl of Sample diluent (1/2 dilution). Mix well before using. In each microplate the NC should be added at least in duplicate (100 µl per well).

c. Sample preparation

Serum samples should be diluted 1/2 using the Sample diluent. Add 100 µl of serum to 100 µl of Sample diluent. Use 100 µl of diluted sample per well.

Alternatively, perform the 1/2 dilution of the controls and samples directly on the plate: add 50 µL of Sample diluent and then 50 µL of the control or sample. Homogenize the mixture by pipetting up

and down at least four times.

Notes:

-Fresh, chilled or frozen serum samples, free of turbidity, can be analyzed. Samples can be stored in refrigerator for 1 or 2 days. For longer periods store at -20°C and, in these cases, the samples should be completely thawed, bring to room temperature and homogenize before performing the analysis.

-Samples can be analyzed in a single well. However, it is recommended to analyze the samples at least in duplicate.

-Samples contaminated and/or not well conserved may produce erroneous results.

Test procedure

1. Remove the plate from its pouch.

Important: do not remove the plate from its pouch until it has reached room temperature. If the entire plate is not used, separate only the 8-well strips needed to analyze the controls and samples. Store the rest of the strips, along with the desiccants, in the original foil bag hermetically sealed and store in the refrigerator (2-8°C).

2. Add 100 µl per well of each serum sample. See Item Sample preparation. Be careful not to spill samples from well to well.

Note: samples can be processed in a single well or in duplicate. However, to obtain more reliable results it is recommended to run samples at least in duplicates.

3. Add in duplicate 100 µl per well of the NC and PC. See Item Preparation of controls.

4. Cover the plate and incubate at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ for 60 minutes.

Note: cover the plate with a plastic lid or aluminum foil to prevent evaporation.

5. Wash/rinse the plates 3 times with 200 µl of 1X Wash Solution per well. See item Reagents preparation.

Note: remove the liquid completely after each washing by dump and tapping onto absorbent material. Avoid plate drying between plate washings and before adding the next reagent.

6. Add 100 µl of Conjugate to each well.

7. Cover the plate and incubate at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ for 30 minutes.

Note: cover the plate with a plastic lid or aluminum foil to prevent evaporation.

num foil to prevent evaporation.

8. Repeat the washes as indicated in step 5.

9. Add 100 µl of Substrate-chromogen solution to each well, and incubated for 10 minutes (± 1 min) at room temperature ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) and in the dark (for example, cover the plate with aluminum foil). Shake manually. Start counting the time after filling the first well.

Note: substrate-chromogen solution should be warmed up for 30 minutes at room temperature (20-25°C) before use (10 ml/plate).

10. Stop the reaction by adding 50 µl of Stop solution into each well and mix thoroughly by lightly tapping the edges of the plate. Be careful not to spill. This solution must be added in the same order and speed as the Substrate-chromogen solution (see Step 9).

11. Measure the absorbance at 450 nm (Abs450) immediately using a plate spectrophotometer. There is no need to perform a blank reading.

Important: respect incubation times.

Calculations

Expression of results

Results are expressed by calculating the S/N ratio (Abs450 of the sample over the Abs450 of the CN). The S/N ratio is calculated using the following formula:

$$S/N = \frac{\text{Sample Abs450} *}{\text{NC mean Abs450}}$$

* If the sample was run in duplicate, consider the average of the Abs450 value.

Validity criteria

To confirm the validity of the test the following criteria must be met:

- The Abs450 values of the duplicate controls (PC and NC) and the samples must not differ by more than 20% from the average of the corresponding duplicate.
- The mean of the S/N ratio of the PC must

be less than 0.3 (S/N of PC < 0.3).

- The mean Abs450 of the NC must be greater than 0.5 (Abs450 of NC > 0.5).

If any of these criteria are not met, the test must be considered invalid. In this case, the test must be repeated, strictly following the procedure detailed in the kit's instruction manual.

Interpretation of results

The test sample results should be interpreted as follows:

Serum (dilution 1/2)

S/N	Interpretation
$S/N \leq 0.65$	Positive
$S/N > 0.65$	Negative

Example of result calculation and interpretation

1) Abs450 of PC (duplicate): 0.301 and 0.305

Mean Abs450 = $(0.301 + 0.305) / 2 = 0.303$

2) Abs450 of NC (duplicate): 1.521 and 1.501

Mean Abs450 = $(1.521 + 1.501) / 2 = 1.511$ (valid)

Mean S/N = $0.303 / 1.511 = 0.20$ (valid)

3) Abs450 of Sample: 0.431

S/N value of the sample = $(0.431 / 1.511) = 0.285$

4) Result interpretation: Positive

To facilitate the calculations, the evaluation of the validity criteria of the test and the interpretation of the results, a calculation sheet is available on the company's website (<https://www.chemtest.net/>)

elisa-aujeszky.php) or request it via email to info@chemtest.net.

Important: always check that the version number of the instruction manual provided in the kit matches the version of the spreadsheet.

For technical assistance

Tel: (54-11) 2033-1455 (Ext. 6028)
info@chemtest.net
chemtest.net

Notas / Notes

Uso veterinario

Solo autorizada su venta a laboratorios inscriptos en la Red Nacional del SENASA.

Advertencias: mantener fuera del alcance de los niños y animales domésticos. Centro Nacional de Intoxicaciones: Tel. 0800-333-0160.



ELISA



Porcinos



Chemtest Argentina S.A.
Av. 25 de Mayo 1021, San Martín (C.P. 1650), Buenos Aires, Argentina.
info@chemtest.net - chemtest.net