



**Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) Antibody Test Kit**

**Kit de détection des anticorps dirigés contre le Virus de la Diarrhée Virale Bovine (BVDV)**

**Kit para detecção de Anticorpos contra o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV)**

**Kit para la detección de Anticuerpos frente al Virus de la Diarrea Vírica Bovina (BVDV)**

**Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Bovinen Virus Diarrhoe (BVDV)**

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

IDEXX **BVDV Total Ab**

06-44000-07

Test With Confidence™

**IDEXX**



## Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) Antibody Test Kit

For veterinary use only.

### Name and Intended Use

IDEXX BVDV Total Ab is IDEXX's enzyme immunoassay for the detection of BVDV antibodies in individual serum, plasma and milk samples and in bulk milk samples from bovines.

### General Information

Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV), Border Disease Virus (BDV) and Hog Cholera Virus (Classical Swine Fever Virus, CSFV) are the 3 member viruses of the genus Pestivirus within the family Flaviviridae. BVDV is one of the most important pathogenic viruses in cattle, causing considerable losses in the dairy and beef industries worldwide. The typical symptoms of the BVDV infection are diarrhoea, fever, followed by reduction in the milk production. The immune suppressive effect of BVDV may potentiate infection by other micro-organisms. The virus crosses the placenta in infected, pregnant cows causing reproductive losses due to abortions, still-born calves or calves that die early in life. Some calves that survive are immunotolerant to the virus and these animals excrete large amounts of infectious virus for their entire lives. It is important to identify these 'carrier' animals to break the cycle of infections in herds. The carrier animals often die of 'mucosal disease' in the first 2 years of life. As a consequence of the in-utero infection, BVDV is a frequent contaminant of biological products, such as vaccines and pharmaceuticals. BDV causes similar disease syndromes in sheep, while CSFV causes serious losses in the pig industry since it is highly pathogenic and can cause widespread deaths. However, all pestiviruses may occur in cattle as well.

### Descriptions and Principles

IDEXX BVDV Total Ab is an indirect enzyme immunoassay designed to detect BVDV antibodies (Ab) in serum, plasma and milk samples from bovines. A microtitration format has been configured by immobilizing BVDV antigen on the plates. BVDV antibodies of the sample are bound to the antigen on the plates. After incubation of the test sample in the well, captured BVDV antibodies are detected by anti-bovine horseradish peroxidase conjugate. Next, unbound conjugate is washed away and a substrate/chromogen solution is added. In the presence of enzyme, Substrate is converted into a product which reacts with the chromogen to generate a blue color. Upon addition of stop solution, a yellow color is generated. The absorbance is measured using a spectrophotometer. The sample to positive ratio is calculated by using the absorbance obtained with the test sample and a positive control, corrected for the absorbance of the negative control. Color development indicates the presence of BVDV antibodies in the test sample (positive result).

Reagents		Volume
1	BVDV Antigen Coated Plate	5
2	Positive Control	1 x 1.0 mL
3	Negative Control	1 x 1.0 mL
4	Conjugate	1 x 60 mL
5	Sample Diluent	1 x 60 mL
A	TMB Substrate N.12	1 x 60 mL
B	Stop Solution N.3	1 x 60 mL
C	Wash Concentrate (10X)	1 x 480 mL
<b>Other Components:</b> Zip lock bag		1

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

## Storage

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

## Materials Required but Not Provided

- Precision micropipettes or multi-dispensing micropipettes
- Disposable pipette tips
- Graduated cylinder for wash solution
- 96-well microplate reader (equipped with 450 nm filter or 450 and 650 nm filters)
- Microplate washer (manual, semi-automatic or automatic system)
- Use only distilled or deionized water for preparation of the reagents used in the test
- Microplate covers (lid, aluminium foil or adhesive)
- Centrifuge (capacity 2000 x g)
- Vortex or equivalent
- Microplate shaker

## 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 or frozen serum, plasma or milk can be tested. Whole-milk samples may be used after centrifugation for 15 minutes at 2000 x g or left to stay overnight if refrigerated (2–8°C). No pre-treatment 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 or 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 100  $\mu$ L of the Sample Diluent to each well.

---

- 3 Add 25  $\mu$ L Negative Control (NC) into duplicate wells.

---

- 4 Add 25  $\mu$ L Positive Control (PC) into duplicate wells.

---

- 5 Add 25  $\mu$ L samples into remaining wells. Continue at Step 6.

### 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 Add 100  $\mu$ L of the Sample Diluent only into the wells for Negative Control and for Positive Control.

---

- 3 Add 25  $\mu$ L Negative Control (NC) into duplicate wells.

---

- 4 Add 25  $\mu$ L Positive Control (PC) into duplicate wells.

---

- 5 Dispense 100  $\mu$ L UNDILUTED milk samples (from underneath the fat layer) into remaining wells of the plate. Continue at Step 6.

### Common procedure for serum, plasma, and milk samples

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

---

- 7 Incubate for 90 minutes ( $\pm$  5 min.) at 18–26°C or overnight (12–18 hours) at 2–8°C. The overnight protocol is recommended for bulk milk samples. With either option, plates should be hermetically sealed or covered and incubated in a humid chamber.

---

- 8 Remove the solution and wash each well with approximately 300  $\mu$ L of Wash Solution 5 times. Avoid plate drying between plate washings and prior to the addition of the next reagent. Tap each plate onto absorbent material after the final wash to remove any residual wash fluid.

