

**Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus (BHV1) gB
Antibody Test Kit**

**Kit de détection des anticorps anti-IBR gB dirigés
contre le Virus de la Rhinotrachéite Infectieuse
Bovine (BHV1)**

**Kit para detecção de anticorpos contra o vírus da
Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (BHV1)**

**Kit para la detección de Anticuerpos frente al Virus
de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (BHV1)**

**Testkit zum Nachweis von gB-Antikörpern gegen das
Virus der Infektiösen Bovinen Rhinotracheitis (BHV-1)**

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

Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus (BHV1) gB Antibody Test Kit

For veterinary use only.

Name and Intended Use

IDEXX IBR gB X3 is IDEXX's enzyme immunoassay for the detection of BHV1 specific antibodies to Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus (IBR) in individual bovine serum, plasma and milk samples using IBR-gB specific monoclonal antibodies.

General Information

Infectious Bovine Rhinotracheitis is a highly contagious, infectious disease that is caused by Bovine Herpesvirus-1 (BHV1). In addition to causing respiratory disease, this virus can cause conjunctivitis, vulvovaginitis, abortions, encephalitis and generalized systemic infections. Although clinical findings may be highly suggestive of IBR, no real pathognomonic signs are restricted to IBR. Therefore, laboratory confirmation is necessary in order to definitely identify BHV1 infection. Confirmation of exposure to BHV1 via natural infection is facilitated by a measurement of antibody in serum or milk. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against BHV1 in cattle has been shown to correlate with the virus neutralization test (VN), although it can be more sensitive.

Descriptions and Principles

IDEXX IBR gB X3 is an enzyme immunoassay designed to detect the presence of antibodies to IBR/IPV in individual bovine serum, plasma and milk samples. In addition, antibody responses induced by vaccines which contain the glycoprotein B (gB) of BHV1 are detected by this ELISA. A microtitration format has been configured by immobilizing IBR viral antigens on the plate. Upon incubation of the test sample in the antigen-coated well, antibody specific to IBR forms a complex with the immobilized viral antigens. After washing away unbound materials from the wells, a gB-specific monoclonal antibody Horseradish Peroxidase conjugate is added which will not bind to the BHV1 antigen when the antigenic determinant, recognized by the monoclonal antibody, has been occupied (blocked) previously by antibodies in the test sample. Next, unbound conjugate is washed away and a substrate 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 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 blocking percentage of the samples is calculated by using the absorbance [A(450)] or [A(450/650)] obtained with the test sample and the negative control containing no specific antibodies.

Reagents**Volume**

1	BHV-1 Antigen Coated Plate	5	30
2	Positive Control	1 x 2.0 mL	1 x 6.5 mL
3	Negative Control	1 x 2.0 mL	1 x 6.5 mL
4	Conjugate	1 x 60 mL	1 x 350 mL
A	TMB Substrate N.12	1 x 60 mL	1 x 400 mL
B	Stop Solution N.3	1 x 60 mL	1 x 400 mL
C	Wash Concentrate (10X)	1 x 480 mL	3 X 480 mL
Other Components: Zip lock bag		1	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 2000 x g)
- Microplate shaker
- Incubator capable of maintaining a temperature of +37°C (±3°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 Material 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 Wash Solution

The Wash Concentrate (10X) should be brought to 18–26°C and mixed to ensure dissolution of any precipitated salts. The Wash Concentrate must be diluted 1 to 10 with distilled/deionized water before use (e.g., 30 mL of concentrate plus 270 mL of water per plate to be assayed). When prepared under sterile conditions, the wash solution can be stored for one week at 2–8°C.

Preparation of Samples

Fresh, refrigerated or previously frozen serum or plasma can be tested. Whole milk samples can be used after centrifugation for 15 minutes at 2000 xg or left to stay overnight if refrigerated (2–8°C). No pretreatment is needed for defatted milk.

Test Procedure

All reagents must be allowed to come to 18–26°C before use. Reagents should be mixed by gentle inverting and swirling.

Serum or Plasma Samples

-
- 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 Add 50 μ L of reconstituted Wash Solution to 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 the remaining wells.
-
- 6 Mix the content of the microwells by gently tapping the plate or use a microplate shaker.
-
- 7 Cover the wells and incubate for 2 hours (± 5 min.) at 37°C ($\pm 3^\circ$ C) or overnight (12–18 hours) at 2–8°C. With either option, plates should be hermetically sealed or covered and incubated in a humid chamber. Go to step 8 below.

Milk Samples

- 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 100 µL of Negative Control (NC) into duplicate wells.
 - 3** Dispense 100 µL of Positive Control (PC) into duplicate wells.
 - 4** Dispense 100 µL of defatted milk samples (from underneath the fat layer) into single or duplicate wells.
 - 5** Cover the plate and incubate overnight (12–18 hours) at 2–8°C. Plates should be hermetically sealed or covered and incubated in a humid chamber. Go to step 8 below.
-

Common procedure for serum, plasma, and milk samples

- 8** Remove the solution and wash each well with approximately 300 µL of Wash Solution 5 times. Avoid plate drying between plate washings and prior to the addition of the next reagent. Tap each plate onto absorbent material after the final wash to remove any residual wash fluid.
- 9** Dispense 100 µL of Conjugate into each well.
- 10** Incubate for 1 hour (±5 min.) at 18–26°C.
- 11** Repeat step 8.
- 12** Dispense 100 µL of TMB Substrate N.12 into each well.
- 13** Incubate for 10 minutes (±1 min.) at 18–26°C away from direct light.
- 14** Dispense 100 µL 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 Calculation:

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

$$NC\bar{x} \geq 0.500$$

$$PC\bar{x} \text{ Blocking \%} > 80$$

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

Samples

$$\text{Blocking \%} = 100 \times \frac{NC\bar{x} A(450) - \text{Sample } A(450)}{NC\bar{x} A(450)}$$

The presence or absence of antibody to IBR-gB is determined by the blocking percentage for each sample.

