



INGEZIM PESTIVIRUS COMPAC

Prod Ref: 12.BVD.K3

Ensayo inmunoenzimático para la detección de anticuerpos específicos frente a Pestivirus de ruminantes (BVDV y BDV) en muestras de suero, leche y lactosuero.

Immunoenzymatic assay for the specific detection of antibodies to Ruminant Pestivirus (BVDV & BDV) in serum, milk and whey samples.

Última revisión / Last revision: 02-02-18
Registrado por el MAPA nº 1054 RD



COMPOSICION DEL KIT ELISA
ELISA KIT COMPOSITION

REACTIVO REAGENT	2 Placas (T) 2 Plates		5 Placas (T) 5 Plates	
	Unid	vol	Unid	Vol
Placas de microtitulación de 96 pocillos divididas en 12 tiras. 96 well microtitration plates divided in strips (12 x 8)	2	-	5	-
Viales conteniendo suero Control Positivo Vials containing Positive Control sera	1 vial	400 µl	2 viales	400 µl
Viales conteniendo suero Control Negativo Vials containing Negative Control sera	1 vial	400 µl	2 viales	400 µl
Viales conteniendo leche Control Positivo Vials containing Positive Control milk	1 vial	2 ml	2 viales	2 ml
Viales conteniendo leche Control Negativo Vials containing Negative Control milk	1 vial	2 ml	2 viales	2 ml
Viales conteniendo conjugado 1 peroxidasa concentrado 100X para ensayo con suero (AcM anti p-80/p125). Vials with conjugate 1 100x concentrated to use in assay with sera (Mab anti p-80/p125)	1 vial	200 µl	2 viales	200µl
Viales conteniendo conjugado 2 peroxidasa concentrado 100X para ensayo con leches (AcM anti IgG bovina). Vials with conjugate 2 100x concentrated to use in assay with milk (Mab anti bovine IgG)	1 vial	300 µl	2 viales	300µl
Frascos con Solución de lavado concentrada 25x. Bottles with washing solution 25x concentrated	1 frasco	125 ml	1 frasco	125 ml
Frascos conteniendo diluyente (DE01-01) Bottles containing diluent (DE01-01)	1 frasco	125 ml	2 frascos	125 ml
Frascos conteniendo sustrato (TMB) a la dilución de uso. Bottles containig substrate (TMB) ready to use	1 frasco	30 ml	1 frasco	60 ml
Frascos conteniendo solución de frenado. Bottles containing stoping solution	1 frasco	60 ml	1 frasco	60 ml

OTROS MATERIALES Y REACTIVOS NO INCORPORADOS EN EL KIT
OTHER MATERIALS AND REAGENTS NEEDED NOT PROVIDED WITH THE KIT:

Agua destilada o desionizada
Micropipetas de 5 a 200 µl.
Puntas de micropipeta de un solo uso
Dispositivos para lavado de placas.
Probetas de 50-250ml
Lector ELISA (filtro de 450 nm)

Distilled or deionised water.
Micropipettes from 5 to 200 µl.
Disposable micropipette tips.
Washing plates device.
Test tubes from 50 to 250 ml
ELISA Reader (450 nm filter)

I. FUNDAMENTO TECNICO DEL KIT

PARA MUESTRAS DE SUEROS nuestro kit se basa en la técnica del inmunoensayo enzimático de competición (**ELISA de competición**).

Sobre un soporte sólido (una placa de poliestireno), se fija el antígeno viral inactivado. Cada muestra de suero a ensayar, se dispensa en uno de los pocillos antigenados. En el caso de contener anticuerpos frente a Pestivirus, estos se unirán al antígeno de la placa "ocupando" los determinantes antigénicos específicos. Por el contrario si no contiene anticuerpos frente a pestivirus los determinantes antigénicos específicos, permanecerán "libres".

Para poder revelar las reacciones acontecidas en los pocillos, se utiliza un anticuerpo monoclonal marcado con peroxidasa específico para la proteína p80/p125 de pestivirus. Este conjugado se añade a cada uno de los pocillos ensayados, y "ocuparán" los determinantes antigénicos que hayan quedado libres tras la incubación con el suero problema. Después de eliminar mediante lavados todo resto de material no adherido, y añadiendo a cada pocillo un sustrato adecuado a la peroxidasa, se observará la aparición de una reacción coloreada allí donde los conjugados hayan encontrado epítomos específicos sin ocupar por los anticuerpos del suero problema.