---

- 9 Dispense 100  $\mu$ L of Conjugate into each well.

10 Incubate for 30 minutes ( $\pm$  2 min.) at 18–26°C.

---

11 Repeat step 8.

---

12 Dispense 100  $\mu$ L of TMB Substrate N.12 solution into each well.

---

13 Incubate 10 minutes ( $\pm$  1 min.) at 18–26°C.

---

14 Dispense 100  $\mu$ L of Stop Solution N.3 into each well.

---

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

---

16 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**

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

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

---

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

---

**Samples**

$$S/P = \frac{\text{Sample A}(450) - NC\bar{x}}{PC\bar{x} - NC\bar{x}}$$

The presence or absence of BVDV antibodies in the sample is determined by S/P ratio for each sample.

---

17 Interpretation:

**Serum, Plasma or Individual Milk samples**

Negative	Suspect	Positive
$S/P < 0.20$	$0.20 \leq S/P < 0.30$	$S/P \geq 0.30$

---

**Bulk Milk samples**

Negative	Positive
$S/P < 0.20$	$S/P \geq 0.20$

---

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

**For technical assistance:**

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

IDEXX Europe Tel: +800 727 43399

Contact your IDEXX area manager or distributor or visit our website: [idexx.com/contactlpd](http://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 dirigés contre le Virus de la Diarrhée Virale Bovine (BVDV)

Réservé à l'usage vétérinaire.

### Définition et application

IDEXX BVDV Total Ab est un kit IDEXX de détection immunoenzymatique des anticorps du virus de la Diarrhée Virale Bovine (BVDV) à partir d'échantillons individuels de sérum, plasma et lait et d'échantillons de lait de tank bovins.

### Informations Générales

Le virus de la Diarrhée Virale Bovine/ Maladie des Muqueuses (BVDV/MD), le virus de la Pestivirose (BDV) et le virus de la Peste Porcine Classique (CSFV) appartiennent au genre Pestivirus, famille des Flaviviridae. Le BVDV est un des virus les plus pathogènes de l'espèce bovine, et entraîne des pertes considérables pour les élevages de bovins laitiers et allaitants à travers le monde. Les signes cliniques associés à l'infection BVDV sont la diarrhée, la fièvre accompagnés d'une diminution de la production laitière et d'une immunosuppression. Le virus peut traverser la barrière placentaire chez les vaches portantes infectées et entraîner une baisse des performances de reproduction qui se traduit par des avortements, des veaux mort-nés ou des veaux qui meurent précocement. Parmi les veaux qui survivent, certains sont immunotolérants, et excrètent alors de grandes quantités de virus infectieux durant le rest de leur vie. Il est important d'identifier ces animaux «porteurs» pour rompre le cycle infectieux au sein des troupeaux. Ces animaux porteurs succombent souvent de la "Maladie des Muqueuses" au cours des deux premières années de leur vie. En raison de l'infection in utero, le virus BVDV est un contaminant fréquent des produits biologiques, comme les vaccins et les médicaments. Le virus de la Border Disease (BDV) est responsable d'une maladie similaire dans l'espèce bovine, tandis que le virus de la Peste Porcine Classique (CSFV) engendre des pertes économiques importantes dans l'industrie porcine avec un taux de mortalité élevé. Toutefois, on rencontre tous les pestivirus dans l'espèce bovine.

### Description et principe

Le kit IDEXX BVDV Total Ab est un ELISA indirect qui permet la détection des anticorps anti-BVDV à partir d'échantillons individuels de sérum, plasma et lait et d'échantillons de lait de tank bovins. Les microplaques sont sensibilisées avec des antigènes du virus BVDV. Après incubation de l'échantillon à tester dans la plaque sensibilisée les anticorps BVDV capturés, s'ils sont présents, sont mis en évidence à l'aide d'un conjugué anti-bovin couplé à la Peroxydase (HRPO). Après élimination du conjugué non-lié et lavage, on ajoute la solution de substrat/chromogène. En présence d'enzyme, la solution de substrat/chromogène est oxydée et développe une coloration bleue. L'adjonction de la solution d'arrêt entraîne un virage au jaune de la coloration. Les densités optiques sont mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre. La valeur du ratio E/P de chaque échantillon est calculée à partir des valeurs de densité optique (DO) corrigées respectives de l'échantillon à tester et du contrôle positif. La coloration obtenue est proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-BVDV contenu dans l'échantillon à tester.

<b>Réactifs</b>		<b>Volume</b>
1	Plaque sensibilisée avec des antigènes du BVDV	5
2	Contrôle positif	1 x 1,0 ml
3	Contrôle négatif	1 x 1,0 ml
4	Conjugué	1 x 60 ml
5	Diluant des échantillons	1 x 60 ml
A	Substrat TMB N°12	1 x 60 ml
B	Solution d'arrêt N°3	1 x 60 ml
C	Solution de lavage concentrée (10X)	1 x 480 ml
<b>Autres composants:</b> sachet plastique hermétique réutilisable		1

**Remarque:** 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 d'un filtre à 450 nm ou 450 nm et 650 nm)
- Système de lavage manuel, semi-automatique ou automatique
- Utiliser de l'eau distillée ou désionisée pour la préparation des réactifs
- Couvercles pour microplaques, aluminium ou adhésifs
- Centrifugeuse à 2000 x g
- Vortex ou équivalent
- Agitateur de microplaques

## Précautions d'emploi et mises en garde

- Manipuler tous les réactifs et les échantillons comme une source potentielle de contamination.
- 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 homogénéiser pour assurer la dissolution complète d'éventuels cristaux. La Solution de lavage concentrée (10X) est à diluer au 1/10 dans de l'eau distillée ou désionisée. (Exemple: 30 ml de solution de lavage concentrée (10X) + 270 ml d'eau par microplaque). La Solution de lavage reconstituée, lorsqu'elle est préparée de façon stérile, peut être conservée pendant une semaine à 2–8°C.