17 Interpretation:

Negative

Suspect

Positive

$$\text{Blocking \%} < 45$$

$$45 \leq \text{Blocking \%} < 55$$

$$\text{Blocking \%} \geq 55$$

Note: IDEXX has instrument and software systems available which calculate means and % values 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/contactlpd

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

© 2016 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved.

Kit de détection des anticorps anti-IBR gB dirigés contre le Virus de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (BHV1)

Réservé à l'usage vétérinaire.

Définition et application

IDEXX IBR gB X3 est un test immunoenzymatique pour la détection des anticorps anti-IBRgB dirigés contre le Virus de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (BHV1) à partir d'échantillons individuels de sérum, plasma ou de lait bovins.

Notes:

- le protocole sur échantillon de sérum est validé uniquement en incubation courte [2 heures (± 5 min.) à 37°C (+/- 3°C)] dans la cadre du programme de dépistage français.
- le protocole sur échantillon de lait n'est pas validé dans le cadre du programme de dépistage français.

Informations Générales

La Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (IBR) est une infection respiratoire sévère des bovins due à un herpesvirus, l'herpesvirus bovin BHV 1. Elle se caractérise par une trachéite, une rhinite et de l'hyperthermie. Le virus est également responsable de conjonctivites, de vulvovaginites pustuleuses infectieuses (IPV), de balano-posthites, d'avortements et, dans de rares cas, d'encéphalites. L'IBR se transmet horizontalement par l'intermédiaire des sécrétions respiratoires, oculaires ou sexuelles. L'IBR provoque également une immunosuppression, qui sensibilise les animaux infectés à des infections bactériennes secondaires. Les manifestations cliniques de la maladie ont des conséquences sur l'engraissement, la production laitière et les performances de reproduction. Il faut également souligner que l'infection primaire peut se transformer en infection latente, et que le virus qui persiste peut se propager ultérieurement dans le troupeau suite à une réactivation. Les pertes économiques liées à l'infection peuvent être importantes, et il est donc important de rechercher la présence de l'infection au sein des troupeaux.

Description et principe

IDEXX IBR gB X3 est un test immunoenzymatique pour la détection des anticorps dirigés contre l'IBR/IPV à partir d'échantillons individuels de sérum, plasma ou de lait bovins. De plus, les réponses immunitaires induites par des vaccins contenant la glycoprotéine B (gB) du BHV-1 sont détectés par ce test. Les échantillons sont distribués dans les puits de la microplaque sensibilisée avec l'antigène de l'IBR, et les anticorps anti-IBR gB, s'ils sont présents, vont se lier à l'antigène fixé sur la microplaque. Le matériel non lié est éliminé par lavage. Le conjugué, anticorps monoclonal spécifique de la glycoprotéine gB couplé à la peroxydase (anticorps-HRPO), est ensuite ajouté. Il ne pourra se lier à l'antigène BHV 1 si le déterminant antigénique qu'il reconnaît est déjà complexé avec les anticorps présents dans l'échantillon. Le conjugué HRPO non lié est éliminé par lavage. Une solution de substrat TMB est ensuite ajoutée. Le développement de coloration qui en résulte est dû à l'oxydation de la solution de substrat. La présence d'anticorps spécifiques de la glycoprotéine gB dans l'échantillon se traduit par une coloration peu marquée (résultat positif). Par contre, une couleur d'intensité maximale indique l'absence d'anticorps spécifiques dans l'échantillon (résultat négatif). La densité optique est mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques en monochromatisme à 450 nm ou en bichromatisme à 450/650 nm. Le pourcentage de compétition de chaque échantillon est calculé en fonction de la densité optique de l'échantillon et de la densité optique du contrôle négatif.

Réactifs**Volume**

1	Plaque sensibilisée avec des antigènes du BHV1	5	30
2	Contrôle positif	1 x 2,0 ml	1 x 6,5 ml
3	Contrôle négatif	1 x 2,0 ml	1 x 6,5 ml
4	Conjugué	1 x 60 ml	1 x 350 ml
A	Substrat TMB N°12	1 x 60 ml	1 x 400 ml
B	Solution d'arrêt N°3	1 x 60 ml	1 x 400 ml
C	Solution de lavage concentrée (10X)	1 x 480 ml	3 X 480 ml
Autres composants: sachet plastique hermétique réutilisable		1	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
- Couvercles pour microplaques, aluminium ou adhésifs et/ou chambre humide
- Centrifugeuse à 2000 x g
- Agitateur de microplaques
- Incubateur de plaques capable de maintenir une température de +37°C ($\pm 3^\circ\text{C}$)

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 de la Solution de lavage

Porter la Solution de lavage concentrée (10X) à 18–26°C et bien l'homogénéiser pour assurer la dissolution complète d'éventuels cristaux. Diluer la Solution de lavage concentrée au 1/10 dans de l'eau distillée ou désionisée avant utilisation (Ex: 30 ml de concentré + 270 ml d'eau distillée par plaque). Préparée dans des conditions stériles, la solution de lavage reconstituée est stable pendant une semaine à 2–8°C.