De este modo los sueros negativos presentarán reacción coloreada en el pocillo ensayado y los sueros positivos no presentarán esta reacción.

PARA MUESTRAS DE LECHE Y LACTOSUERO nuestro kit se basa en la técnica del inmunoensayo enzimático indirecto (**ELISA indirecto**).

Sobre un soporte sólido (una placa de poliestireno), se fija el antígeno viral inactivado. Cada muestra de leche a ensayar, se dispensa en uno de los pocillos antigenados. En el caso de contener anticuerpos frente a Pestivirus, estos se unirán al antígeno de la placa.

Para detectar estos anticuerpos se utiliza un anticuerpo monoclonal conjugado con peroxidasa específico de IgGs bovinas, el cual quedará fijado al pocillo en el caso de que la leche fuera positiva. De nuevo y como en el caso anterior, tras eliminar mediante lavados el material no adherido y tras la adición de un sustrato adecuado a la peroxidasa se obtendrá una reacción coloreada solo en los pocillos en los que la leche ensayada haya sido positiva (al contrario de lo que ocurre en el ensayo de competición con sueros)

II. PRECAUCIONES

1. Leer atentamente las instrucciones de uso.
2. Mantener los reactivos a temperatura ambiente antes de su utilización.
3. No mezclar reactivos ni instrucciones de diferentes kits.
4. Evitar cualquier contaminación de los reactivos.
5. No utilizar los kits una vez superada la fecha de caducidad.
6. No comer beber ni fumar mientras se manipulen los reactivos y/o las muestras.
7. No pipetear los reactivos con la boca.
8. Utilizar una punta de pipeta nueva por cada muestra a testar.
9. Incluir sistemáticamente un control positivo y un control negativo siempre que se utilice el kit.
10. **¡IMPORTANTE!** El sustrato es extremadamente sensible a la luz y a las contaminaciones, por lo que se recomienda retirar del bote únicamente el volumen que se vaya a utilizar y nunca devolver el sustrato sobrante al bote.
11. La solución de frenado es un ácido fuerte. En caso de contacto con la piel lavar inmediatamente con abundante agua.

III. NORMAS PARA LA CORRECTA CONSERVACION DE LOS REACTIVOS

Todos los componentes, deben ser almacenados en refrigeración (entre +2°C y +8°C).

Los controles de suero, **una vez abiertos**, los sueros controles, permanecerán estables durante un periodo máximo de un mes. De no utilizarse completamente en dicho periodo, es preferible distribuirlos en alícuotas y congelarlos para posteriores utilizaciones.

Sin embargo, los controles de leche han de permanecer siempre a 4°C

IV. INFORMACION SOBRE EL MODO DE REALIZAR LOS LAVADOS

Los lavados pueden realizarse mediante un lavador automático de placas o mediante una micropipeta que permita dispensar la cantidad de 300 µl por pocillo o utilizando un frasco lavador. Tras las incubaciones, realizar los lavados según las siguientes instrucciones:

- Eliminar el contenido de la placa volcándola bruscamente para evitar el intercambio de fluidos entre los pocillos.
- Distribuir unos 300 µl de solución de lavado por pocillo.
- Agitar delicadamente la placa evitando el intercambio de material entre pocillos.
- Volcar la placa bruscamente para vaciar su contenido.
- Repetir el proceso cuantas veces sea indicado en el procedimiento.
- Antes de eliminar el contenido del último lavado, asegurarse de tener preparado el reactivo a utilizar inmediatamente. No debe mantenerse la placa en seco.
- Tras el último lavado, sacudir la placa boca abajo sobre un papel de filtro absorbente.

V. PREPARACION DE LAS MUESTRAS:

MUESTRAS DE SUERO

Para realización de screening, los sueros se utilizarán a la dilución 1/5. (20 µl de suero + 80 µl de diluyente de suero es la cantidad necesaria para cada pocillo). En el caso de titulación se realizarán diluciones de factor 2 a partir de la dilución 1/5.