## Préparation des échantillons

Les échantillons de sérum, de plasma, de lait frais ou congelés peuvent être utilisés. Les échantillons de lait entier peuvent être testés soit après une centrifugation de 15 minutes à 2000 x g, soit au terme d'une décantation d'une nuit au réfrigérateur (2–8°C). Les échantillons de lait écrémé ne nécessitent aucun traitement préalable.

## Mode opératoire

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

### Échantillons de sérum et de plasma

- 1 Réserver le nombre de plaque(s) sensibilisée(s) nécessaire(s) à la manipulation et établir le plan de distribution des échantillons sur la microplaque. En cas d'utilisation d'une portion de plaque seulement, retirer le nombre de barrettes requises pour les échantillons à tester et replacer le reste de la plaque dans le sachet plastique fournis avec le dessiccant à 2–8°C.
- 2 Distribuer dans chaque puits de la microplaque sensibilisée 100  $\mu$ l de Diluant des échantillons.
- 3 Distribuer dans deux puits appropriés 25  $\mu$ l de Contrôle négatif (CN).
- 4 Distribuer dans deux puits appropriés 25  $\mu$ l de Contrôle positif (CP).
- 5 Distribuer 25  $\mu$ l d'échantillon dans les puits disponibles adjacents. Poursuivre à l'étape 6.

### Échantillons de lait

- 1 Réserver le nombre de plaque(s) sensibilisée(s) nécessaire(s) à la manipulation et établir le plan de distribution des échantillons sur la microplaque. En cas d'utilisation d'une portion de plaque seulement, retirer le nombre de barrettes requises pour les échantillons à tester et replacer le reste de la plaque dans le sachet plastique fournis avec le dessiccant à 2–8°C.
- 2 Distribuer 100  $\mu$ l de Diluant des échantillons uniquement dans les puits réservés aux Contrôles positif et négatif.
- 3 Distribuer dans deux puits appropriés 25  $\mu$ l de Contrôle négatif (CN).
- 4 Distribuer dans deux puits appropriés 25  $\mu$ l de Contrôle positif (CP).
- 5 Distribuer 100  $\mu$ l de lait NON DILUÉ (prélevé en-dessous de la couche de crème) dans les puits disponibles adjacents. Poursuivre à l'étape 6.

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

- 6 Bien homogénéiser le contenu de la plaque en tappant doucement le côté de la plaque ou en utilisant un agitateur de plaque.
- 7 Incuber 90 minutes ( $\pm$  5 min.) à 18–26°C ou une nuit (12 à 18h) à 2–8°C. Il est recommandé d'incuber les échantillons de Lait de tank une nuit au réfrigérateur. Quelle que soit l'option choisie, les plaques doivent être scellées hermétiquement ou couvertes et incubées en chambre humide pour éviter toute évaporation.
- 8 Éliminer le liquide contenu dans les puits de la microplaque et laver 5 fois chaque puits avec environ 300  $\mu$ l de Solution de lavage. Éviter la dessiccation des puits de la microplaque entre les lavages et préalablement à la distribution du prochain réactif. Après le dernier lavage, vider le liquide résiduel contenu dans les puits par retournement et tapotement de la plaque sur du papier absorbant.
- 9 Distribuer 100  $\mu$ l de Conjugué dans chaque puits.

10 Incuber 30 minutes ( $\pm 2$  min.) à 18–26°C.

---

11 Répéter l'étape 8

---

12 Distribuer 100  $\mu$ l de Substrat TMB N°12 dans chaque puits.

---

13 Incuber 10 minutes ( $\pm 1$  min.) à 18–26°C.

---

14 Distribuer 100  $\mu$ l 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**

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

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

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

---

**Échantillons**

$$E/P = \frac{\text{Échantillon A}(450) - CN\bar{x}}{CP\bar{x} - CN\bar{x}}$$

La présence ou l'absence d'anticorps anti-BVDV est déterminée par le calcul de la valeur du ratio E/P de chaque échantillon.

---

17 Interprétation:

**Sérum, plasma ou lait individuel**

Négatifs

Douteux

Positifs

$$E/P < 0,20$$

$$0,20 \leq E/P < 0,30$$

$$E/P \geq 0,30$$

---

**Laits de tank**

Négatifs

Positifs

$$E/P < 0,20$$

$$E/P \geq 0,20$$

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

## **Pour l'assistance technique:**

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

IDEXX Europe Tél.: +800 727 43399

Contactez votre responsable de secteur IDEXX ou votre distributeur ou visitez notre site web:  
[idexx.com/contactlpd](http://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 Diarréia Viral Bovina (BVDV)

Para uso exclusivamente veterinário.

### Nome e Indicações

IDEXX BVDV Total Ab é um ensaio imunoenzimático da IDEXX para detecção de anticorpos contra BVDV em amostras de soro, plasma, leite individual e leite de tanque de expansão.

### Informações gerais

O Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV), o Vírus da Doença da Fronteira (BDV) e o Vírus da Cólera Suína (Vírus da Peste Suína Clássica, CSFV) são os três membros do gênero Pestivirus dentro da família Flaviviridae. O BVDV é um dos vírus patogênicos mais importantes para os bovinos, causando perdas consideráveis para as indústrias leiteiras e de carne em todo o mundo. Os sintomas típicos da infecção por BVDV são diarréia e febre seguidas por redução da produção de leite. O efeito imunossupressivo do BVDV pode potencializar a infecção por outros microorganismos. O vírus atravessa a placenta de vacas prenhes infectadas causando perdas reprodutivas devido a abortos, bezerros natimortos ou bezerros com mortalidade precoce. Alguns bezerros que sobrevivem são imunotolerantes e excretam grandes quantidades de vírus durante toda a sua vida. É importante identificar estes animais portadores para quebrar o ciclo da infecção nos rebanhos. Os animais portadores freqüentemente morrem de “doença da mucosas” nos primeiros dois anos de vida. Como consequência da infecção intra-uterina, o BVDV é um contaminante freqüente de produtos biológicos, como vacinas e medicamentos. O BDV causa doenças similares em ovelhas, enquanto o CSFV causa sérias perdas na indústria suína já que ele é altamente patogênico e pode causar mortes disseminadas. No entanto, todos os pestivirus podem ocorrer em bovinos também.

### Descrição e Princípio

IDEXX BVDV Total Ab é um ensaio imunoenzimático indireto desenvolvido para detecção de anticorpos contra BVDV em amostras de soro, plasma e leite. Um formato de microtitulação foi configurado através da impregnação do antígeno de BVDV nas placas. Os anticorpos do BVDV da amostra se aderem ao antígeno das placas. Após a incubação das amostras de teste nas cavidades, anticorpos de captura contra BVDV são detectados pelo conjugado anti-bovino. Depois o conjugado não aderido é lavado e uma solução de substrato/cromógeno é adicionada. Na presença da enzima, o substrato é convertido em um produto que reage com o cromógeno para gerar uma coloração azul. Após a adição da solução de interrupção, uma coloração amarela é gerada. A absorbância é medida usando-se um espectrofotômetro. A razão entre a amostra e o controle positivo é calculada usando-se a absorbância da amostra teste e do controle positivo, corrigida pela absorbância do controle negativo. O desenvolvimento da cor indica a presença de anticorpos contra BVDV na amostra teste (resultado positivo).

<b>Reagentes</b>		<b>Volume</b>
1	Placa Impregnada com Antígeno BVDV	5
2	Controle Positivo	1 x 1,0 ml
3	Controle Negativo	1 x 1,0 ml
4	Conjugado	1 x 60 ml
5	Diluente de Amostra	1 x 60 ml
A	Substrato TMB No.12	1 x 60 ml
B	Solução de Interrupção No.3	1 x 60 ml
C	Concentrado de Lavagem (10X)	1 x 480 ml
<b>Outros componentes:</b> embalagem tipo ziplock		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 e monocal 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)
- Use somente água destilada ou deionizada para o preparo dos reagentes usados no teste
- Tampa para placas (tampa plástica, papel alumínio ou adesivo)
- Centrífuga (capacidade de 2000 x g)
- Vórtex ou equivalente
- Agitador de placas



## 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

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

## Preparação dos Amostras

Soro fresco ou congelado, plasma ou leite podem ser testados. Amostras de leite total podem ser usadas após centrifugação por 15 minutos a 2000 x g ou deixadas “overnight” refrigeradas (2–8°C). Não é preciso um pré-tratamento para o leite desnatado.

## 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 ou plasma

- 1 Obter Placa(s) impregnada(s) com 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 Adicionar 100 µl de diluente de amostra em cada cavidade.
- 3 Adicionar 25 µl de Controle negativo (CN) em duplicata.
- 4 Adicionar 25 µl de Controle positivo (CP) em duplicata.
- 5 Adicionar 25 µl das amostras nas cavidades remanescentes. Continuar no passo 6.

### Amostras de leite

- 1 Obter Placa(s) impregnada(s) com 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 Adicionar 100 µl de diluente de amostra somente nas cavidades para controle negativo e para controle positivo.
- 3 Adicionar 25 µl de Controle negativo (CN) em duplicata.
- 4 Adicionar 25 µl de Controle positivo (CP) em duplicata.
- 5 Distribuir 100 µl das amostras de leite NÃO DILUÍDAS (pipetar abaixo da camada de gordura) nas cavidades remanescentes da placa. Continuar no passo 6.

### Procedimentos comuns para amostras de soro, plasma e leite

- 6 Homogeneizar o conteúdo das cavidades agitando levemente a placa ou usando um agitador de placas.
- 7 Incubar por 90 minutos ( $\pm$  5 minutos) à 18–26°C ou “overnight” (12–18 horas) à 2–8°C. O protocolo “overnight” é recomendado para amostras de leite de tanque de expansão. Em ambas opções, a placa(s) deve ser hermeticamente selada ou ser coberta e incubada em uma câmara úmida.
- 8 Remover o conteúdo líquido das cavidades da placa e lavar cada cavidade com aproximadamente 300 µl de Solução de Lavagem por 5 vezes. Evitar que a placa seque entre as lavagens e antes da adição do próximo reagente. Após a lavagem final, remover o fluido residual de lavagem de cada placa batendo-a firmemente em material absorvente.
- 9 Adicionar 100 µl de Conjugado em cada cavidade.

10 Incubar por 30 minutos ( $\pm$  2 minutos) à 18–26°C.

---

11 Repetir o passo 8.

---

12 Adicionar 100  $\mu$ l de Substrato TMB No.12 em cada cavidade.

---

13 Incubar por 10 minutos ( $\pm$  1 minuto) à 18–26°C.

---

14 Adicionar 100  $\mu$ l de Solução de interrupção No.3 em cada cavidade.

---

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

---

16 Cálculos:

**Controles**

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

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

---

**Crítérios de Validade**

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

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

---

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

---

**Amostras**

$$A/P = \frac{\text{Amostra A}(450) - CN\bar{x}}{CP\bar{x} - CN\bar{x}}$$

A presença ou ausência de anticorpos contra BVDV é determinada pelo cálculo da razão da amostra em relação ao controle positivo (A/P) para cada amostra.

---

17 Interpretação:

**Soro, plasma ou leite individual**

Negativas

Suspeitas

Positivas

$$A/P < 0,20$$

$$0,20 \leq A/P < 0,30$$

$$A/P \geq 0,30$$

---

**Leite de tanque de expansão**

Negativas

Positivas

$$A/P < 0,20$$

$$A/P \geq 0,20$$

---

**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/contactipd](http://idexx.com/contactipd)

**PRODUTO IMPORTADO. USO VETERINÁRIO.**

Licenciado no MAPA sob nº 7.042/1999.

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 Diarrea Vírica Bovina (BVDV)

Para uso veterinario exclusivo.

### Nombre y uso propuesto

IDEXX BVDV Total Ab es un ensayo inmunoenzimático de IDEXX para la detección de anticuerpos frente a BVDV en muestras individuales de suero, plasma y leche y en tanques de leche de bovino.

### Información general

El virus BVDV (virus de la diarrea vírica bovina), BDV (virus de la enfermedad de la frontera) y CSFV (virus de la peste porcina clásica) son los tres virus que forman parte del género Pestivirus, de la familia Flaviviridae. El BVDV es uno de los virus patógenos más importantes del ganado vacuno, responsable de pérdidas considerables en la industria láctea y cárnica de todo el mundo. Los síntomas típicos de la infección de BVDV son diarrea y fiebre, seguidos de una disminución de la producción de leche. El efecto inmunosupresor del BVDV puede potenciar la infección por otros organismos. El virus traspasa la placenta de las vacas preñadas infectadas y provoca pérdidas en la reproducción debido a abortos, crías que nacen muertas o que tienen una vida corta. Las crías que logran sobrevivir son inmunotolerantes al virus y eliminan grandes cantidades de virus infecciosos durante el resto de su vida. Es importante identificar a los animales «portadores» para interrumpir el ciclo infeccioso del rebaño. Los animales portadores suelen morir de la «enfermedad de las mucosas» en los dos primeros años de vida. Como consecuencia de la infección en el útero, el BVDV es un contaminante frecuente de productos biológicos como las vacunas y los compuestos farmacéuticos. El BDV provoca síndromes de la enfermedad similares en el ganado ovino, mientras que el CSFV causa graves pérdidas en la industria porcina, ya que es muy patógeno y puede originar muchas muertes. Sin embargo, todos estos pestivirus son potencialmente patógenos en ganado vacuno.

### Descripción y principios

El kit IDEXX BVDV Total Ab es un inmunoensayo enzimático indirecto diseñado para detectar anticuerpos específicos de BVDV en muestras de suero, plasma y leche. El ensayo consiste en una técnica ELISA indirecta donde se utilizan placas de microtitulación tapizadas con antígenos de BVDV. Los anticuerpos frente a BVDV presentes en la muestra se unen al antígeno de la placa. El material no ligado se elimina mediante un lavado. El complejo antígeno-anticuerpo se detecta mediante un conjugado peroxidasa de rábano, el resto de conjugado se elimina mediante el lavado de la placa 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. Al añadir la solución de frenado, se genera un color amarillo. La absorbancia se mide en el espectrofotómetro. El cociente M/P de las muestras se calcula usando la absorbancia de la muestra y un control positivo, corregidas con la absorbancia del control negativo. El desarrollo de color indica la presencia de anticuerpos frente a BVDV en la muestra (resultado positivo).

<b>Reactivos</b>		<b>Volumen</b>
1	Placa tapizada con Antígeno BVDV	5
2	Control Positivo	1 x 1,0 ml
3	Control Negativo	1 x 1,0 ml
4	Conjugado	1 x 60 ml
5	Diluyente de la Muestra	1 x 60 ml
A	Substrato TMB n.º12	1 x 60 ml
B	Solución de Frenado n.º3	1 x 60 ml
C	Solución de Lavado Concentrada (10X)	1 x 480 ml
<b>Otros componentes:</b> Bolsa de plástico de cierre hermético reutilizable		1

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

## Almacenamiento

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

## Materiales necesarios que no se suministran

- Micropipetas de precisión y micropipetas multidispensadoras
- Puntas de pipeta desechables
- Probetas graduadas para la solución de lavado
- Lector de placas de 96 pocillos (equipado con filtros de 450 nm o 450/650 nm)
- Lavador de placas, manual, semiautomático o automático
- Usar sólo agua destilada o desionizada para preparar los reactivos de la prueba
- Cubiertas de placas (tapa, papel de aluminio o adhesivo, etc)
- Centrífuga (2000 x g)
- Vortex o equivalente
- Agitador de placas

## **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 la Solución de Lavado**

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

## **Preparación de las Muestras**

Pueden analizarse muestras frescas o congeladas de suero, plasma o leche. Las muestras de leche entera deben centrifugarse durante 15 minutos a 2.000 x g o deben mantenerse toda la noche a una temperatura de 2–8°C. No es preciso un pre-tratamiento para la leche desnatada.

## 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 o plasma

- 1 Tomar las placas tapizadas y marcar la posición de las muestras. Si no se utiliza toda la placa, separar únicamente los pocillos necesarios para analizar las muestras. Guardar el resto de pocillos, junto con el desecante, en la bolsa de plástico de cierre hermético reutilizable y volver a almacenar a 2–8°C.
- 2 Añadir 100  $\mu$ l de Diluyente de la Muestra en cada pocillo.
- 3 Añadir 25  $\mu$ l de Control Negativo (CN) en dos pocillos.
- 4 Añadir 25  $\mu$ l de Control Positivo (CP) en dos pocillos.
- 5 Añadir 25  $\mu$ l de las muestras en los pocillos restantes. Continuar en el paso 6.

### Muestras de leche

- 1 Tomar las placas tapizadas y marcar la posición de las muestras. Si no se utiliza toda la placa, separar únicamente los pocillos necesarios para analizar las muestras. Guardar el resto de pocillos, junto con el desecante, en la bolsa de plástico de cierre hermético reutilizable y volver a almacenar a 2–8°C.
- 2 Añadir 100  $\mu$ l de Diluyente de la Muestra sólo en los pocillos duplicados para el Control Negativo y Control Positivo.
- 3 Añadir 25  $\mu$ l de Control Negativo (CN) en dos pocillos.
- 4 Añadir 25  $\mu$ l de Control Positivo (CP) en dos pocillos.
- 5 Añadir 100  $\mu$ l de las muestras de leche NO DILUIDAS (tomadas por debajo de la capa de grasa) en los pocillos restantes. Continuar en el paso 6.

### Procedimiento común para las muestras de suero, plasma y leche

- 6 Mezclar contenido de los pocillos golpeando levemente la placa o usar un agitador de placas.
- 7 Incubar durante 90 minutos ( $\pm$  5 minutos) a 18–26°C o toda la noche (12–18 horas) a 2–8°C. La incubación durante toda la noche se recomienda para las muestras de tanque de leche. Para ambas opciones las placas deben de estar selladas herméticamente o deben cubrirse e incubarse en una cámara húmeda.
- 8 Eliminar el contenido líquido de cada pocillo y lavar cada pocillo con aproximadamente 300  $\mu$ l 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  $\mu$ l de Conjugado en cada pocillo.



10 Incubar durante 30 minutos ( $\pm$  2 minutos) a 18–26°C.

---

11 Repetir el paso 8.

---

12 Dispensar 100  $\mu$ l de la Substrato TMB n.º12 en cada pocillo.

---

13 Incubar 10 minutos ( $\pm$  1 minuto) a 18–26°C.

---

14 Dispensar 100  $\mu$ l de la Solución de Frenado n.º3 en cada pocillo.

---

15 Medir y anotar la Absorbancia de las muestras y controles a 450 nm o usando una longitud de onda dual de 450 nm y 650 nm.

---

16 Cálculos:

**Controles**

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

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

---

**Criterios de Validación**

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

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

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

---

**Muestras**

$$M/P = \frac{\text{Muestra A}(450) - CN\bar{x}}{CP\bar{x} - CN\bar{x}}$$

La presencia o ausencia de anticuerpos BVDV en la muestra se determina mediante el cociente M/P de cada muestra.

---

17 Interpretación:

**Muestras individuales**

Negativo

Dudoso

Positivo

$$M/P < 0,20$$

$$0,20 \leq M/P < 0,30$$

$$M/P \geq 0,30$$

---

**Mezclas de hasta 10 muestras**

Negativo

Positivo

$$M/P < 0,20$$

$$M/P \geq 0,20$$

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

**Para asistencia técnica:**

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

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Contacte al representante local o distribuidor IDEXX o visite: [idexx.com/contactlpd](http://idexx.com/contactlpd)

N.º de registro: 0743-RD

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

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

## Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Bovinen Virus Diarrhoe (BVDV)

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

### Name und Verwendungszweck

Der IDEXX BVDV Total Ab ist ein Enzymimmunoassay zum Nachweis von spezifischen Antikörpern gegen das Virus der Bovinen Virus Diarrhoe (BVDV) in Einzel- Serum-, Plasma- und Milchproben und in Tankmilchproben von Rindern.

### Allgemeine Informationen

Das Virus der Bovinen Virus Diarrhoe (BVDV), das Border Disease Virus (BDV) und das Virus der Klassischen Schweinepest (CSFV) gehören zum Genus Pestivirus innerhalb der Familie der Flaviviridae. Das BVDV ist eines der wichtigsten pathogenen Viren beim Rind und führt weltweit zu beträchtlichen Verlusten in der Rinder- und Milchproduktion. Die typischen Symptome einer BVDV-Infektion sind Durchfall und Fieber mit anschließendem Rückgang der Milchproduktion. Aufgrund der immunsupprimierenden Wirkung des BVDV können prädisponierte Tiere an Infektionen mit anderen Mikroorganismen erkranken. Die Infektion ist gekennzeichnet durch eine hohe Morbidität, jedoch eine geringe Mortalität. Die Infektion tragender Kühe kann zu einer transplazentalen Infektion des Fötus führen. Je nach Trächtigkeitsstadium können Föten abortiert, tot, oder mit schweren Anomalien geboren werden. Eine Infektion von Föten im immuntoleranten Stadium führt häufig zur Geburt klinisch zunächst gesunder, jedoch persistent virämischer Kälber, die lebenslang das Virus ausscheiden. Es ist wichtig, diese Virämiker zu identifizieren und aus dem Bestand zu entfernen, um den Infektionszyklus zu unterbrechen. Viele dieser persistierenden Virämiker sterben in den ersten zwei Lebensjahren an "Mucosal Disease". Aufgrund der intrauterinen Infektion, ist BVDV eine häufig vorkommende Kontaminante von biologischen Produkten wie Vakzinen und Pharmazeutika. Das BDV kann ähnliche Erkrankungen beim Schaf hervorrufen, während hochpathogene CSFV-Stämme in der Schweineproduktion schwere Verluste mit hoher Mortalität verursachen können. Alle Pestiviren können auch beim Rind vorkommen.

### Beschreibung des Testprinzips

Der BVDV Total Ab ist ein indirekter Enzymimmunoassay zum Nachweis von spezifischen Antikörpern gegen das Virus der Bovinen Virus Diarrhoe (BVDV) in Einzel- Serum-, Plasma- und Milchproben und in Tankmilchproben von Rindern. Es wurde ein Mikrotiterformat entwickelt, bei dem BVDV Antigen in den Plattenvertiefungen immobilisiert wurde. Dadurch werden in der Probe vorhandene BVDV-Antikörper an die Platte gebunden. Nach der Probeninkubation werden gebundene BVDV-Antikörper durch ein Meerrettich-Peroxidase-Konjugat nachgewiesen. Ungebundenes Konjugat wird durch Waschen weggespült und eine Substrat/Chromogen-Lösung hinzugegeben, die mit der Meerrettich-Peroxidase reagiert. Bei Vorhandensein des Enzyms kommt es zu einer Farbreaktion. Durch Zugabe der Stopplösung kommt es zum Farbumschlag von blau nach gelb. Die Farbreaktion wird mit einem Photometer gemessen. Das Ergebnis wird berechnet, indem der OD-Wert der positiven Kontrolle (PK) und der OD-Wert der Probe (P) um den OD-Wert der negativen Kontrolle (NK) korrigiert werden und anschließend das Verhältnis der Probe zur positiven Kontrolle (P/PK) berechnet wird. Eine Farbreaktion zeigt das Vorhandensein von BVDV-Antikörpern in der Probe an.

<b>Reagenzien</b>		<b>Menge</b>
1	Mit BVDV-Antigen beschichtete Testplatte (inaktiviert)	5
2	Positive Kontrolle	1 x 1,0 ml
3	Negative Kontrolle	1 x 1,0 ml
4	Konjugat	1 x 60 ml
5	Probenverdünner	1 x 60 ml
A	TMB-Substrat Nr.12	1 x 60 ml
B	Stopplösung Nr.3	1 x 60 ml
C	Waschkonzentrat (10X)	1 x 480 ml
<b>Sonstige Komponenten:</b> Wiederverwendbarer Druckverschlussbeutel.		1

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

## Lagerung

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

## Notwendiges Material, das nicht mitgeliefert wird

- Präzisionspipetten und Multikanalmikropipetten
- Einweg-Pipettenspitzen
- Graduierter Zylinder für die Waschlösung
- Photometer (für 96 Vertiefungen, ausgestattet mit 450 nm oder 450 und 650 nm Messfiltern)
- Manuelles, halbautomatisches oder automatisches Mikrotiterplatten-Waschsystem
- Zur Vorbereitung der Reagenzien nur destilliertes oder demineralisiertes Wasser verwenden
- Abdeckungen für Mikrotiterplatten (Deckel, Alu-Folie oder Klebefolie)
- Zentrifuge 2000 x g
- Vortex-Mischer oder gleichwertiger Mischer
- Mikrotiterplatten-Schüttler

## Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

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

## Laborpraktiken

- Bei strikter Einhaltung dieser Anweisungen werden optimale Ergebnisse erzielt. Sorgfältiges Pipettieren und Waschen 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.
- 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 eventuell ausgefällte Salzkristalle durch Schütteln der Flasche auflösen. Das Waschkonzentrat 1:10 mit destilliertem oder demineralisiertem Wasser (z.B. 30 ml Waschkonzentrat mit 270 ml Aqua dest. pro Mikrotiterplatte) verdünnen. Bei steriler Behandlung kann die Waschlösung eine Woche bei 2–8°C aufbewahrt werden.

## Vorbereitung der Proben

Es können Einzel- Serum-, Plasma-, und Milchproben und Tankmilchproben untersucht werden. Native Milchproben vor der Untersuchung 15 Minuten bei 2.000 x g zentrifugieren oder über Nacht bei Kühlschranktemperatur (2–8°C) aufrahmen lassen. Entfettete Milch erfordert keine zusätzliche Probenvorbereitung.

## Testanweisung

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

### Serum- oder Plasmaproben

- 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.
- 2 100 µl Probenverdünner in jede Vertiefung geben.
- 3 25 µl negative Kontrolle (NK) in zwei Vertiefungen geben.
- 4 25 µl positive Kontrolle (PK) in zwei Vertiefungen geben.
- 5 25 µl der Proben in die anderen Vertiefungen der Mikrotiterplatte geben. Mit Schritt 6 fortfahren.

### Milchproben

- 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.
- 2 100 µl Probenverdünner nur in die für die Kontrollen vorgesehenen Vertiefungen geben.
- 3 25 µl negative Kontrolle (NK) in zwei Vertiefungen geben.
- 4 25 µl positive Kontrolle (PK) in zwei Vertiefungen geben.
- 5 100 µl unverdünnte Milchprobe in die entsprechenden Vertiefungen geben. Die Probe unterhalb der Fettschicht entnehmen. Mit Schritt 6 fortfahren.

### Allgemeines Protokoll für Serum-, Plasma- und Milchproben

- 6 Den Inhalt der Vertiefungen durch vorsichtiges Klopfen an die Seiten der Platte oder durch Schütteln der Platten auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler mischen.
- 7 Die Mikrotiterplatten 90 Minuten ( $\pm$  5 Min.) bei 18–26°C oder über Nacht (12h–18h) bei 2–8°C inkubieren. Die Übernachtinkubation wird für die Untersuchung von Tankmilchproben empfohlen. In jedem Fall sollten die Testplatten entweder hermetisch verschlossen inkubiert werden oder abgedeckt in einer feuchten Kammer.
- 8 Den flüssigen Inhalt aus den Vertiefungen absaugen und sodann mit etwa 300 µl Waschlösung 5-mal waschen. Dabei ein Austrocknen der Platte zwischen den Waschschrritten und vor Zugabe des nächsten Reagenz vermeiden. Nach dem letzten Waschen die Platte auf saugfähigem Material ausklopfen, um verbleibende Restflüssigkeit zu entfernen.

- 9 100 µl Konjugat in jede Vertiefung geben.
- 
- 10 30 Minuten (± 2 Min.) bei 18–26°C inkubieren.
- 
- 11 Schritt 8 wiederholen.
- 
- 12 100 µl TMB-Substrat Nr.12 in jede Vertiefung geben.
- 
- 13 10 Minuten (± 1 Min.) bei 18–26°C 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**

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

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

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

**Proben**

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

Das Vorhandensein oder Fehlen von BVDV-Antikörpern wird festgestellt, indem man das Verhältnis der Probe zur positiven Kontrolle (P/PK) ermittelt.

17 Interpretation:

**Serum-, Plasma- und Milchproben**

Negativ	Fraglich	Positiv
$P/PK < 0,20$	$0,20 \leq P/PK < 0,30$	$P/PK \geq 0,30$

**Tankmilchproben**

Negativ	Positiv
$P/PK < 0,20$	$P/PK \geq 0,20$

**Hinweis:** IDEXX bietet auch Geräte und Softwaresysteme zur Berechnung des P/PK-Verhältnisses 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](http://idexx.com/contactlpd)

Zul.-Nr.: BGVV- B 233

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



H319 / P280 / P337+P313 / EUH208

**Conjugate** – Causes serious eye irritation. Wear eye protection / face protection. If eye irritation persists: Get medical advice / attention. Contains Proclin. May produce an allergic reaction.

**Conjugué** – Provoque une sévère irritation des yeux. Porter un équipement de protection des yeux / du visage. Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin. Contient Proclin. Peut produire une réaction allergique.

**Conjugado** – Provoca irritação ocular grave. Usar proteção ocular / proteção facial. Caso a irritação ocular persista: consulte um médico. Contém Proclin. Pode provocar uma reação alérgica.

**Conjugado** – Provoca irritación ocular grave. Llevar gafas / máscara de protección. Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico. Contiene Proclin. Puede provocar una reacción alérgica.

**Konjugat** – Verursacht schwere Augenreizung. Augenschutz / Gesichtsschutz tragen. Bei anhaltender Augenreizung: 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.

H302 / H315 / H317 / H319 / H335 / P280 / P333+P313 / P337+P313 / P363

**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** – Peut être 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

**Positive control / Negative control / Wash concentrate** – Contains Proclin. May produce an allergic reaction.













**Contrôle positif / Contrôle négatif / Solution de lavage concentrée** – Contient Proclin. Peut produire une réaction allergique.

**Controle Positivo / Controle Negativo / Concentrado de Lavagem** – Contém Proclin. Pode provocar uma reação alérgica.

**Controle Positivo / Controle Negativo / Solución de Lavado Concentrada** – Contiene Proclin. Puede provocar una reacción alérgica.

**Positive Kontrolle / Negative Kontrolle / 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) / Chargenbezeichnung (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](http://idexx.com)

**IDEXX**