Préparation des échantillons

Des échantillons de sérum ou de plasma frais, réfrigérés ou préalablement congelés peuvent être utilisés. Les échantillons de lait entier peuvent être utilisés après centrifugation à 2000 xg pendant 15 minutes ou après les avoir laisser reposer pendant une nuit à 2–8°C. Aucune préparation n'est nécessaire pour les échantillons de lait écrémé.

Mode opératoire

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

Sérum/Plasma individuel

- 1 Réserver le nombre de plaque(s) sensibilisée(s) nécessaire(s) à la manipulation et établir le plan de distribution d'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 dessicant à 2–8°C.
- 2 Distribuer 50 µl de Solution de lavage 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 tapant doucement le côté de la plaque ou en utilisant un agitateur de plaque.
- 7 Couvrir la plaque et incubé 2 heures (± 5 min.) à 37°C (± 3 °C) ou une nuit (12 à 18 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. Continuer à l'étape 8.

Lait individuel

- 1 Réserver le nombre de plaque(s) sensibilisée(s) nécessaire(s) à la manipulation et établir le plan de distribution d'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 remplacer le reste de la plaque dans le sachet plastique fournis avec le dessiccant à 2–8°C.
- 2 Distribuer 100 µl de Contrôle négatif (CN) dans deux puits.
- 3 Distribuer 100 µl de Contrôle positif (CP) dans deux puits.
- 4 Distribuer 100 µl d'échantillon de lait écrémé (pipeté sous la couche de crème) dans un ou deux puits disponibles adjacents.
- 5 Couvrir la plaque et incuber une nuit (12 à 18 heures) à 2–8°C. Les plaques doivent être scellées hermétiquement ou couvertes et incubées en chambre humide pour éviter toute évaporation. Continuer à l'étape 8.

Mode opératoire commun à tous les échantillons (sérum, plasma et laits)

- 8 Eliminer le liquide contenu dans les puits de la microplaque et laver 5 fois chaque puits avec environ 300 µl de Solution de lavage. Eviter la dessiccation des puits de la microplaque entre les lavages et préalablement à la distribution du prochain réactif. Après le dernier lavage, vider le liquide résiduel contenu dans les puits par retournement et tapotement de la plaque sur du papier absorbant.
- 9 Distribuer 100 µl de Conjugué dans chaque puits.
- 10 Incuber 1 heure (±5 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 µl de Solution d'arrêt N°3 dans chaque puits.
- 15 Lire 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

$$CN\bar{x} \geq 0,500$$

$$\% \text{ d'inhibition } CP\bar{x} > 80$$

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

Échantillons

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 \times \frac{CN\bar{x}\ A(450) - \text{Échantillon}\ A(450)}{CN\bar{x}\ A(450)}$$

La présence ou l'absence d'anticorps anti-IBRgB pour un échantillon donné est déterminée par le calcul du pourcentage d'inhibition.

17 Interprétation:

Négatifs

$$\% \text{ d'inhibition} < 45$$

Douteux

$$45 \leq \% \text{ d'inhibition} < 55$$

Positifs

$$\% \text{ d'inhibition} \geq 55$$

Notes:

- IDEXX fournit équipements et logiciels pour le calcul des résultats et la synthèse des données.
- le protocole sur échantillon de sérum est validé uniquement en incubation courte [2 heures (± 5 min.) à 37°C (+/- 3°C)] dans la cadre du programme de dépistage français.
- le protocole sur échantillon de lait n'est pas validé dans le cadre du programme de dépistage français.

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/contactlpd

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.

© 2016 IDEXX Laboratories, Inc. Tous droits réservés.

Kit para detecção de anticorpos contra o vírus da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (BHV1)

Para uso exclusivamente veterinário.

Nome e Indicações

IDEXX IBR gB X3 é um ensaio imunoenzimático (ELISA) da IDEXX para detecção de anticorpos específicos contra BHV1, vírus da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), em soro, plasma ou leite bovino usando anticorpos monoclonais específicos contra IBR-gB.

Informações gerais

A Rinotraqueíte Infecciosa Bovina é uma doença infecciosa altamente contagiosa, causada pelo Herpesvírus Bovino 1 (BHV1). Além de causar doença respiratória, este vírus pode causar conjuntivite, vulvovaginite, abortos, encefalite e infecções sistêmicas generalizadas. Embora os sinais clínicos possam ser altamente sugestivos de IBR, não há sinais patognômicos específicos da doença. Portanto, é necessário realizar a confirmação laboratorial para identificar efetivamente a infecção por BHV1. A confirmação da exposição ao BHV1 por infecção natural é possível através da mensuração de anticorpos no soro ou no leite. Foi demonstrado que o (ELISA) para a detecção de anticorpos contra o BHV1 em bovinos está correlacionado com o teste de vírus neutralização (VN), embora possa ser mais sensível.