MUESTRAS DE LECHE (individual o tanque)

Las muestras de leche deben ensayarse sin dilución previa. Pueden utilizarse frescas, refrigeradas o previamente congeladas. Para eliminar la interferencia de los lípidos, las leches deben ser desnatadas parcialmente ya sea por centrifugación (15 min a 2000xg), o dejándola una noche a 4°C hasta observar la formación de una capa lipídica en la superficie. Se deberá recoger muestra por debajo de esa capa de lípidos y esa será la que se use en el ensayo. También se puede usar lactosuero que es el líquido transparente que se observa cuando se corta la leche. Se consigue fácilmente congelando y descongelando la muestra

VI. PREPARACION DE LOS REACTIVOS

♦ Solución de lavado:

Diluir un volumen de solución concentrada en 24 volúmenes de agua destilada, (40 ml de solución concentrada más 960 ml de agua destilada). Una vez preparada, la solución permanece estable mantenida entre +2°C y +8°C.

♦ Controles:

PARA SUEROS: Los controles deben tratarse como las muestras es decir se ensayarán a la 1/5 en diluyente (20 µl + 80 µl de diluyente)

PARA LECHE: Los controles deben tratarse como las muestras, es decir sin dilución previa (100 µl/pocillo)

Preparación del conjugado: a realizar inmediatamente antes de su utilización

Realizar una dilución 1/100 en diluyente.

PARA SUERO: utilizar el conjugado 1 (de tapa amarilla)

- Para una placa la cantidad necesaria y suficiente de conjugado es: 60 µl de conjugado en 6ml de diluyente
- Para una tira la cantidad necesaria y suficiente de conjugado es: 5 µl de conjugado en 0,5 ml de diluyente.

PARA LECHE utilizar el conjugado 2 (de tapa verde)

- Para una placa la cantidad necesaria y suficiente de conjugado es: 110 µl de conjugado en 11 ml de diluyente
- Para una tira la cantidad necesaria y suficiente de conjugado es: 10 µl de conjugado en 1 ml de diluyente.

Agitar muy bien la solución antes de su utilización. Preparar el volumen necesario a utilizar ya que la solución sobrante ha de ser desechada

INSTRUCCIONES PARA ENSAYAR SUEROS

VII. PROCEDIMIENTO

- Antes de empezar el ensayo, equilibrar todos los componentes del kit (excepto el conjugado) a temperatura ambiente.
- Dispensar 100 µl de las diluciones 1/5, preparadas anteriormente, de los sueros controles y de las muestras en cada uno de los pocillos de la placa. Es recomendable, en caso de screening, que tanto los sueros controles como los sueros problema se ensayen por duplicado. Tapar la placa e incubar **1 hora a 37°C ± 1°C**.
- SIN RETIRAR LOS SUEROS**, añadir 50 µl de conjugado de tapa amarilla preparado según procedimiento descrito, en cada pocillo.
Agitar la placa suavemente para que se mezclen bien los reactivos, teniendo como precaución que no ocurra intercambio de fluidos entre los pocillos. Mantener **1 hora a temperatura ambiente**.
- Lavar 5 veces la placa según el procedimiento descrito anteriormente.
- Añadir 100 µl de sustrato por pocillo. Mantener la reacción **15 minutos a temperatura ambiente** y en oscuridad. Se recomienda la utilización de una pipeta multicanal a fin de agilizar lo más posible este proceso.
- Añadir 100 µl de solución de frenado, con objeto de parar la reacción. Se recomienda añadir este reactivo siguiendo el mismo orden en que se añadió el sustrato. La solución de frenado provocará el cambio de azul a amarillo .Leer a 450nm en los 5 min siguientes a la adición de la solución de frenado

VIII. LECTURA E INTERPRETACION DE RESULTADOS:

La lectura se realiza a **450 nm**.

VALIDACIÓN DEL TEST:

El test se considerará válido cuando:

- Abs (Control +) < 0,4
- Abs (Control -) > 0,8

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Calculo del Cut Off:

- Cut off positivo = 0,5 x Abs media control negativo.
- Cut off negativo = 0,55 x Abs media control negativo.

Interpretación de resultados:

Si las muestras se analizan por duplicado, deberá calcularse la media de DO de ambos pocillos. Las muestras se considerarán positivas cuando su valor de absorbancia sea inferior al cut off positivo, y negativas cuando sea superior al cut off negativo.

Los sueros con Abs entre ambos cut off serán considerados dudosos y se recomienda que se ensayen de nuevo en un plazo de 3 semanas.

En caso de titulación, el título de la muestra será la mayor dilución cuyo valor de absorbancia sea igual o menor que el cut off positivo.

