

S.C. NOVA GROUP INVESTMENT S.R.L.  
J40 / 6000 / 2001 , CUI : RO13986464

Str. OITUZ, nr 47 C , OTOPENI, Jud. ILFOV , ROMANIA  
Tel : +(4 031)425.35.15, Fax:+ (4 031) 425.35.16  
[www.vetlab.ro](http://www.vetlab.ro) ; E-mail: [info@novagroup.ro](mailto:info@novagroup.ro)



## Test detecție anticorpi anti virusul rinotraheitei bovine (BHV-1) gE

### Denumire și scopul utilizării

IDEXX IBR gE este un test imunoenzimatic pentru detecția anticorpilor anti antigen gE al herpesvirusului bovin 1 ( BHV-1) în probe de ser, plasmă și lapte individuale și lapte în amestec concentrat. Prezența anticorpilor anti gE indică expunerea la tulpini de virus sălbatic BHV-1 și/sau vaccinuri conținând antigenul gE. Este destinat utilizării în managementul și în aplicarea programelor de control și eradicare a BHV-1.

Atunci când se utilizează vaccinuri deletate gE poate constitui un test de diferențiere a animalelor vaccinate de cele infectate în mod natural.

### Informații generale

Măsurile tradiționale aplicate în scopul protejării efectivelor de bovine de efectele infecției cu BHV-1 includ administrarea de vaccinuri convenționale. S-a dovedit că procedurile serologice standard de evaluare a expunerii la BHV-1 după vaccinare nu sunt eficiente întrucât nu pot diferenția animalele vaccinate de cele infectate natural.

Au fost dezvoltate vaccinuri care permit diferențierea serologică. Aceste vaccinuri nu conțin proteine virale gE. Glicoproteina virală gE nu este importantă în protecția la infecție dar este prezentă în toate tulpinile virulente ale BHV-1. Întrucât IDEXX IBR gE detectează specific anticorpii anti gE, el nu va prezenta reacție cu anticorpii animalelor vaccinate cu vaccin deletat gE dar va identifica pozitiv animalele expuse infecției naturale sau pe cele vaccinate cu vaccinuri convenționale.

Înainte de vaccinare cu vaccin negativ pentru gE, este necesară verificarea statusului imunitar a animalelor cu ajutorul testului IDEXX IBR gE. După vaccinare, animalele trebuie testate regulat pentru infecția cu tulpini sălbatice de IBR folosind testul IDEXX IBR gE.

### Descriere și principii

Testul IDEXX IBR gE este efectuat în godeuri căptușite cu antigen BHV-1. În cursul primei perioade de incubare anticorpii anti BHV, inclusiv cei anti gE, reacționează cu antigenul imobilizat. După etapa de spălare, se adaugă un conjugat anticorp monoclonal anti-BHV-1-gE în godeu și acesta este lăsat să competiționeze pentru antigenul gE în cursul celei de-a doua etape de incubare. Dacă proba nu conține anticorpi anti gE, atunci conjugatul anticorp monoclonal anti gE cuplat cu peroxidază poate reacționa cu antigenul gE. Alternativ, dacă în probă sunt prezenți anticorpi anti gE, este blocată legarea conjugatului anticorp monoclonal de antigen.

După etapa de incubare, conjugatul nelegat este eliminat prin spălare și se adaugă o soluție de substrat și cromogen. În prezența enzimei, substratul este transformat într-un produs de reacție care reacționează cu cromoforul generând culoare albastră. Se măsoară absorbanta la 650 nm ( A650 nm) cu ajutorul spectrofotometrului.

Rezultatele se calculează împărțind absorbanta probei citită la 650 nm (A650 nm) la media absorbantei controlului negativ, rezultând astfel o valoare S/N.

Cantitatea de anticorpi anti gE este invers proporțională cu valoarea absorbantei și, implicit, cu raportul S/N.

Prezența anticorpilor anti gE-BHV-1 indică expunerea anterioară la tulpina sălbatică de BHV-1 sau vaccinarea cu vaccin convențional cu virus viu sau inactivat. Prezența anticorpilor anti BHV-1 detectată cu IDEXX IBR gE și absența anticorpilor față de antigenul gE detectată cu IDEXX IBR gE indică răspunsul la vaccin deletat gE.