Descrição e Princípios

IDEXX IBR gB X3 é um ensaio imunoenzimático projetado para detectar a presença de anticorpos contra IBR/IPV no soro ou no leite bovino. Além disso, as respostas de anticorpos induzidas por vacinas que contêm a glicoproteína B (gB) do BHV1 são detectadas por este ELISA. O formato de microtitulação foi configurado para imobilizar os antígenos virais do IBR na placa. Depois da incubação de uma amostra de teste na cavidade impregnada, o anticorpo específico contra IBR forma um complexo com os antígenos virais imobilizados. Depois de lavar o material não-ligado das cavidades, adiciona-se o Conjugado de anticorpo monoclonal gB-específico com Peroxidase de Raiz Forte que não se ligará ao antígeno BHV1 quando o determinante antigênico, reconhecido pelo anticorpo monoclonal for anteriormente ocupado (bloqueado) pelos anticorpos da amostra teste. Em seguida, o Conjugado não ligado é lavado e é adicionada uma Solução Substrato-Cromógeno. Na presença da enzima, o Substrato converte-se em um produto que reage com o cromógeno, gerando cor azul. Com a adição da Solução de Interrupção, é gerada cor amarela. A absorbância a um comprimento único de onda de 450 nm [A(450)] ou comprimento duplo de onda de 450 nm e 620 nm [A(450/620)] é medida através de um espectrofotômetro. A porcentagem de bloqueio da amostra testada é calculada usando-se a absorbância [A(450)] ou [A(450/620)] obtida com a amostra teste e com o soro negativo, que não contém anticorpos específicos (soro Controle Negativo).

Reagentes**Volume**

1	Placa Impregnada com o BHV-1 Antígeno	5	30
2	Controle Positivo	1 x 2,0 ml	1 x 6,5 ml
3	Controle Negativo	1 x 2,0 ml	1 x 6,5 ml
4	Conjugado	1 x 60 ml	1 x 350 ml
A	Substrato TMB No.12	1 x 60 ml	1 x 400 ml
B	Solução de Interrupção No.3	1 x 60 ml	1 x 400 ml
C	Concentrado de Lavagem (10X)	1 x 480 ml	3 X 480 ml
Outros componentes: Embalagem zip		1	1

Nota: Ver a tabela no final do inserte para uma descrição dos símbolos utilizados no 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 monocanal e multicanal
- Ponteiras 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
- Centrífuga (capacidade de 2000 x g)
- Agitador de placas
- Incubadora capaz de manter uma temperatura de +37°C ($\pm$ 3°C)

Precauções e Advertências

- Manipular todos os materiais biológicos como potencialmente infectantes.
- Usar luvas de proteção / vestuário / proteção para olhos ou rosto ao manusear amostras e reagentes.
- Consultar a Ficha de Segurança do produto para informações adicionais.
- Ver no final do protocolo para os perigos e medidas de prevenção relacionados com os reagentes.

Práticas laboratoriais

- Resultados ótimos serão obtidos seguindo 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.

Preparação da Solução de Lavagem

Permitir que o Concentrado de Lavagem (10X) atinja a 18–26°C e homogeneizá-lo para garantir que possíveis sais precipitados se dissolvam. O concentrado deve ser diluído a 1/10 em água destilada/deionizada antes de ser empregada (por exemplo, 30 ml de concentrado mais 270 ml de água por placa a ser analisada). Quando preparada em condições estéreis, a Solução de Lavagem pode ser armazenada por uma semana entre 2–8°C.

Preparação dos Amostras

Podem ser analisados soro ou plasma frescos, refrigerados ou anteriormente congelados. Podem ser usadas amostras de leite integral depois de centrifugadas por 15 minutos a 2000 x ou depois de mantidas de um dia para o outro sob refrigeração (2–8°C). O leite desnatado não requer pré-tratamento.

Procedimento de Teste

Todos os reagentes devem ser mantidos a 18–26°C antes da utilização. Misturar reagentes invertendo suavemente ou realizando movimentos circulares.

Amostras de Soro/Plasma

- 1 Obter Placa(s) impregnada(s) de antígeno e registrar a posição da amostra. Se utilizar parcialmente as placas, remova apenas as cavidades suficientes para as amostras a serem testadas. Guarde as cavidades remanescentes com o dissecante no saco ziplock fornecido adicionalmente e armazene entre 2–8°C.
- 2 Dispensar 50 µl de Solução de Lavagem diluída 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 Homogeneizar o conteúdo das cavidades batendo levemente na placa ou com um agitador de placas.
- 7 Cobrir a placa e incubar por 2 horas (±5 min.) a 37°C (+/- 3°C) ou durante a noite (12–18 horas) entre 2–8°C. Em ambas opções, a placa(s) deve ser hermeticamente selada ou ser coberta e incubada em uma câmara úmida. Siga a partir do passo 8.

Amostras de leite

- 1 Obter Placa(s) impregnada(s) de antígeno e registrar a posição da amostra. Se utilizar parcialmente as placas, remova apenas as cavidades suficientes para as amostras a serem testadas. Guarde as cavidades remanescentes com o dissecante no saco ziplock fornecido adicionalmente e armazene entre 2–8°C.
 - 2 Dispensar 100 µl de Controle Negativo (CN) em duplicata.
 - 3 Dispensar 100 µl de Controle Positivo (CP) em duplicata.
 - 4 Dispensar 100 µl de amostra de leite desnatado (pipetar abaixo da camada de gordura) nas cavidades individuais ou duplicatas do restante da placa.
 - 5 Cobrir a placa e incubar durante a noite (12–18 horas) entre 2–8°C. As placas devem ser hermeticamente selada ou ser coberta e incubada em uma câmara úmida. Siga a partir do passo 8.
-

Procedimentos Comuns para Amostras de Soro, Plasma ou Leite

- 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 do Conjugado em cada cavidade.
- 10 Incubar por 1 hora (± 5 min.) a 18–26°C.
- 11 Repetir o passo 8.
- 12 Dispensar 100 µl de Substrato TMB No.12 em cada cavidade.
- 13 Incubar por 10 minutos (± 1 min.) a 18–26°C longe da luz direta.
- 14 Dispensar 100 µl de Solução de Interrupção No.3 em cada cavidade.
- 15 Medir e registrar a absorbância das amostras e controles a 450 nm ou, usando comprimento duplo de onda, a 450 nm e 650 nm.