EJEMPLO

- Abs media del control negativo: 1,300
- Abs media del control positivo: 0,220
- Cut off positivo : 1.300 x 0.5 = 0.650
- Cut off negativo : 1.300 x 0.55 = 0.715
-

Diluciones	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
1/5	0.163	0.291	1.235
1/10	0.176	0.412	1.284
1/20	0.211	0.567	1.401
1/40	0.325	0.842	1.180
1/80	0.505	1.055	1.320
1/160	0.617	1.330	1.324
1/320	0.897	1.284	1.408
1/640	1.222	1.357	1.260

En este caso las muestras 1 y 2 son positivas con un título de 1/160 y 1/20 respectivamente, mientras que la muestra 3 es negativa

INSTRUCCIONES PARA ENSAYAR LECHES

VII. PROCEDIMIENTO

2. Dispensar 100 µl de las leches sin diluir tratadas como se especifica en las sección V. Añadir 100 µl de los controles proporcionados en el kit. Tapar la placa e incubar **45 min a 37°C ± 1°C** .
3. Lavar 4 veces la placa según el procedimiento descrito anteriormente.
4. Añadir 100 µl a cada pocillo del conjugado de tapa verde preparado según procedimiento descrito. Tapar la placa en incubar **30 min a 37°C ± 1°C**
5. Lavar 5 veces la placa según el procedimiento descrito anteriormente.
6. Añadir 100 µl de sustrato por pocillo. Mantener la reacción **10 minutos a temperatura ambiente** y en oscuridad. Se recomienda la utilización de una pipeta multicanal a fin de agilizar lo más posible este proceso.
7. Añadir 100 µl de solución de frenado, con objeto de parar la reacción. Se recomienda añadir este reactivo siguiendo el mismo orden en que se añadió el sustrato. La solución de frenado provocará el cambio de azul a amarillo. Leer a 450nm en los 5 min siguientes a la adición de la solución de frenado

VIII. LECTURA E INTERPRETACION DE RESULTADOS:

VALIDACIÓN DEL TEST:

El test se considerará válido cuando:

- Abs (Control +) > 0,8
- Abs (Control -) < 0,24

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Si las muestras se analizan por duplicado, deberá calcularse la media de DO de ambos pocillos.

- Calcular la relación M/P

$$M/P = DO \text{ muestra} / DO \text{ control+}$$

Si la M/P de la muestra es > 0.3 la muestra es positiva.

Si la M/P de la muestra es ≤ 0.3 la muestra es negativa

I. TECHNICAL BASIS

FOR SERUM SAMPLES

The kit is based on a competitive enzymatic immunoassay (Blocking Elisa). We make a brief description of the technique below:

The antigen is fixed in a solid support (polystyrene plate). Each samples to be assayed will be added in one well. In case it has antibodies specific of pestivirus, they will bind to the antigen coating the plate and blocking the specific antigenic sites. If the sample does not contain specific antibodies, the specific antigenic site will stay free. After incubation with serum samples, we add a pestivirus p80/p125 specific monoclonal antibody (peroxidase conjugated). If the serum sample contains antibodies against pestivirus, they will not allow the conjugate bind to the antigen whereas if it does not contain specific antibodies the Mab will bind to the antigen on the plate.

After washing the plate to eliminate all non fixed material, we can detect the presence or absence of labelled Mab by adding the substrate that in presence of the peroxidase will develop a colorimetric reaction.

Hence, if there is a coloured well it means that the Mab conjugated has bound to the antigen because there are no antibodies blocking the antigen, so the sample could be marked as negative to Pestivirus. On the contrary, when the well does not give this colorimetric reaction means there are pestivirus specific antibodies blocking the antigen. In this case the sample must be marked as Positive to pestivirus.

FOR MILK & WHEY SAMPLES

The kit is based on an indirect enzymatic immunoassay (Indirect Elisa). We make a brief description of the technique below:

The antigen is fixed in a solid support (polystyrene plate). Each samples to be assayed will be added in one well. In case it has antibodies specific of pestivirus, they will bind to the antigen coating the plate. After incubation with milk samples, we add a bovine IgG specific monoclonal antibody (peroxidase conjugated). If the milk sample contains antibodies against pestivirus, the conjugate bind to them and will be fixed to the well.