Reagenți		Volum	
A	Plăci căptușite cu BHV – 1, conservate cu azidă de sodiu	6	30
D	Control pozitiv – ser bovin pozitiv BHV-1 gE, conservat cu azidă de sodiu	1 x 6,5ml	1 x 6,5ml
E	Control negativ– ser bovin conservat cu azidă de sodiu	1 x 6,5ml	1 x 6,5ml
C	Conjugat anti-BHV-1-gE cu peroxidază în tampon, stabilizatori proteici	cu 1 x 72ml	1 x 350ml
F	Diluant probe; conservat cu azida de sodiu	1 x 175ml	1 x 480ml
H	Substrat TMB	1 x 60ml	1 x 315 ml
I	Soluție de stopare	1 x 60ml	1 x 315 ml
G	Concentrat de spălare (10X) – conservat cu gentamicină	1 x 235ml	1 x 1440 ml

### Materiale necesare dar nefurnizate

Pipete sau dispozitive cu pipetare multiplă, vârfuri de pipetă de unică folosință, cilindru gradat de 500 ml pentru soluția de spălare, cititor de microplăci cu 96 godeuri, tuburi pentru diluția probelor, apă distilată sau deionizată, dispozitiv pentru aspirarea și distribuirea lichidului de spălare. Volumele reagenților enumerați în procedura de testare necesită pipete de precizie  $\pm 5\%$ .

### Precauții și avertizări pentru utilizatori

- Manipulați materialele biologice BHV-1 ca și cum ar putea transmite boala. Deși virusul a fost tratat chimic, placa căptușită cu antigen poate fi o sursă de BHV-1.
- Nu pipetați cu gura
- Nu mâncați, nu beți și nu fumați în locul unde se manipulează reagenții
- Soluția TMB poate fi iritantă pentru piele
- Unele componente conțin azidă de sodiu drept conservant. Aruncați conținutul respectând legislația locală, regională și națională. Este necesară evitarea contaminării conjugatului anti-BHV-1-gE cu peroxidază cu acest conservant.
- Nu expuneți soluția TMB la lumină puternică sau la agenți oxidanți. Manipulați soluția în flacoane curate din plastic sau sticlă.
- Păstrați reagenții din kit la  $+2^{\circ}\text{C}-8^{\circ}\text{C}$ . Aduceți la  $18-26^{\circ}\text{C}$  înainte de utilizare și readuceți la  $+2^{\circ}\text{C}-8^{\circ}\text{C}$  după utilizare.
- Toate reziduurile trebuie decontaminate corespunzător înainte de a fi aruncate.
- Manipulați cu grijă pentru a preveni contaminarea componentelor kitului.
- NU utilizați kiturile după data de expirare și nu amestecați reagenții sau instrucțiunile de lucru din truse din loturi diferite.
- Rezultate optime se obțin în condițiile respectării instrucțiunilor de lucru. În scopul asigurării preciziei și a acurateței este necesar să se pipeteze cu grijă, să se respecte timpii de incubare și de spălare.
- De uz veterinar exclusiv

### Tipuri de probe și incubare

#### A. Probe de ser și plasmă

Diluati probele de ser și controalele de două ori (1:2) cu diluant probă. Probele de ser se incubează peste noapte ( 18-24 ore) la  $18-26^{\circ}\text{C}$ , plăcile fiind sigilate pentru evitarea evaporării.

#### B. Probe de lapte individuale sau din cisterne

Probele de lapte nediluat se incubează peste noapte (12-18 ore) la  $18-26^{\circ}\text{C}$ , plăcile fiind sigilate pentru evitarea evaporării. **NOTĂ : Înaintea testării este important să se separe smântana din lapte. Prezența acesteia în probele de testat afectează rezultatele testului. Controalele pozitiv și negativ se aplică nediluate.**

#### C. Probe lapte din cisterne, amestecate (concentrate)

Probele de lapte reunite, concentrate sub forma de peletă se reconstituie cu 0,5 ml tampon spălare diluat 1x. Dizolvați complet peleta. Testați probele de lapte concentrate 2 ore ( $\pm 5$  minute) la  $18-26^{\circ}\text{C}$ . Pentru efective de animale mai mari de 50 capete se iau 2 probe. **NOTĂ : Înaintea testării trebuie separată smântana din lapte. Prezența acesteia în probele de testat afectează rezultatele testului. Controalele pozitiv și negativ se aplică nediluate.**



## Prepararea soluției de spălare

Concentratul soluției de spălare se aduce la 18-26°C și se amestecă pentru a asigura dizolvare sărurilor eventual precipitate. Concentratul de spălare se diluează 1: 10 cu apa distilată/deionizat înainte de utilizare.

## Modul de lucru

Toți reagenții se aduc la temperatura camerei înainte de utilizare. Reagenții se amestecă ușor prin agitare sau pe vortex.