16 Cálculos:

Controles

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

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

Crítérios de Validade

$$CN\bar{x} \geq 0,500$$

$$CP\bar{x} \% \text{ bloqueio} > 80$$

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

Amostras

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

A presença ou a ausência de anticorpos contra IBR-gB é determinada pela percentagem de bloqueio de cada amostra.

17 Interpretação:

Negativas

Suspeitas

Positivas

$$\% \text{ bloqueio} < 45$$

$$45 \leq \% \text{ bloqueio} < 55$$

$$\% \text{ bloqueio} \geq 55$$

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

PRODUTO IMPORTADO. USO VETERINÁRIO.

Licenciado no MAPA sob nº 9.390/2008.

REPRESENTANTE EXCLUSIVO NO BRASIL

IDEXX BRASIL LABORATÓRIOS LTDA. Cotia-SP

R. Santa Clara, nº236, Parque Ind. San José

CEP: 06715-867, CNPJ: 00.377.455/0001-20

Resp.Tec.: Andrea L.C.Frezza CRMV-SP: 30.632

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.

© 2016 IDEXX Laboratories, Inc. Todos os direitos reservados.

Kit para la detección de Anticuerpos frente al Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (BHV1)

Para uso veterinario exclusivo.

Nombre y uso propuesto

IDEXX IBR gB X3 es un ensayo inmunoenzimático de IDEXX para la detección de anticuerpos específicos de BHV1 de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en suero, plasma o leche usando anticuerpos monoclonales específicos anti IBR-gB.

Información general

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina es una enfermedad altamente contagiosa causada por el Herpes Virus Bovino Tipo 1 (BHV1). Además de causar trastornos respiratorios, este virus puede originar conjuntivitis, vulvovaginitis, abortos, encefalitis e infecciones sistémicas generalizadas. Aunque los hallazgos clínicos pueden ser altamente indicadores de IBR, no hay signos patognomónicos limitados a IBR. Por tanto, se precisa confirmación de laboratorio para identificar definitivamente una infección de BHV1. La exposición a BHV1 a través de infección natural se confirma mediante una medición de anticuerpos en suero o leche. El test de hemoaglutinación y técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbant Assay) para la detección de anticuerpos frente al BHV1 en el ganado ha demostrado que tiene correlación con la prueba de neutralización del virus (VN), aún cuando puede ser más sensible.

Descripción y principios

IDEXX IBR gB X3 es un ensayo inmunoenzimático para detectar la presencia de anticuerpos frente a IBR/IPV en suero o leche bovinos. Esta técnica inmunoenzimática ELISA detecta también las respuestas de anticuerpos inducidas por vacunas, las cuales contienen la glicoproteína B (gB) de BHV1. La prueba es un ELISA de bloqueo con placas de microtitulación tapizadas con antígenos virales de IBR. Tras incubación de la muestra a analizar en el pocillo tapizado con antígenos, el anticuerpo específico de IBR forma un complejo con los antígenos virales inmovilizados. Después de eliminar mediante lavado los materiales no unidos, se añade el conjugado de anticuerpos monoclonales específico gB, que no se unirá al antígeno de BHV1 cuando el determinante antigénico haya sido bloqueado anteriormente por anticuerpos de la muestra a analizar. Después se lava la placa para eliminar el conjugado no unido, 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 porcentaje de bloqueo de las muestras se calcula usando la absorbancia [A(450)] o [A(450/650)] obtenida con la muestra analizada y un suero negativo que contiene anticuerpos no específicos (suero de control negativo).

Reagentes**Volume**

1	Placa tapizada con Antígeno BHV-1	5	30
2	Control Positivo	1 x 2,0 ml	1 x 6,5 ml
3	Control Negativo	1 x 2,0 ml	1 x 6,5 ml
4	Conjugado	1 x 60 ml	1 x 350 ml
A	Substrato TMB n.º12	1 x 60 ml	1 x 400 ml
B	Solución de Frenado n.º3	1 x 60 ml	1 x 400 ml
C	Solución de Lavado Concentrada (10X)	1 x 480 ml	3 X 480 ml
Otros componentes: Bolsa de plástico de cierre hermético reutilizable		1	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) y/o cámara húmeda
- Centrífuga (2000 x g)
- Agitador de placas
- 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 Materiales 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 Solución de Lavado

La Solución de Lavado Concentrada (10X) debe estar a 18–26°C y debe agitarse para asegurar la disolución de posibles sales precipitadas. Esta solución deberá diluirse a 1/10 con agua destilada/ desionizada antes de emplearla (por ej., 30 ml de concentrado más 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.

Preparación de las Muestras

Puede analizarse suero o plasma fresco, refrigerado o congelado anteriormente. Pueden usarse muestras de leche entera una vez centrifugadas durante 15 minutos a 2000 x g o después de dejarse refrigeradas una noche (2–8°C). La leche descremada no necesita pretratamiento. Asegurarse de cambiar las puntas para cada muestra y de anotar la posición de cada muestra en la placa usando una hoja de trabajo.

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.

Muestras de suero/plasma

- 1 Obtener la Placa (o placas) tapizada(s) con antígeno y anotar 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 Lavado reconstituida en cada pocillo.
- 3 Dispensar 50 µl de Control Negativo (CN) en dos pocillos.
- 4 Dispensar 50 µl de Control Positivo (CP) en dos pocillos.
- 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 de microtitulación.
- 7 Incubar durante 2 horas (±5 min.) a +37°C (± 3°C) o toda la noche (12–18 horas) a 2–8°C. En cualquier opción de incubación, las placas deben de estar selladas firmemente o deben cubrirse e incubarse en una cámara húmeda. Continuar con el paso 8.

Muestras de leche

- 1 Obtener la Placa (o placas) tapizada(s) con antígeno y anotar 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 100 µl de Control Negativo (CN) en dos pocillos.
- 3 Dispensar 100 µl de Control Positivo (CP) en dos pocillos.
- 4 Dispensar 100 µl de muestras de leche descremada (de debajo de la capa de nata) en pocillos individuales o duplicados del resto de la placa.
- 5 Incube durante la noche (12–18 horas) a 2–8°C. Las placas deben de estar selladas herméticamente o deben cubrirse e incubarse en una cámara húmeda. Continuar con el paso 8.

Procedimiento común para las muestras de suero, plasma y leche

- 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 durante 1 hora (±5 min.) a 18–26°C.
- 11

Repetir el paso 8.
- 12

Dispensar 100 µl de Substrato TMB n.º12 en cada pocillo.
- 13

Incubar 10 minutos (±1 min.) a 18–26°C en la oscuridad.
- 14

Dispensar 100 µl de Solución de Frenado n.º3 en cada pocillo.
- 15

Medir y anotar la absorbancia de las muestras y controles a 450 nm o usando doble longitud de onda a 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

$$CN\bar{x} \geq 0,500$$

$$CP\bar{x}\ \% \text{ Bloqueo} > 80$$

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

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

La presencia o ausencia de anticuerpos frente a IBR-gB en la muestra se determina mediante el porcentaje de Bloqueo de cada muestra.

17 Interpretación:

Negativo	Dudoso	Positivo
% Bloqueo < 45	$45 \leq \% \text{ Bloqueo} < 55$	% Bloqueo ≥ 55

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

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/contactIpd

N.º de registro: 0688-RD

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

© 2016 IDEXX Laboratories, Inc. Todos los derechos reservados.

Testkit zum Nachweis von gB-Antikörpern gegen das Virus der Infektiösen Bovinen Rhinotracheitis (BHV-1)

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

Name und Verwendungszweck

IDEXX IBR gB X3 ist ein Enzymimmunoassay zum Nachweis von spezifischen Antikörpern gegen das Virus der Infektiösen Bovinen Rhinotracheitis (BHV-1) in Einzel- Serum-, Plasma- und Milchproben von Rindern.

Allgemeine Informationen

Die Infektiöse Bovine Rhinotracheitis (IBR) ist eine durch das Bovine Herpesvirus 1 (BHV1) hervorgerufene Atemwegserkrankung beim Rind, die durch Tracheitis, Rhinitis und Fieber gekennzeichnet ist. Weiterhin kann eine IBR-Infektion mit Konjunktivitis, Infektiöser Pustulärer Vulvovaginitis (IPV), Balanoposthitis, Spontanaborten und in seltenen Fällen mit einer Enzephalitis einhergehen. IBR wird horizontal durch Kontakt mit Atemwegs-, Augen- und Reproduktionssekreten übertragen. Darüber hinaus hat IBR eine immunsuppressive Wirkung, so dass die Tiere für bakterielle Sekundärinfektionen anfällig werden. Die klinische Manifestation der Erkrankung äußert sich durch eine Verminderung der Futterverwertung, der Milcherträge und der Reproduktionsleistung. Ein weiterer Aspekt ist der Übergang von einer primär manifesten Infektion zum latenten Status, wobei es durch die Reaktivierung des Virus zu einer weiteren Verbreitung kommen kann. Die wirtschaftlichen Einbußen können aus diesen Gründen beträchtlich sein, so dass Rinderherden regelmäßig auf IBR getestet werden sollten.

Beschreibung des Testprinzips

Der IDEXX IBR gB X3 dient dem Nachweis von BHV1-spezifischen Antikörpern in Serum-, Plasma- oder Milchproben von Rindern, die mit dem Virus der Infektiösen Bovinen Rhinotracheitis (IBR) oder der Infektiösen Pustulären Vulvovaginitis (IPV) infiziert sind oder mit Impfstoffen behandelt worden sind, die das Glycoprotein B (gB) enthalten. Der Test weist, insbesondere in Serumproben, selbst sehr geringe Antikörperspiegel nach. Der IDEXX IBR gB X3 ist ein kompetitiver ELISA. Die Vertiefungen der Mikrotiterplatten sind mit BHV1-Antigen beschichtet, welches Antikörper aus der Probe (verdünntes Serum/ Plasma oder entrahmte Milch), die gegen gB gerichtet sind, bindet. Ungebundenes Material wird durch einen Waschschrift ausgespült. Anschließend wird ein gB-spezifisches Antikörper-Meerrettichperoxidase (Antikörper:HRPO) - Konjugat zugegeben. Sind gB-spezifische Antikörper in der Probe vorhanden, so verhindern diese die Bindung des Konjugats und nach Zugabe des Substrates bleibt eine Farbentwicklung aus oder ist reduziert (positives Ergebnis). Findet eine sehr starke Farbentwicklung statt, so enthält die Probe keine spezifischen Antikörper (negatives Ergebnis). Die optische Dichte wird mit einem Photometer bei einer einzigen Wellenlänge von 450 nm oder einer dualen Wellenlänge von 450 nm und 650 nm gemessen. Die prozentuale Hemmung durch die Probe wird auf der Grundlage der optischen Dichte der Probe (OD450) und eines negativen Kontrollserums errechnet.