After washing the plate to eliminate all not fixed material, we can detect the presence or absence of labelled conjugate by adding the substrate that in presence of the peroxidase will develop a colorimetric reaction.

Hence, if there is a coloured well it means that the conjugate has bound to the positive milk antibodies. On the contrary, when the well does not give this colorimetric reaction means there are not pestivirus specific antibodies.

II. PRECAUTIONS AND WARNINGS FOR USERS:

1. Read the instructions of use carefully.
2. Bring all reagents to room temperature (20°-25°C) prior to use.
3. Do not mix instructions or reagents from different kits.
4. Avoid any contamination of the reagents of the Kit.
5. Do not use components after expiration dates and do not mix components from different lots.
6. There should be no eating, drinking, or smoking where specimens or Kit reagents are being handled.
7. Do not pipette by mouth.
8. Use a new tip for each serum sample.
9. Stop solution is a strong acid solution that must be used with precaution. In case of accidental contact with skin, wash gently with water.
10. For each utilisation of the Kit, control positive and negative serum must be tested in a systematic way.
11. Substrate must be handled with care, it is very sensible to light and contamination.

III. STORAGE OF COMPONENTS

All reagents and plates must be stored between +2°C and +8°C.

Once opened, control sera are stable for one month. In case that they are not going to be used in this period, we recommend to aliquot and store them at -20°C. Controls milk must be stored always at 4°C

IV. INFORMATION ABOUT THE WASHING STEPS

The washing steps could be done using an automatic washing machine or a multichannel pipetting device suitable for dispensing 300 µl on each well.

After the incubation periods, the washing steps must be done following the next instructions:

- Throw out the content of the plate by a brusque turn over of the plate to avoid the possible mixture of the content from one well to another.
- Dispense a volume of 300 µl of washing solution on each well..
- Shake delicately the plate, avoiding the contamination between wells.
- Turn over the plate brusquely to empty the wells.
- Repeat the process as much times as is indicated on the instructions of the Kit.
- Prior to empty the content of the last washing step, verify that the next reagent to be added to the plate is ready to use. Do not maintain the plate on dry more time than strictly needed.
- After the last step of washing shake the plate turned over an absorbent filter paper.

V. PREPARATION OF SAMPLES:

SERUM SAMPLES

The sera samples need to be at 1/5 dilution in serum diluent to be tested (20 µl of serum + 80 µl of diluent for serum is the necessary quantity for one well: 100 µl in total)

If you wish to run titration, dilutions of the sera could be done (1/5, 1/10, 1/20, etc.).

MILK SAMPLES (individual and tank)

Must be tested undiluted. Fresh, refrigerated or previously frozen milk may be tested. To eliminate interference from lipids, partially skimmed milk should be either by centrifugation (15 min at 2000xg) or leaving overnight at 4°C to observe the formation of a lipid layer on the surface. Sample should be collected under the layer of lipids and that will be the one used in the assay. To obtain whey, freeze/thaw the milk sample.

VI. PREPARATION OF REAGENTS

• *Washing solution:*

Dilute one part of the concentrate washing solution provided in the Kit with 24 parts of distilled or deionized water (40 ml of concentrated solution and 960 ml of water). When ready this solution remains stable between +2°C and +8°C.

• *Controls:*

FOR SERUM: Control sera must be diluted as sera samples

FOR MILK: Control milk must be tested as milk sample (undiluted).

• *Preparation of the conjugate (to make immediately before use):*

Dilute the needed quantity of conjugate provided in the Kit 1/100 with diluent

FOR SERUM use the conjugate **with yellow top**

- The necessary and sufficient quantity of conjugate for a complete plate is 60 µl of Conjugate in 6 ml of diluent.
- The necessary and sufficient quantity of Conjugate for an eight wells strip is 5 µl of conjugate in 0,5 ml of diluent.

FOR MILK use the conjugate **with green top**

- The necessary and sufficient quantity of conjugate for a complete plate is 110 µl of Conjugate in 11 ml of diluent.
- The necessary and sufficient quantity of Conjugate for an eight wells strip is 10 µl of conjugate in 1 ml of diluent.

Shake very well the solution before use.