1. Scoateți placa captușită cu antigen și înregistrați poziția probelor pe foaia de lucru.
2. În godeurile A1 și B1 pipetați 100 μl Control Negativ
3. În godeurile C1 și D1 pipetați 100 μl Control Pozitiv.
4. Pipetați 100 μl probe ( apte sau ser) în godeurile corespunzătoare.
5. Incubați probele conform instrucțiunilor din secțiunile A, B și C.
6. Spălați placa de 5 ori cu aprox. 300 μl soluție de spălare. Aspirați lichidul după fiecare spălare. Evitați uscarea plăcii între etapele de spălare și înaintea adăugării conjugatului. După ultimă spălare bateți ferm placa pentru a elimina lichidul rezidual
7. Pipetați 100 μl conjugat anti-BHV-1-gE cu peroxidază în toate godeurile.
8. Incubați 30 minute (± 5 minute) la 18-26°C
9. Repetați pasul 6.
10. Pipetați 100 μl soluție substrat TMB în toate godeurile.
11. Incubați 15 minute (± 1 minut) la 18-26°C.
12. Pipetați 100 μl soluție de stopare în toate godeurile pentru a stopa reacția.
13. Măsurați și înregistrați absorbanțele controalelor și ale probelor la 650 nm.
14. Calculați rezultatele.

## Rezultate

Pentru ca testul să fie considerat valid, media absorbanței controalelor negative minus media absorbanței controalelor pozitive trebuie să fie mai mare sau egală cu 0,300. În cazul testelor invalide, modul de lucru poate fi suspect și testul trebuie repetat după studierea atentă a protocolului de lucru. Prezența sau absența anticorpilor anti antigenul gE se evaluează în funcție de valoarea raportului S/N a fiecărei probe.

## Calcul

1.	Media controalelor negative (NCx)	$NCx = \frac{A1A(650) + A2A(650)}{2}$
2.	Media controalelor pozitive (PCx)	$PCx = \frac{A3A(650) + A4A(650)}{2}$
3.	Raportul S/N	$S/N = \frac{Pr obaA(650)}{NCx}$

## Interpretarea rezultatelor

### A. Ser și plasmă

1. Dacă S/N este mai mic sau egal cu 0,60 proba este considerată pozitivă pentru anticorpi anti antigen gE al BHV-1.
2. Dacă raportul S/N este mai mare decât 0,60 dar mai mic sau egal cu 0,70 proba trebuie retestată. Dacă rezultatul este același, animalul trebuie retestat la o dată ulterioară.
3. Dacă raportul S/N este mai mare decât 0,70 proba este considerată negativă la anticorpii anti antigen gE ai BHV-1.

### B. Probe de lapte

1. Dacă S/N este mai mic sau egal cu 0,80, proba este considerată ca reactivă pentru anticorpi anti-antigenul gE al BHV-1
2. Dacă S/N este mai mare decât 0,80, proba este considerată negativă pentru anticorpi anti-antigenul gE al BHV-1.

## Bibliografie

1. van Oirschot, J.T. et al.: A conventionally attenuated glycoprotein E-negative strain of Bovine Herpes-Virus Type-1 is an efficacious and safe vaccine. Vaccine 1994; 12 (5): 439-444.

2. Forscher, E., Bunger, I., Nachweis von IBR/IPV, Leukose, und Brucellose antikörpern in Bestandsmilchproben mit ELISA nach einer einfachen Konzentrierungsmethode. Dtsch. Tierartztl. Wochenschr. 93, 112-115, 1986.

**IDEXX Technical Services:**

IDEXX USA Tel: 1 800 548 9997 sau 1 207 556 4890

Fax: 1 800 328 5461 sau 1 207 556 4826



IDEXX Europa Tel: 00800 727 43399



Fax: 00800 433 99329



\*HerdChek este marcă înregistrată a IDEXX Laboratories, Inc., în Statele Unite și/sau alte state. Patent SUA:5,676,951 și/sau 6,403,097. SUA și/sau patente străine în curs de obținere sau în așteptare.  
©2011 IDEXX Laboratories, Inc. Toate drepturile rezervate.



HerdChek\*IBR gE







<b>1</b>	<b>Placă căptușită cu antigen BHV-1</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX IBR gl:		LOT ⌚
1 x 96 godeuri		
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	 
<small>IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA      IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda</small>		

<b>2</b>	<b>CONTROL +</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX IBR gl:		LOT ⌚
6,5 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	 
<small>IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA      IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda</small>		

<b>3</b>	<b>CONTROL -</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX IBR gl:		LOT ⌚
6,5 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	 
<small>IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA      IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda</small>		

<b>4</b>	<b>Conjugat</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX IBR gl:		LOT ⌚
350 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	 
<small>IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA      IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda</small>		

<b>A</b>	<b>Substrat TMB</b>	<b>IDEXX</b>
		LOT ⌚
315 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	 
<small>IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA      IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda</small>		

<b>B</b>	<b>Soluție de stopare</b>	<b>IDEXX</b>
		LOT ⌚
315 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	 
<small>IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA      IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda</small>		



<b>C</b>	<b>Soluție de spălare concentrată (10x)</b>	<b>IDEXX</b>
480 ml		LOT ⌘ Nr.
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	PC4 <sup>FC</sup>
<small>IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA      IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda</small>		

<b>5</b>	<b>Diluant probe</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX IBR gE		LOT ⌘ Nr.
480 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	PC4 <sup>FC</sup>
<small>IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA      IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda</small>		



**Kit detecție anticorpi  
anti virusul rinotraheitei  
bovine (BHV-1) gE**

**IDEXX IBR gE**  
6 x 96 godeuri

REF

LOT SN

**IDEXX IBR gE**

Test de diagnostic in vitro pentru detecția anticorpilor anti virusul rinotraheitei infecțioase bovine (gE) în probe de ser plasmă sau lapte de bovine. Materialele trebuie manipulate ca și cum ar fi capabile să transmită rinotraheita bovină.

Notă: Pentru uz veterinar exclusiv.

LOT

Reagenți	Cantitatea
1. Plăci căptușite cu antigen BHV-1	6
2. Control pozitiv	1 x 6,5ml
3. Control negativ	1 x 6,5ml
4. Conjugat	1 x 72ml
5. Diluant probe	1 x 175 ml
A. Substrat TMB	1 x 60ml
B. Soluție de stopare	1 x 60ml
C. Soluție de spălare concentrată (10x)	1 x 235ml

**IDEXX**



IDEXX Laboratories, Inc.  
One IDEXX Drive,  
Westbrook Maine 04092  
USA  
Tel. 12075564890 sau  
18005489997  
idexx.com

EC REP

IVD



2°C - 8°C



<b>1</b>	<b>Placă căptușită cu antigen BHV-1</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX IBR gE		LOT 
1 x 96 godeuri		
Exclusiv pentru uz veterinar		
<small>IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA      IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda</small>		

<b>2</b>	<b>CONTROL +</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX IBR gE		LOT 
6,5 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
<small>IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA      IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda</small>		

<b>3</b>	<b>CONTROL -</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX IBR gE		LOT 
6,5 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
<small>IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA      IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda</small>		

<b>4</b>	<b>Conjugat</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX IBR gE		LOT 
72 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
<small>IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA      IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda</small>		

<b>A</b>	<b>Substrat TMB</b>	<b>IDEXX</b>
		LOT 
60 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
<small>IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA      IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda</small>		

<b>B</b>	<b>Soluție de stopare</b>	<b>IDEXX</b>
		LOT 
60 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar		
<small>IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA      IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda</small>		



<b>C</b>	<b>Soluție de spălare concentrată (10x)</b>	<b>IDEXX</b>
235 ml		LOT ⌚
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	i PC NE
IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda

<b>5</b>	<b>Diluant probe</b>	<b>IDEXX</b>
IDEXX IBR gE		LOT ⌚
175 ml		
Exclusiv pentru uz veterinar	IVD	i PC NE
IDEXX Laboratories, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, SUA		IDEXX Europe B.V. P.O. Box 1334, 2130 EK Hoofddorp, Olanda

Kit detecție anticorpi  
anti virusul rinotraheitei  
bovine (BHV-1) gE

IDEXX IBR gE  
30 x 96 godeuri

REF

LOT SN

**IDEXX IBR gE**

Test de diagnostic in vitro pentru detecția anticorpilor anti virusul rinotraheitei infecțioase bovine (gE) în probe de ser plasmă sau lapte de bovine. Materialele trebuie manipulate ca și cum ar fi capabile să transmită rinotraheita bovină.

Notă: Pentru uz veterinar exclusiv.

LOT

Reagenți	Cantitatea
1. Plăci căptușite cu antigen BHV-1	30
2. Control pozitiv	1 x 6,5ml
3. Control negativ	1 x 6,5ml
4. Conjugat	1 x 350ml
5. Diluant probe	1 x 480 ml
A. Substrat TMB	1 x 315ml
B. Soluție de stopare	1 x 315ml
C. Soluție de spălare concentrată (10x)	3 x 480ml

**IDEXX**



IDEXX Laboratories, Inc.  
One IDEXX Drive,  
Westbrook Maine 04092  
SUA  
Tel. 12075564890 sau  
18005489997  
ldexx.com

EC REP

IVD



2°C / 8°C