Reagenzien

Menge

1	Mit BHV-1 Antigen beschichtete Testplatte (inaktiviert)	5	30
2	Positive Kontrolle	1 x 2,0 ml	1 x 6,5 ml
3	Negative Kontrolle	1 x 2,0 ml	1 x 6,5 ml
4	Konjugat	1 x 60 ml	1 x 350 ml
A	TMB-Substrat Nr.12	1 x 60 ml	1 x 400 ml
B	Stopplösung Nr.3	1 x 60 ml	1 x 400 ml
C	Waschkonzentrat (10X)	1 x 480 ml	3 X 480 ml
Sonstige Komponenten: Wiederverwendbarer Druckverschlussbeutel		1	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 2000 x g
- Mikrotiterplatten-Schüttler
- Inkubator für eine konstante Temperatur von +37°C ($\pm 3^\circ\text{C}$)

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.
- Hinweise zur Reagenziensicherheit und Vorsichtsmaßnahmen befinden sich am Ende der Gebrauchsinformation.

Laborpraktiken

- Bei strikter Einhaltung dieser Anweisungen werden optimale Ergebnisse erzielt. Sorgfältiges Pipettieren und Waschen und eine genaue Zeiteinteilung während der Testdurchführung sind notwendig, um die Genauigkeit der Werte zu gewährleisten. 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 Waschlösung

Das Waschkonzentrat (10X) auf 18–26°C bringen und möglicherweise ausgefallene Salze durch Schütteln der Flasche auflösen. Das Waschkonzentrat (10X) vor der Verwendung 1:10 mit destilliertem/demineralisiertem Wasser (z. B. 30 ml Konzentrat plus 270 ml Wasser für jede zu testende Platte) verdünnen. Wenn die Waschlösung unter sterilen Bedingungen hergestellt wird, kann sie eine Woche bei 2–8°C aufbewahrt werden.

Vorbereitung der Proben

Für den Test eignen sich Serum- oder Plasmaproben, die frisch bzw. nach gekühlter oder tiefgekühlter Lagerung analysiert werden können. Milchproben müssen vor dem Test 15 Minuten bei 2000 xg zentrifugiert werden. Wahlweise können Milchproben auch bei 2–8°C oder bei Raumtemperatur über Nacht stehengelassen werden, um die Rahmschicht abzutrennen. Entrahmte Milch kann unverdünnt analysiert werden. Zu Bestätigungszwecken empfiehlt es sich, alle Proben doppelt zu testen. Bei jeder Probe eine neue Pipettenspitze verwenden.

Testanweisung

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

Serum/Plasma

- 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 Waschlösung in jede benötigte 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 der Probe in die entsprechenden Vertiefungen geben.
- 6 Den Inhalt der Vertiefungen durch vorsichtiges Klopfen an der Seite der Platte oder mit Hilfe eines Plattenschüttlers mischen.
- 7 Platte(n) sorgfältig abdecken und 2 Stunden (±5 Min.) bei 37°C oder über Nacht (12–18 Stunden) bei 2–8°C inkubieren. In jedem Fall sollten die Testplatten entweder hermetisch verschlossen oder abgedeckt in einer feuchten Kammer inkubiert werden. Weiter mit Schritt 8.

Milch

- 1 Die mit Antigen beschichtete(n) Platte(n) hernehmen und die Position der Proben auf einem Arbeitsblatt notieren. Nichtverwendete Teststreifen sollten bei 2–8°C im verschlossenen Plastikbeutel gelagert werden.
- 2 100 µl negative Kontrolle (NK) in jeweils zwei Vertiefungen geben.
- 3 100 µl positive Kontrolle (PK) in jeweils zwei Vertiefungen geben.
- 4 100 µl entrahmte Milchprobe (Probe unter der Rahmschicht entnehmen) in eine oder zwei entsprechende Vertiefungen geben. Für jede Probe eine neue Pipettenspitze verwenden.
- 5 Platte(n) sorgfältig abdecken und über Nacht (12–18 Stunden) bei 2–8° C inkubieren. Die Testplatten sollten entweder hermetisch verschlossen oder abgedeckt in einer feuchten Kammer inkubiert werden. Weiter mit Schritt 8.

Allgemeines Protokoll für Serum-, Plasma- und Milchproben

- 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 Waschschritten und der Zugabe des nächsten Reagens 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 1 Stunde (± 5 Min.) bei 18–26°C inkubieren.
- 11 Schritt 8 wiederholen.
- 12 100 µl TMB-Substrat Nr.12 in jede Vertiefung geben.
- 13 Die Platte(n) 10 Minuten (± 1 Min.) bei 18–26°C vor direkter Lichteinwirkung 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

$$NK\bar{x} \geq 0,500$$

$$PK\bar{x} \% \text{ Hemmung} > 80\%$$

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

Proben

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

Das Vorhandensein oder Fehlen von Antikörpern gegen IBR-gB wird festgestellt, indem man zunächst den Hemmwert (%) für jede Probe berechnet.

17 Interpretation:

Negativ

Fraglich

Positiv

$$\text{Hemmung \%} < 45$$

$$45 \leq \text{Hemmung \%} < 55$$

$$\text{Hemmung \%} \geq 55$$

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.: BGVV-B 231

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.

© 2016 IDEXX Laboratories, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

WARNING / ATTENTION / ATENCIÓN / ATENÇÃO / ACHTUNG



H316 / P332+P313 / EUH208

Conjugate / Positive control / Negative Control — Causes mild skin irritation. If skin irritation occurs: Get medical advice/attention. Contains Proclin. May produce an allergic reaction.

Conjugué / Contrôle positif / Contrôle négatif — Provoque une légère irritation cutanée. En cas d'irritation cutanée: consulter un médecin. Contient Proclin. Peut produire une réaction allergique.

Conjugado / Controle Positivo / Controle Negativo — Causa uma irritação suave da pele. Em caso de irritação cutânea: consulte um médico. Contém Proclin. Pode provocar uma reação alérgica.

Conjugado / Control Positivo / Control Negativo — Provoca una leve irritación cutánea. En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico. Contiene Proclin. Puede provocar una reacción alérgica.

Konjugat / Positive Kontrolle / Negative Kontrolle — Verursacht milde Hautreizungen. Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Enthält Proclin. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.

H315 / H319 / P280 / P332+P313 / P337+P313

TMB Substrate — Causes skin irritation. Causes serious eye irritation. Wear protective gloves / eye protection / face protection. If skin irritation occurs: Get medical advice / attention. If eye irritation persists: Get medical advice / attention.

Substrat TMB — Provoque une irritation cutanée. Provoque une sévère irritation des yeux. Porter des gants de protection / un équipement de protection des yeux / du visage. En cas d'irritation cutanée: consulter un médecin. Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin.

Substrato TMB — Provoca irritação cutânea. Provoca irritação ocular grave. Usar luvas de proteção/proteção ocular / proteção facial. Em caso de irritação cutânea: consulte um médico. Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

Substrato TMB — Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave. Llevar guantes / gafas / máscara de protección. En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico. Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

TMB-Substrat — Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizung. Schutzhandschuhe / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen. Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.

Stop solution — Harmful if swallowed. Causes skin irritation. May cause an allergic skin reaction. Causes serious eye irritation. May cause respiratory irritation. Wear protective gloves / eye protection / face protection. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice / attention. If eye irritation persists: Get medical advice / attention. Wash contaminated clothing before reuse.

Solution d'arrêt — Nocif en cas d'ingestion. Provoque une irritation cutanée. Peut provoquer une allergie cutanée. Provoque une sévère irritation des yeux. Peut irriter les voies respiratoires. Porter des gants de protection / un équipement de protection des yeux / du visage. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin. Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin. Laver les vêtements contaminés avant réutilisation.

Solução de Interrupção — Nocivo por ingestão. Provoca irritação cutânea. Pode provocar uma reação alérgica cutânea. Provoca irritação ocular grave. Pode provocar irritação das vias respiratórias. Usar luvas de proteção / proteção ocular / proteção facial. Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. Caso a irritação ocular persista: consulte um médico. Lavar a roupa contaminada antes de voltar a usar.

Solución de Frenado — Nocivo en caso de ingestión. Provoca irritación cutánea. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Provoca irritación ocular grave. Puede irritar las vías respiratorias. Llevar guantes / gafas / máscara de protección. En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico. Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas.

Stopplösung — Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. Verursacht Hautreizungen. Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Verursacht schwere Augenreizung. Kann die Atemwege reizen. Schutzhandschuhe / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.

EUH208

Wash concentrate — Contains Proclin. May produce an allergic reaction.

Solution de lavage concentrée — Contient Proclin. Peut produire une réaction allergique.

Concentrado de Lavagem — Contém Proclin. Pode provocar uma reação alérgica.

Solución de Lavado Concentrada — Contiene Proclin. Puede provocar una reacción alérgica.

Waschkonzentrat — Enthält Proclin. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.

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

	Batch Code (Lot) / Numéro de lot / Código de lote (Lote) Número de Partida (Lote) / Chargenbezeichnungen (Ch.-B.) / Codice del lotto (partita)
	Serial Number / Numéro de série / Número de série Número de serie / Seriennummer / Numero di serie
	Catalog Number / Numéro de catalogue / Número de catálogo Número de catálogo / Katalognummer / Numero di catalogo
	In vitro diagnostic / Diagnostic in vitro / Diagnóstico in-vitro Diagnóstico in-vitro / In-vitro-Diagnostikum / Diagnostico in vitro
	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 Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Positive Control / Contrôle positif / Controle Positivo Control Positivo / Positive Kontrolle / Controllo Positivo
	Negative Control / Contrôle négatif / Controle Negativo Control Negativo / Negative Kontrolle / Controllo Negativo
	Use by date / À utiliser avant la date / Data de Vencimento Usar antes de / Verwendbar bis / Usare entro
	Date of manufacture / Date de fabrication / Data de Fabricação Fecha de fabricación / Herstellungsdatum / Data di produzione
	Manufacturer / Fabricant / Fabricante Fabricante/ Hersteller / Ditta produttrice
	Temperature limitation / Limite de température Limite de temperatura / Límite de temperatura Zulässiger Temperaturbereich / Limite di temperatura
	Consult instructions for use / Consulter la notice d'utilisation Consulte instruções para o uso / Consultar las instrucciones de uso Gebrauchsinformation beachten / Consultare le istruzioni per l'uso
	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 Modifica importante nell'inserto tecnico

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

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

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

idexx.com

IDEXX