Prepare only the quantity needed for each time because the remainder volume has to be rejected

INSTRUCTIONS FOR SERUM SAMPLES TESTING

VII. TEST PROCEDURE

- All reagents (except conjugate) must be allowed to come to room temperature before use.
- Add 100 µl of Positive control serum, Negative control serum and samples (diluted as it's specified in the point V) to each well of the plate. We recommend running samples and control in duplicate. Incubate the plate **one-hour at 37 ± 1°C**.
- WITHOUT REMOVING SERUM SAMPLES**, add 50 µl of conjugate (prepared following previous instructions) to each well. Shake carefully the plate to allow the correct homogenisation of the components mixed on each well. Incubate the plate for **1 hour at room temperature (+25°C)**.
- Wash 5 times following the described procedure.
- Add 100 µl of substrate solution, to each well. Keep the plate for **15 min at room temperature**, in a dark place.
- Add 100 µl of stop solution to each well.
- Read the OD of each well with a spectrophotometer at 450 nm within 5 min after the addition of stop solution

VIII. .READING AND RESULT INTERPRETATION

VALIDATION OF THE TEST

The test could be considered valid if:

- The ODs for the Positive Control < 0.4
- The ODs for the Negative Control > 0.8

INTERPRETATION OF THE RESULTS:

Cut Off calculation:

- ⇒ *Positive Cut Off* = Negative control OD x 0,5
- ⇒ *Negative Cut Off* = Negative control OD X 0,55

Results Interpretation:

When you are running duplicate samples, OD values will be calculate for each sample as the arithmetic mean of both values.

- ⇒ All samples with OD higher than negative CUT OFF value must be considered as Negatives.
- ⇒ All samples with OD values lower than positive CUT OFF values will be considered as Positives
- ⇒ Samples with OD values between both cut-offs must be considered as doubt full. For these samples a new assay is recommended after 3 weeks.
- ⇒ In case of titration, the titter of the sample will be the higher dilution with an OD value lower than positive cut off.

EXAMPLE:

- OD of the Negative Control = 1,300
- OD of the Positive Control = 0,220
- Positive Cut Off = 1.300 x 0.5 = 0.650
- Negative Cut Off = 1.300 x 0.55 = 0.715

DILUTIONS	SAMPLE 1	SAMPLE 2	SAMPLE 3
1/5	0.163	0.291	1.235
1/10	0.176	0.412	1.284
1/20	0.211	0.567	1.401
1/40	0.325	0.842	1.180
1/80	0.505	1.055	1.320
1/460	0.617	1.330	1.324
1/320	0.897	1.284	1.408
1/640	1.222	1.357	1.260

In this example samples 1 and 2 are positive with titters 1/160 and 1/20 respectively. Sample 3 is negative.

INSTRUCTIONS FOR MILK AND WHEY SAMPLES TESTING

VII. TEST PROCEDURE

1. Add 100 µl of samples milk and Positive and negative control milk (as it's specified in the point V and VI) to each well of the plate. We recommend running samples and control in duplicate. Incubate the plate **45 min at 37 ± 1°C**.
2. Wash 4 times following the described procedure
3. Add 100 µl of conjugate (prepared following previous instructions) to each well. Incubate the plate for **30 min at 37 ± 1°C**.
4. Wash 5 times following the described procedure.
5. Add 100 µl of substrate solution, to each well. Keep the plate for **10 min at room temperature**, in a dark place.
6. Add 100 µl of stop solution to each well.
7. Read the OD of each well with a spectrophotometer at 450 nm within 5 min after the addition of stop solution

VIII. .READING AND RESULT INTERPRETATION

The reading must be done with a spectrophotometer at **450 nm**.

VALIDATION OF THE TEST

The test could be considered valid if:

- Abs (Control +) > 0,8
- Abs (Control -) < 0,24

INTERPRETATION OF THE RESULTS:

When you are running duplicate samples, OD values will be calculate for each sample as the arithmetic mean of both values.

S/P calculation:

$$S/P = OD \text{ sample} / OD \text{ control+}$$

Results Interpretation:

⇒ $S/P > 0.3$ sample is positive

⇒ $S/P \leq 0.3$ sample is negative

INGEZIM PESTIVIRUS
12.BVD.K3

ENGLISH

Developed and manufactured in Spain by:

INMUNOLOGIA Y GENETICA APLICADA, S.A.
C/ Hnos. García Noblejas, 39
28037- MADRID (SPAIN)
Tlf: +34 91368.05.01/04
Fax: +34 91 408.75.98
E-mail: ingenasa@ingenasa.com
www.ingenasa.es



Distributed in

by:

