

## **Pseudorabies Virus gpl Antibody Test Kit**

**Kit de détection des anticorps anti-gpl du virus de la Maladie d'Aujeszky**

**Kit para Detecção de anticorpos anti-gpl contra o vírus da Pseudorraiva**

USO VETERINÁRIO

**Kit para la detección de Anticuerpos anti-gpl del virus de la Enfermedad de Aujeszky**

**Aujeszky'sche Krankheit gpl-Antikörper Testkit**

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

IDEXX **PRV/ADV gl**

06-01040-18

Test With Confidence™

**IDEXX**



## Pseudorabies Virus gpl Antibody Test Kit

For veterinary use only.

### Name and Intended Use

IDEXX PRV/ADV gI is an enzyme immunoassay for the detection of antibodies in swine serum to the gpl antigen of pseudorabies virus (PRV/Aujeszky's Disease). The presence of antibodies to gpl indicates exposure to field strains of PRV and/or vaccines containing gpl antigen. In the United States, it is intended for use in management and pseudorabies eradication applications. When used with gpl-deleted PRV vaccines, for example Intervet- Schering Plough Animal Health, and when performed at approved laboratories, it is an official differential pseudorabies test for use in the Cooperative State/Federal Pseudorabies Eradication Program.

### General Information

Strategies traditionally used to provide protection for swine from the effects of pseudorabies infection have included the administration of conventional and gene-deleted, USDA-licensed PRV vaccines.<sup>1</sup> Standard serologic procedures used to assess PRV exposure following vaccination are of limited value as they cannot distinguish naturally infected from vaccinated swine. Safe and efficacious gpl-deleted PRV vaccines that allow for serologic differentiation have been developed by the manufacturers listed above. The virus used in these vaccines was selected such that the synthesis of virulence factors were eliminated without compromising the immunogenicity of the virus. In addition, a mechanism for serologic differentiation is provided by the natural deletion of the DNA sequences that code for gpl, an apparently non-essential viral protein. Thus, the IDEXX PRV/ADV gI assay, being specific for antibodies to gpl, ignores antibody titers in animals vaccinated with gpl-deleted PRV vaccines by approved manufacturers, but detects animals infected with field strains or vaccinated with strains that contain the gpl antigen. The assay uses monoclonal antibodies specific for gpl. Prior to vaccination with gpl-deleted products, swine should be tested using either this assay or the IDEXX PRV/ADV gB assays to determine immune status. Subsequent to vaccination, the swine should be routinely monitored at least semiannually for exposure to field strains of PRV using the IDEXX PRV/ADV gI assay.

## Descriptions and Principles

The IDEXX PRV/ADV gI assay is performed in a PRV antigen-coated microwell using a two-fold (1:2) serum dilution. During the first incubation, PRV antibodies present in the serum, including those produced against gpl, react with antigens on the plate. Subsequent to a wash step, an anti-PRV-gpl monoclonal antibody conjugate is added to the microwell and is allowed to compete for the gpl viral antigen during a second incubation. If no gpl antibodies are present in the test serum, the conjugated gpl antibodies are free to react with the gpl antigen. Conversely, if gpl antibodies are present in the test serum, the enzyme-conjugated monoclonal antibodies are blocked from reacting with the antigen. Following this incubation period, the unreacted conjugate is removed by washing, and a substrate/chromogen solution is added. In the presence of enzyme, the substrate is converted to a product that reacts with the chromophore to generate a blue color. The absorbance at 650 nm, A(650), is measured using a spectrophotometer. Results are calculated by dividing the A(650) of the sample by the mean A(650) of the negative control, resulting in a sample/negative (S/N) value. The quantity of antibodies to gpl is inversely proportional to the A(650) and, thus, to the S/N value. The presence of PRV antibodies, including anti-gpl, indicates a previous exposure to a field strain of PRV or application of conventional modified live or killed virus vaccines. The presence of PRV antibodies detected by the IDEXX PRV/ADV gB assay, but absence of antibodies to gpl antigen as assessed by the IDEXX PRV/ADV gI assay, indicates a response to a gpl-deleted vaccine.

Reagents		Volume	
1	PRV Antigen Coated Plate	6	30
2	Positive Control — diluted porcine anti-PRV gpl serum; preserved with sodium azide	1 x 5.0 mL	1 x 5.0 mL
3	Negative Control — porcine serum non-reactive to PRV gpl; preserved with sodium azide	1 x 5.0 mL	1 x 5.0 mL
4	Conjugate — anti-PRV gpl; HRPO conjugate; preserved with gentamicin and Kathon	1 x 60 mL	1 x 350 mL
5	Sample Diluent — preserved with sodium azide	1 x 120 mL	1 x 300 mL
A	TMB Substrate	1 x 60 mL	1 x 315 mL
B	Stop Solution	1 x 60 mL	1 x 315 mL
C	Wash Concentrate (10X) — preserved with gentamicin	1 x 235 mL	3 x 480 mL
<b>Other Components:</b> 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 and multi-dispensing micropipettes
- Disposable pipette tips
- Graduated cylinder for wash solution
- 96-well microplate reader (equipped with 650 nm filter)
- 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

## Precautions and Warnings

- Handle all biological material as potentially infectious. The antigen used in the kit reagents may not be completely inactivated.
- 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 and do not intermix components from kits with different serial numbers.

## Preparation of Wash Solution

The Wash Concentrate (10X) should be brought to 18–26°C and mixed to assure dissolution of any precipitated salts. The Wash Concentrate (10X) must be diluted 1/10 with distilled/deionized water before use (e.g., 30 mL of concentrate plus 270 mL of water per plate to be assayed).

## Preparation of Samples

Dilute test samples two-fold (1:2) with Sample Diluent (e.g., by diluting 125  $\mu\text{L}$  of sample with 125  $\mu\text{L}$  of Sample Diluent). Be sure to change tips for each sample and record the position of each sample. Samples should be mixed prior to dispensing into the PRV-coated plate.

## Test Procedure

All reagents must be allowed to come to 18–26°C before use. Mix reagents by gentle inverting or swirling.

---

1 Obtain antigen-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 ziplock bag provided and return to 2–8°C.

---

2 Dispense 100  $\mu\text{L}$  of DILUTED Negative Control (NC) (DILUTED 1:2) into duplicate or triplicate wells.

---

3 Dispense 100  $\mu\text{L}$  of DILUTED Positive Control (PC) (DILUTED 1:2) into duplicate wells.

---

4 Dispense 100  $\mu\text{L}$  of DILUTED sample into appropriate wells.

---

5 Incubate for 60 minutes ( $\pm 5$  minutes) at 18–26°C or overnight at 2–8°C.

---

6 Remove the solution and wash each well with approximately 300  $\mu\text{L}$  of Wash Solution 3–5 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.

---

7 Dispense 100  $\mu\text{L}$  of Conjugate into each well.

---

8 Incubate for 20 minutes ( $\pm 1$  minute) at 18–26°C.

---

9 Repeat Step 6.

---

10 Dispense 100  $\mu\text{L}$  of TMB Substrate into each well.

---

11 Incubate for 15 minutes ( $\pm 1$  minute) at 18–26°C.

---

12 Dispense 50  $\mu\text{L}$  of Stop Solution into each well.

---

13 Measure and record the A(650) for samples and controls.

## 14 Calculations:

### Controls

$$NC\bar{x} = \frac{A1 A(650) + A2 A(650) + A3 A(650)^*}{3}$$

$$PC\bar{x} = \frac{A4 A(650) + A5 A(650)}{2}$$

\*Example shows Negative Control run in Triplicate.

---

### Validity criteria

$$NC\bar{x} - PC\bar{x} \geq 0.300$$

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

---

### Samples

$$S/N = \frac{\text{Sample A}(650)}{NC\bar{x}}$$

The presence or absence of antibody to the antigen is determined by first calculating the S/N value of each sample.

---

## 15 Interpretation:

Negative	Suspect	Positive*
$S/N > 0.70$	$0.60 < S/N \leq 0.70$	$S/N \leq 0.60$

\*Confirm all positives in duplicate.

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

## **Bibliography**

1. Gustafson DP, "Pseudorabies." Leman AD, Glock RD, Mengeling WL, Penny RH, Scholl E, Straw B, eds. Disease of Swine, 5th ed. Ames, Iowa: The Iowa State University Press;1984:209-223.

### **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)

U.S. Vet. License No. 313

Product Code 5113.00

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

©2014 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved.



## Kit de détection des anticorps anti-gpl du virus de la Maladie d'Aujeszky

Réservé à l'usage vétérinaire.

### Définition et application

IDEXX PRV/ADV gl est un kit de détection immunoenzymatique par IDEXX des anticorps dirigés contre la glycoprotéine gpl du virus de la maladie d'Aujeszky du porc (Aujeszky's disease Virus: ADV) à partir de sérum de porc. Le kit IDEXX PRV/ADV gl est utilisé dans les programmes de contrôle et d'éradication de la maladie d'Aujeszky en association avec les vaccins délétés en glycoprotéine gpl du virus de la maladie d'Aujeszky.

### Informations Générales

Les méthodes de lutte contre la maladie d'Aujeszky du porc prévoient l'utilisation de vaccins classiques ou délétés en certaines glycoprotéines du virus de la maladie d'Aujeszky.<sup>1</sup> Les techniques sérologiques classiques voient leurs indications se limiter puisqu'elles ne peuvent faire la distinction entre les porcs infectés et les porcs vaccinés. Le développement de nouveaux vaccins Aujeszky sûrs et efficaces permet une telle différenciation. Les vaccins délétés en gpl ne contiennent pas la glycoprotéine gpl, glycoprotéine non essentielle à la protection mais présente dans toutes les souches sauvages du virus de la maladie d'Aujeszky. Le kit IDEXX PRV/ADV gl, spécifique des anticorps anti-gpl, détecte comme négatif les animaux sains qu'ils soient ou non vaccinés avec les vaccins délétés en gpl et détecte comme positif les animaux infectés ou vaccinés avec les vaccins contenant la glycoprotéine gpl. Cette distinction est possible grâce aux anticorps monoclonaux spécifiques de gpl utilisés dans le kit IDEXX PRV/ADV gl. Avant la mise en place des programmes de vaccination utilisant des vaccins délétés en gpl, il est conseillé d'utiliser le kit IDEXX PRV/ADV gl pour contrôler l'état sanitaire des troupeaux. Après vaccination avec des vaccins délétés en gpl, les troupeaux seront contrôlés au moins 2 fois par an à l'aide du kit IDEXX PRV/ADV gl pour détecter une éventuelle contamination par des souches sauvages du virus de la maladie d'Aujeszky.

### Description et principe

IDEXX PRV/ADV gl est un kit de dosage immunoenzymatique de détection des anticorps anti-ADV gpl à partir du sérum de porc. Dans la première étape d'incubation, les anticorps anti-ADV contenus dans l'échantillon y compris les anticorps anti-gpl, réagissent avec l'antigène ADV contenu dans les microplaques. Après une étape de lavage, l'addition et l'incubation du Conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-gpl permettent à ces anticorps monoclonaux de saturer les sites antigéniques laissés libres lors de la première incubation. Si le sérum testé contient des anticorps anti-gpl, il y aura peu ou pas de fixation du conjugué sur les microplaques. Si le sérum testé ne contient pas d'anticorps anti-gpl, le Conjugué se fixera en totalité sur les microplaques. Après une nouvelle étape de lavage, on additionne le substrat de l'enzyme du conjugué. En présence d'enzyme il y aura alors apparition d'une coloration. La coloration est lue entre 620 et 650 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage d'inhibition. Le pourcentage d'inhibition est obtenu en soustrayant la densité optique de l'échantillon de celle du Contrôle négatif et en divisant cette différence par la densité optique du Contrôle négatif. Ce rapport est multiplié par 100 pour obtenir un pourcentage (cf. paragraphe "Calculs"). La concentration en anticorps anti-gpl de l'échantillon est inversement proportionnelle à la densité optique de l'échantillon et est proportionnelle au pourcentage d'inhibition. La présence d'anticorps anti-gpl indique une infection par une souche sauvage d'ADV ou une vaccination par un vaccin anti-ADV non délété, atténué ou inactivé.

Réactifs		Volume	
1	Plaque sensibilisée avec des antigènes ADV	6	30
2	Contrôle positif — sérum porcin anti-ADV gpl dilué; conservateur: azoture de sodium	1 x 5,0 ml	1 x 5,0 ml
3	Contrôle négatif — sérum porcin ne contenant pas d'anticorps anti-ADV gpl dilué; conservateur: azoture de sodium	1 x 5,0 ml	1 x 5,0 ml
4	Conjugué — conjugué anti-ADV gpl: HRPO; conservateurs: gentamicine et Kathon	1 x 60 ml	1 x 350 ml
5	Diluant des échantillons — conservateur: azoture de sodium	1 x 120 ml	1 x 300 ml
A	Substrat TMB	1 x 60 ml	1 x 315 ml
B	Solution d'arrêt	1 x 60 ml	1 x 315 ml
C	Concentré de lavage (10X) — conservateur: gentamicine	1 x 235 ml	3 x 480 ml
<b>Autres composants:</b> sachet plastique hermétique réutilisable.		1	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 avec un filtre entre 620 et 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

## Précautions d'emploi et mises en garde

- Manipuler tout matériel biologique comme étant potentiellement infectieux. Les antigènes utilisés dans les réactifs du kit peuvent ne pas être complètement inactivés.
- 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 et ne pas mélanger les composants avec ceux de trousse ayant un numéro de série différent.

## Préparation des Solution de lavage

Le Concentré de lavage (10X) devra être porté à 18–26°C et agité afin de solubiliser tous précipités salins éventuels. Diluer le Concentré de lavage (10X) au 1/10 dans de l'eau distillée ou désionisée (ex.: 30 ml de Concentré de lavage (10X) sont à mélanger dans 270 ml d'eau distillée pour le lavage d'une plaque).

## Préparation des échantillons

Diluer les échantillons au 1:2 dans le Diluant des échantillons (ex.: diluer 125  $\mu$ l d'échantillon avec 125  $\mu$ l de Diluant des échantillons). Veiller à changer les embouts de pipettes pour chaque échantillon et à enregistrer la position de chaque échantillon. Homogénéiser les échantillons avant leur distribution dans la plaque sensibilisée ADV.

## Mode opératoire

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

- 1 Réserver le nombre de plaques nécessaires à la manipulation et noter la position des échantillons. 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 dessiccatif à 2–8°C.

---

- 2 Distribuer 100 µl de contrôle négatif (CN) DILUÉ au 1:2 dans deux ou trois puits.

---

- 3 Distribuer 100 µl de contrôle positif (CP) DILUÉ au 1:2 dans deux puits.

---

- 4 Distribuer 100 µl de sérum DILUÉ à tester dans les cupules adjacentes.

---

- 5 Incuber pendant 60 minutes (±5 minutes) à 18–26°C ou 1 nuit à 2–8°C.

---

- 6 Éliminer le liquide contenu dans les puits de la microplaque et laver 3–5 fois chaque puits avec environ 300 µl 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.

---

- 7 Distribuer 100 µl de conjugué dans chaque cupule.

---

- 8 Incuber pendant 20 minutes (±1 minute) à 18–26°C.

---

- 9 Répéter l'étape 6.

---

- 10 Distribuer 100 µl de substrat TMB dans chaque cupule.

---

- 11 Incuber pendant 15 minutes (±1 minute) à 18–26°C.

---

- 12 Distribuer 50 µl de solution d'arrêt dans chaque cupule.

---

- 13 Lire les densités optiques (D.O.) entre 620 et 650 nm pour les échantillons et les contrôles.

## 14 Calculs:

### Contrôles

$$CN\bar{x} = \frac{A1 A(650) + A2 A(650) + A3 A(650)^*}{3}$$

$$CP\bar{x} = \frac{A4 A(650) + A5 A(650)}{2}$$

\*Les formules ci-dessus montrent un exemple avec le contrôle négatif testé en triple.

---

### Critères de validité

$$CN\bar{x} - CP\bar{x} \geq 0,300$$

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

---

### Échantillons

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 \times \frac{CN\bar{x} - \text{Echantillon}}{CN\bar{x}}$$

La présence ou l'absence d'anticorps anti-gl est déterminée par le calcul du pourcentage d'inhibition de chaque échantillon.

---

## 15 Interprétation:

Négatifs

Douteux

Positifs

% d'inhibition < 0,30

0,30 ≤ % d'inhibition < 0,40

% d'inhibition ≥ 0,40

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

## **Bibliographie**

1. Gustafson DP, "Pseudorabies." Leman AD, Glock RD, Mengeling WL, Penny RH, Scholl E, Straw B, eds. Disease of Swine, 5th ed. Ames, Iowa: The Iowa State University Press; 1984:209-223.

### **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 chef de secteur IDEXX 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.

©2014 IDEXX Laboratories, Inc. Tous droits réservés.

## Kit para Detecção de anticorpos anti-gpl contra o vírus da Pseudorraiva

Para uso exclusivamente veterinário.

### Nome e Indicações

O IDEXX PRV/ADV gI é um ensaio imunoenzimático para a detecção de anticorpos em soro suíno contra o antígeno do Vírus de Pseudorraiva (PRV/Doença de Aujeszky). A presença de anticorpos anti-gpl indica exposição à cepas de campo do PRV e/ou vacinas contendo o antígeno gpl. Nos Estados Unidos, é utilizado para uso em monitoramento e erradicação de pseudorraiva. Quando usado com vacinas PRV gpl deletado, por exemplo Intervet- Schering Plough Animal Health, e quando feito em laboratórios aprovados, é considerado um teste oficial diferencial para pseudorraiva aprovado nos Programas Federais de Erradicação dessa enfermidade.

### Informações Gerais

Tradicionalmente, as estratégias usadas para proteger os suínos dos efeitos da infecção por Pseudorraiva incluem a administração de vacinas convencionais e gene-deletadas, vacinas licenciadas pelo USDA.<sup>1</sup> Os procedimentos sorológicos padrões utilizados para avaliar a exposição ao PRV após a vacinação têm valor limitado, uma vez que não é possível fazer a distinção entre um suíno infectado naturalmente e um suíno vacinado. Vacinas seguras e eficazes para Pseudorraiva e que permitem tal diferenciação sorológica já estão disponíveis no mercado. Os vírus usados nessas vacinas foram selecionados de tal forma que a síntese dos fatores virulentos foram eliminados sem comprometer a imunogenicidade do vírus. Adicionalmente, um mecanismo de diferenciação sorológica é fornecido pela deleção natural das sequências de DNA que codificam o gpl, uma proteína viral aparentemente não essencial. Assim, o teste IDEXX PRV/ADV gI sendo específico para anticorpos contra gpl, ignora os títulos de anticorpos em animais vacinados com vacinas PRV gpl deletadas, mas detecta animais infectados com cepas de campo ou vacinados com cepas que contêm o antígeno gpl. O teste usa anticorpos monoclonais específicos para gpl. Antes de proceder à vacinação com produtos gpl-deletado, o suíno deve ser testado utilizando-se ou este teste ou o IDEXX Anti-PRVgB a fim de determinar o estado de imunidade. Logo após a vacinação, o suíno deverá ser monitorado de forma rotineira, pelo menos duas vezes ao ano, para exposição às cepas de campo do PRV, utilizando-se o teste Anti-PRV-gpl.

## Descrição e Princípios

O teste IDEXX PRV/ADV gl gpl é realizado em cavidades impregnadas com antígeno PRV utilizando amostras de soro diluídas na proporção 1:2. Durante a primeira incubação, os anticorpos PRV presentes no soro, incluindo aqueles produzidos contra o gpl, reagem com os antígenos da placa. Após a lavagem, o conjugado contendo anticorpos monoclonais Anti-PRV-gpl é adicionado e passa, então, a competir pelo antígeno viral gpl da placa durante a segunda incubação. Se não existirem anticorpos gpl no soro, os anticorpos gpl do conjugado estarão livres para reagirem com o antígeno gpl da placa. Por outro lado, se anticorpos gpl estiverem presentes no soro, os anticorpos monoclonais conjugados por enzima são impedidos de reagir com o antígeno. Após este período de incubação, o conjugado não reagente é removido pela lavagem e a solução de substrato/cromógeno é adicionada. Na presença da enzima o substrato reage gerando a coloração azul. A absorbância a 650nm A(650) deve ser mensurada com auxílio de um espectrofotômetro. Os resultados são calculados dividindo-se o A(650) da amostra pela média A(650) do controle negativo (A/N). A quantidade de anticorpos anti gpl é inversamente proporcional ao A(650) e, conseqüentemente ao valor A/N. A presença de anticorpos anti-PRV, incluindo anti-gpl, indica exposição prévia à cepa de campo ou à vacinas vivas ou inativadas. A presença de anticorpos detectada pelo IDEXX PRV/ADV gB associada à ausência de anticorpos contra o antígeno gpl confirmada pelo IDEXX PRV/ADV gl, indica resposta a vacina gpl-deletada.

Reagentes		Volume	
1	Placa Impregnada com Antígeno de PRV	6	30
2	Controle Positivo — soro diluído Anti-PRV gpl de suíno; conservado com azida sódica	1 x 5,0 ml	1 x 5,0 ml
3	Controle Negativo — soro de suíno não reativo para PRV; conservado com azida sódica	1 x 5,0 ml	1 x 5,0 ml
4	Conjugado — conjugado anti-PRV-gpl: HRPO; conservado com gentamicina e Kathon	1 x 60 ml	1 x 350 ml
5	Dilúente de Amostra — conservado com azida sódica	1 x 120 ml	1 x 300 ml
A	Substrato TMB	1 x 60 ml	1 x 315 ml
B	Solução de Interrupção	1 x 60 ml	1 x 315 ml
C	Concentrado de Lavagem (10X) — conservado com gentamicina	1 x 235 ml	3 x 480 ml
<b>Outros componentes:</b> embalagem zip lock.		1	1

**Nota:** Ver a tabela no final do inserte para uma descrição dos símbolos utilizados na 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 micropipetas multicanal
- Ponteiras de pipeta descartáveis
- Proveta graduada para a solução de lavagem
- Leitor de placas para 96 cavidades (equipado com filtro 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
- Vórtex ou equivalente

## **Precauções e Advertências**

- Manipular todos os materiais biológicos como potencialmente infectantes. O antígeno utilizado nos reagentes do kit pode não estar completamente inativado.
- Usar luvas de proteção / vestuário / olhos ou o rosto de proteção ao manusear amostras e reagentes.
- Consultar o Ficha de Segurança 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-se 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 e não misturar componentes de kits de lotes diferentes.

## **Preparação da Solução de Lavagem**

O Concentrado de Lavagem deve ser trazido à 18–26°C e misturado de forma a garantir a dissolução de quaisquer sais precipitados. O Concentrado de Lavagem deve ser diluído 1/10 com água destilada/deionizada antes da utilização (p. ex., 30 ml de concentrado mais 270 ml de água por placa a ser testada).

## **Preparação dos Amostras**

Dilua as amostra a uma razão de 1:2 com o diluente de amostra (por exemplo, diluindo-se 125  $\mu$ l de amostra com 125  $\mu$ l de Diluente de Amostra). Assegure-se de mudar as ponteiras de pipeta para cada amostra e de registrar a posição de cada amostra. Homogenize as amostras antes de pipetá-las nas placas impregnadas com PRV.

## Procedimento de Teste

Permitir que os reagentes atinjam 18–26°C, então mesclar gentilmente através de inversão ou movimentos circulares leves.

- 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 Distribuir 100  $\mu$ l de Controle Negativo (CN) (DILUÍDO A 1:2) em duplicata ou triplicata.

---

- 3 Distribuir 100  $\mu$ l de Controle Positivo (CP) (DILUÍDO A 1:2) em duplicata.

---

- 4 Distribuir 100  $\mu$ l de amostra DILUÍDA nas cavidades apropriadas.

---

- 5 Incubar por 60 minutos ( $\pm$  5 min.) à 18–26°C ou overnight à 2–8°C.

---

- 6 Remover o conteúdo líquido das cavidades da placa e lavar cada cavidade com aproximadamente 300  $\mu$ l de Solução de Lavagem por 3–5 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.

---

- 7 Distribuir 100  $\mu$ l de Conjugado em cada cavidade.

---

- 8 Incubar por 20 minutos ( $\pm$  1 min.) à 18–26°C.

---

- 9 Repetir passo 6.

---

- 10 Distribuir 100  $\mu$ l de Substrato TMB em cada cavidade.

---

- 11 Incubar por 15 minutos ( $\pm$  1 min.) à 18–26°C.

---

- 12 Distribuir 50  $\mu$ l de Solução de Interrupção em cada cavidade.

---

- 13 Meça e registre a densidade óptica A(650) das amostras e controles.

#### 14 Cálculos:

##### Controles

$$CN\bar{x} = \frac{A1 A(650) + A2 A(650) + A3 A(650)*}{3}$$

$$CP\bar{x} = \frac{A4 A(650) + A5 A(650)}{2}$$

\*No exemplo os controles negativos foram corridos em triplicata.

---

##### Critérios de Validade

$$CN\bar{x} - CP\bar{x} \geq 0,300$$

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

---

##### Amostras

$$A/N = \frac{\text{Amostra A(650)}}{CN\bar{x}}$$

A presença ou ausência de anticorpos contra o antígeno gpl é determinada calculando-se o valor A/N de cada amostra.

---

#### 15 Interpretação:

Negativas	Suspeitas	Positivas*
$A/N > 0,70$	$0,60 < A/N \leq 0,70$	$A/N \leq 0,60$

\*Confirme todos os positivos em duplicata.

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

## **Bibliografia**

1. Gustafson DP. "Pseudorabies." Leman AD, Glock RD, Mengeling WL, Penny RH, Scholl E, Straw B, eds. Disease of Swine, 5th ed. Ames, Iowa: The Iowa State University Press; 1984:209-223.

### **Para assistência técnica:**

IDEXX EUA Tel: +1 800 548 9997 ou +1 207 556 4895

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

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

### **PRODUTO IMPORTADO. USO VETERINÁRIO.**

REPRESENTANTE, IMPORTADOR E DISTRIBUIDOR EXCLUSIVO NO BRASIL:

IDEXX BRASIL LABORATORIOS LTDA.

Av. Faria Lima 1478- Cj 416

Bairro: Jardim Paulistano/CEP 01472-900/São Paulo-SP

CNPJ: 00.377.455/0001-20

Responsável Andrea Leão Carneiro Frezza CRMV-SP30632

Licenciado no Ministério da Agricultura sob o nº 6.192/97

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.

©2014 IDEXX Laboratories, Inc. Todos os direitos reservados.

## Kit para la detección de Anticuerpos anti-gpl del Virus de la Enfermedad de Aujeszky

Para uso veterinario exclusivo.

### Nombre y uso propuesto

IDEXX PRV/ADV gl es un análisis inmuno-enzimático de IDEXX para la detección de anticuerpos en suero porcino frente al antígeno gpl del virus de la Pseudorabia o Enfermedad de Aujeszky (ADV). La presencia de anticuerpos frente a gpl indica el contacto con cepas de campo de ADV y/o vacunas que contienen el antígeno gpl. En los Estados Unidos, el uso del kit IDEXX PRV/ADV gl está propuesto para su aplicación en el manejo de la piara y la erradicación de la enfermedad de Aujeszky. Cuando se usa con vacunas de ADV gpl negativas, por ejemplo Intervet- Schering Plough Animal Health, y cuando se lleva a cabo en laboratorios autorizados, es un análisis oficial diferencial de la enfermedad de Aujeszky aprobado en los programas de erradicación de esta enfermedad.

### Información general

Tradicionalmente las estrategias usadas para proteger a los cerdos de los efectos de la infección por la enfermedad de Aujeszky han incluido la administración de vacunas convencionales y de ingeniería genética.<sup>1</sup> Los procedimientos serológicos estándar usados para valorar la exposición a ADV después de una vacunación, son de valor limitado ya que no pueden distinguir los cerdos infectados de forma natural de los cerdos vacunados. Se han desarrollado vacunas ADV seguras y eficaces que permiten dicha diferenciación serológica. Las cepas vacunales gpl-negativas no contienen gpl, una glicoproteína vírica aparentemente no esencial presente en todas las cepas virulentas de campo de ADV conocidas. De esta manera el kit IDEXX PRV/ADV gl, siendo específico para anticuerpos frente a gpl, ignora los títulos de anticuerpos en animales vacunados con vacunas gpl-negativas pero detecta los anti-gpl de animales infectados con cepas de campo o vacunados con cepas que contienen el antígeno gpl. La técnica utiliza anticuerpos monoclonales que son específicos para gpl. Antes de vacunar a los cerdos con vacunas gpl-negativas, se pueden analizar usando el kit IDEXX PRV/ADV gB para determinar el estado inmunitario. Posteriormente a la vacunación los cerdos se deberían analizar rutinariamente al menos dos veces al año usando el kit IDEXX PRV/ADV gl para comprobar si ha habido exposición a cepas de campo.

## Descripción y principios

El ensayo IDEXX PRV/ADV gl se lleva a cabo en un pocillo tapizado con antígeno ADV usando una dilución del suero 1:2. Durante la primera incubación, los anticuerpos anti-ADV presentes en el suero, incluyendo aquellos producidos frente a gpl, reaccionan con el antígeno en la placa. Después de un lavado, se añade un conjugado de anticuerpos monoclonales anti-ADV gpl al pocillo donde se le permite competir por el antígeno vírico gpl durante una segunda incubación. Si no hay anticuerpos anti-gpl en el suero, el antígeno gpl no ligado está disponible para reaccionar con los anticuerpos anti-gpl del conjugado. Por el contrario, si hay anticuerpos anti-gpl en el suero, los anticuerpos monoclonales conjugados con el enzima están bloqueados para reaccionar con el antígeno. Después de este periodo de incubación el conjugado que no ha reaccionado se elimina por lavado y se añade una solución sustrato/cromógena. En presencia del enzima, el sustrato se convierte en un producto que reacciona con el cromógeno generando un color azul. La absorbancia se mide usando un espectrofotómetro a 650 nm/A(650). Los resultados se calculan sustrayendo la A(650) de la muestra de la del control negativo y dividiendo dicha diferencia por la A(650) del control negativo. Este cociente se multiplica por 100 para expresar el porcentaje de inhibición (ver "Cálculos"). La cantidad de anticuerpos frente a gpl es inversamente proporcional a la A(650) y directamente proporcional a la inhibición. La presencia de anticuerpos anti-ADV, incluyendo anti-gpl, indican una exposición previa a una cepa de campo de ADV, o la aplicación de vacunas víricas modificadas vivas o inactivadas que contienen gpl. La presencia de anticuerpos anti-ADV detectados por el kit IDEXX PRV/ADV gB junto a la ausencia de anticuerpos frente al antígeno gpl por el kit IDEXX PRV/ADV gl, indica una respuesta a la vacuna gpl-negativa.

Reactivos		Volumen	
1	Placa tapizada con Antígeno ADV	6	30
2	Control Positivo — suero de porcino anti-gpl diluido; conservado con azida de sodio	1 x 5,0 ml	1 x 5,0 ml
3	Control Negativo — suero porcino que no reacciona frente al antígeno ADV gpl; conservado con azida de sodio	1 x 5,0 ml	1 x 5,0 ml
4	Conjugado — anti-ADV gpl: HRPO; conservado con gentamicina y Kathon	1 x 60 ml	1 x 350 ml
5	Diluyente de la Muestra — conservado con azida de sodio	1 x 120 ml	1 x 300 ml
A	Sustrato TMB	1 x 60 ml	1 x 315 ml
B	Solución de Frenado	1 x 60 ml	1 x 315 ml
C	Solución de Lavado Concentrada (10X) — conservada con gentamicina	1 x 235 ml	3 x 480 ml
<b>Otros componentes:</b> 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 650-nm)
- Lavador de microplacas, manual, semiautomática o automática
- Usar sólo agua destilada o desionizada para preparar los reactivos de la prueba
- Vortex o equivalente

## Precauciones y advertencias

- Considerar todo material biológico como potencialmente infeccioso cuando se manipule. El antígeno usado en los reactivos del kit puede no estar completamente inactivado.
- 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 y no mezclar componentes de kits con número de lote distintos.

## Preparación de la Solución de Lavado

La Solución Concentrada de Lavado (10X) debe llevarse a 18–26°C y agitarse para asegurar la disolución de cualquier sal precipitada. La Solución Concentrada de Lavado (10X) debe diluirse 1:10 con agua destilada o desionizada antes de usarla (por ejemplo 30 ml de concentrado más 270 ml de agua por cada placa a analizar).

## Preparación de las Muestras

Diluir las muestras a analizar 1:2 con el Diluyente de la Muestra (por ejemplo disolviendo 125  $\mu$ l de muestra con 125  $\mu$ l de Diluyente de la Muestra). Estar seguro de cambiar las puntas de pipeta para cada muestra. Hay que homogenizar las muestras antes de dispensarse en la placa adsorbida con ADV.

## 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.

- 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  $\mu$ l de Control Negativo (CN) (DILUCIÓN 1:2) en dos o tres pocillos.

---

- 3 Dispensar 100  $\mu$ l de Control Positivo (CP) (DILUCIÓN 1:2) en dos pocillos.

---

- 4 Dispensar 100  $\mu$ l de muestra DILUIDA en los pocillos apropiados.

---

- 5 Incubar 60 minutos ( $\pm$ 5 min.) a 18–26°C o de noche a 2–8°C.

---

- 6 Eliminar el contenido líquido de cada pocillo y lavar cada pocillo con aproximadamente 300  $\mu$ l de Solución de Lavado 3–5 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.

---

- 7 Dispensar 100  $\mu$ l de Conjugado en cada pocillo.

---

- 8 Incubar 20 minutos ( $\pm$ 1 min.) a 18–26°C.

---

- 9 Repetir el paso 6.

---

- 10 Dispensar 100  $\mu$ l de Substrato TMB en cada pocillo.

---

- 11 Incubar 15 minutos ( $\pm$ 1 min.) a 18–26°C.



12 Dispensar 50  $\mu$ l de Solución de Frenado en cada pocillo.

---

13 Medir y registrar la A(650) de las muestras y controles.

---

14 Cálculos:

**Controles**

$$CN\bar{x} = \frac{A1 A(650) + A2 A(650) + A3 A(650)*}{3}$$

$$CP\bar{x} = \frac{A4 A(650) + A5 A(650)}{2}$$

\*En el ejemplo se muestra el Control Negativo analizado por triplicado.

---

**Criterios de Validación**

$$CN\bar{x} - CP\bar{x} \geq 0,300$$

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**

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(CN\bar{x} - \text{Muestra A}(650)) \times 100}{CN\bar{x}}$$

La presencia o ausencia de anticuerpos frente al antígeno se determina calculando en primer lugar el porcentaje de inhibición para cada muestra.

---

15 Interpretación:

Negativo

Dudoso

Positivo\*

% de inhibición < 0,30

$0,30 \leq \% \text{ de inhibición} < 0,40$

% de inhibición  $\geq 0,40$

\*Confirmar todos los resultados positivos por duplicado.

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

## **Bibliografía**

1. Gustafson DP, "Pseudorabies." Leman AD, Glock RD, Mengeling WL, Penny RH, Scholl E, Straw B, eds. Disease of Swine, 5th ed. Ames, Iowa: The Iowa State University Press; 1984:209-223.

### **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)

No. de registro: 1656-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.

©2014 IDEXX Laboratories, Inc. Todos los derechos reservados.

## Aujeszky'sche Krankheit gpl-Antikörper Testkit

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

### Name und Verwendungszweck

IDEXX PRV/ADV gl ist ein Enzymimmunoassay von IDEXX zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Aujeszky'schen Krankheit (ADV = Aujeszky's Disease Virus) in Serum- und Plasmaproben von Schweinen. Das Vorliegen von gpl-Antikörpern gegen ADV deutet auf einen Kontakt mit ADV-Feldstämmen und/oder mit gpl-enthaltenden Impfstoffen hin. In den USA und Deutschland dient der Test zur serologischen Überwachung von Herden und wird bei ADV-Bekämpfungsmaßnahmen eingesetzt. Wird der Test in Verbindung mit gpl-negativen ADV-Impfstoffen eingesetzt, zum Beispiel Intervet- Schering Plough Animal Health und in anerkannten Laboratorien durchgeführt, so gilt er in den USA und Deutschland als offizielle Differentialanalyse von ADV-gpl für die nationalen oder bundesstaatlichen ADV-Bekämpfungsprogramme.

### Allgemeine Informationen

Zu den herkömmlichen Vorgehensweisen zum Schutz von Schweinen vor einer Infektion durch das Virus der Aujeszky'schen Krankheit gehört die Verabreichung von konventionellen und gentechnisch hergestellten ADV-Impfstoffen<sup>1</sup>. Serologische Standardmethoden zur Überwachung des Antikörperstatus nach einer Impfung erweisen sich als nur sehr bedingt aussagefähig, da sie nicht in der Lage sind, ein natürlich infiziertes Schwein von einem geimpften zu unterscheiden. Inzwischen sind Impfstoffe entwickelt worden, die eine klare serologische Unterscheidung ermöglichen. In diesen Impfstoffen liegt das Hüllenprotein gpl nicht vor (als solches bezeichnet man das dem Anschein nach für den Infektionsschutz unwesentliche Virusglykoprotein, das in allen bekannten virulenten Feldstämmen des Virus der Aujeszky'schen Krankheit nachzuweisen ist). Da das IDEXX PRV/ADV gl Testsystem spezifisch Antikörper gegen gpl nachweist, spricht es nicht auf die Antikörper von Tieren an, die mit Aujeszky gpl-negativen Impfstoffen geimpft wurden, identifiziert jedoch Tiere, bei denen eine Infektion durch gpl enthaltende Feldstämme vorliegt, sowie solche Tiere, denen gpl-enthaltende Impfstoffe verabreicht wurden. Das Testprinzip basiert auf monoklonalen Antikörpern, die gpl-spezifisch sind. Vor der Impfung mit gpl-freien Impfstoffen sollten die Tiere zur Bestimmung des Immunstatus entweder mit diesem Test oder mit dem IDEXX PRV/ADV gB getestet werden. Nach der Impfung sollten die Schweine mindestens in halbjährlichem Abstand routinemäßig mit dem Anti-gpl-Test auf ADV-Feldstämme untersucht werden.

## Beschreibung des Testprinzips

Der IDEXX PRV/ADV gI Test wird in einer mit ADV beschichteten Mikrotiterplatte durchgeführt, wobei eine Probenverdünnung von 1:2 benutzt wird. Während der ersten Inkubation reagieren die in der Probe vorliegenden ADV-Antikörper, auch die gegen das gpl gerichteten, mit den Antigenen auf der Festphase. Nach dem nun folgenden Waschvorgang wird ein Konjugat hinzugefügt, das monoklonale Antikörper gegen gpl enthält. In einer zweiten Inkubationsphase können sich die Antikörper des Konjugats an eventuell vorhandene, noch freie gpl-Virusantigene binden. Sind in der Probe keine gpl-Antikörper vorhanden, so können die monoklonalen gpl-Antikörper des Konjugats mit den noch freien gpl-Antigenen reagieren. Wenn jedoch im Testserum gpl-Antikörper vorhanden sind, so wird eine Reaktion der monoklonalen Antikörper des Enzymkonjugats mit dem Antigen verhindert. Im Anschluss an diese Inkubationsphase werden die ungebundenen Bestandteile des Konjugats durch einen weiteren Waschvorgang entfernt. Dann wird eine Substrat/Chromogen-Lösung hinzugefügt. Enzyme verursachen eine Umwandlung des Substrats in eine Substanz, die mit dem Chromogen reagiert und dabei einen blauen Farbstoff freisetzt. Mit Hilfe eines Spektrophotometers misst man die Extinktion zwischen 620 und 650 nm. Die Ergebnisse werden berechnet, indem man den A(650)-Wert der Probe durch den A(650)-Wert der negativen Kontrolle dividiert, wodurch man den P/NK-Wert erhält. Die Menge der gpl-Antikörper ist umgekehrt proportional zum A(650)-Wert und folglich zum P/NK-Wert. Das Vorliegen von ADV-Antikörpern einschließlich Anti-gpl weist auf den vorausgegangenen Kontakt des Tieres mit einem Feldstamm von ADV oder einem gpl-enthaltenden Impfstoff hin. Weist der IDEXX PRV/ADV gB das Vorliegen von ADV-Antikörpern nach, ist jedoch der Nachweis von gpl-Antigen mit dem Anti-ADV-gpl-Test negativ, so ist hierin eine Reaktion auf einen gpl-freien Impfstoff zu sehen.

Reagenzien		Menge	
1	Mit ADV-Antigen beschichtete Testplatte (inaktiviert)	6	30
2	Positive Kontrolle — Schweineserum mit Anti-ADV gpl-Antikörpern; Konservierungsstoff: Natriumazid	1 x 5,0 ml	1 x 5,0 ml
3	Negative Kontrolle — Auf ADV nicht-reaktives Schweineserum; Konservierungsstoff: Natriumazid	1 x 5,0 ml	1 x 5,0 ml
4	Konjugat — Anti-ADV-gpl: HRPO Konjugat; Konservierungsstoff: Gentamicin und Kathon	1 x 60 ml	1 x 350 ml
5	Probenverdünnungspuffer — Konservierungsstoff: Natriumazid	1 x 120 ml	1 x 300 ml
A	TMB-Substrat	1 x 60 ml	1 x 315 ml
B	Stopplösung	1 x 60 ml	1 x 315 ml
C	Waschkonzentrat (10X) — Konservierungsstoff: Gentamicin	1 x 235 ml	3 x 480 ml
<b>Sonstige Komponenten:</b> Plastikbeutel mit Druckverschluss.		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 620 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

## Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

- Alle biologischen Substanzen als potenziell infektiös behandeln. Das in den Reagenzien des Kits verwendete Antigen wurde möglicherweise nicht vollständig inaktiviert.
- 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.
- 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 und nicht mit Bestandteilen aus anderen Chargen vermischen.

## Vorbereitung der Waschlösung

Das Waschkonzentrat (10X) vor der Benutzung auf 18–26°C erwärmen lassen. Eventuell vorhandene Salzkristalle durch leichtes Schütteln auflösen. Waschkonzentrat (10X) 1/10 mit destilliertem oder demineralisiertem Wasser verdünnen (z.B. 30 ml Waschkonzentrat plus 270 ml Wasser pro Mikrotiterplatte).

## Vorbereitung der Proben

Proben/Kontrollen vor dem Test 1:2 mit dem Probenverdüpfungspuffer verdünnen (z.B. 125  $\mu\text{l}$  Proben mit 125  $\mu\text{l}$  Probenverdünner). Wir empfehlen, die Verdünnung in unbeschichteten Platten oder Probenverdünnungsröhrchen vorzunehmen und dann Reihe für Reihe mit Hilfe einer Mehrkanalpipette auf die Mikrotiterplatte zu übertragen. Die Verdünnung kann jedoch auch direkt in den Mikrotiterplatten erfolgen, indem man zunächst die Probenverdünnungslösung und dann die entsprechenden Proben/Kontrollen in die Vertiefungen einbringt. Bei Anwendung dieser Technik ist die für die Probenverdünnung benötigte Zeitspanne möglichst kurz zu halten.

## Testanweisung

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

- 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  $\mu\text{l}$  negative Kontrolle (NK) (VERDÜNNUNG 1/2) in zwei oder drei Vertiefungen geben.

---

- 3 100  $\mu\text{l}$  positive Kontrolle (PK) (VERDÜNNUNG 1/2) in zwei Vertiefungen geben.

---

- 4 100  $\mu\text{l}$  VERDÜNNTE Probe in die entsprechenden Vertiefungen geben.

---

- 5 60 Minuten ( $\pm$  5 Minuten) bei 18–26°C oder über Nacht bei 2–8°C inkubieren.

---

- 6 Den flüssigen Inhalt aus den Vertiefungen entfernen und sodann mit etwa 300  $\mu\text{l}$  Waschlösung 3- bis 5-mal waschen. Dabei ein Austrocknen der Platte zwischen den Waschschritten und der Zugabe des nächsten Reagenz vermeiden. Nach dem letzten Waschen die Platte auf saugfähigem Material ausklopfen, um verbleibende Restflüssigkeit zu entfernen.

---

- 7 100  $\mu\text{l}$  Konjugat in jede Vertiefung geben.

---

- 8 20 Minuten ( $\pm$  1 Minute) bei 18–26°C inkubieren.

---

- 9 Schritt 6 wiederholen.

---

- 10 100  $\mu\text{l}$  TMB-Substrat in jede Vertiefung geben.

---

- 11 15 Minuten ( $\pm$  1 Minute) bei 18–26°C inkubieren.

---

- 12 50  $\mu\text{l}$  Stopplösung in jede Vertiefung geben.

---

- 13 Die Extinktionswerte der Proben und Kontrollen zwischen 620 und 650 nm messen und notieren.

## 14 Berechnungen:

### Kontrollen

$$NK\bar{x} = \frac{A1 A(650) + A2 A(650) + A3 A(650)^*}{3}$$

$$PK\bar{x} = \frac{A4 A(650) + A5 A(650)}{2}$$

\*Das Beispiel zeigt die negative Kontrolle im Dreifachansatz.

---

### Validitätskriterien

$$NK\bar{x} - PK\bar{x} \geq 0,300$$

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

---

### Proben

$$P/NK = \frac{\text{Probe A(650)}}{NK\bar{x}}$$

Das Vorhandensein oder Fehlen von Antikörpern gegen das ADV-gpl-Antigen wird festgestellt, indem man zunächst den P/NK-Wert für jede Probe berechnet.

---

## 15 Interpretation:

Negativ	Fraglich	Positiv*
$P/NK < 0,30$	$0,30 \leq P/NK < 0,40$	$P/NK \geq 0,40$

\*Es wird empfohlen alle positiven Ergebnisse im Doppelansatz nachzutesten.

**Hinweis:** IDEXX bietet auch Geräte und Softwaresysteme zur Berechnung der Ergebnisse und zur Datenverarbeitung an.

## Literaturverzeichnis

1. Gustafson DP, "Pseudorabies." Leman AD, Glock RD, Mengeling WL, Penny RH, Scholl E, Straw B, eds. Disease of Swine, 5th ed. Ames, Iowa: The Iowa State University Press;1984:209-223.

### 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.: BGAF-B 030

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.

©2014 IDEXX Laboratories, Inc. Alle Rechte vorbehalten.



## WARNING / ATTENTION / ATENCIÓN / ATENÇÃO / ACHTUNG



### H316 / P332+P313 / EUH208

**Conjugate** – Causes mild skin irritation. If skin irritation occurs: Get medical advice/attention. Contains Kathon. May produce an allergic reaction.

---

**Conjugué** – Provoque une légère irritation cutanée. En cas d'irritation cutanée: consulter un médecin. Contient Kathon. Peut produire une réaction allergique.

---

**Conjugado** – Causa uma irritação suave da pele. Em caso de irritação cutânea: consulte um médico. Contém Kathon. Pode provocar uma reação alérgica.

---

**Conjugado** – Provoca una leve irritación cutánea. En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico. Contiene Kathon. Puede provocar una reacción alérgica.

---

**Konjugat** – Verursacht milde Hautreizungen. Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Enthält Kathon. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.

### H319 / P280 / P337+P313

**Sample Diluent** – Causes serious eye irritation. Wear eye protection/face protection. If eye irritation persists: Get medical advice/attention.

---

**Diluant des échantillons** – Provoque une sévère irritation des yeux. Porter un équipement de protection des yeux/du visage. Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin.

---

**Diluyente de Amostra** – Provoca irritação ocular grave. Usar proteção ocular/proteção facial. Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

---

**Diluyente de la Muestra** – Provoca irritación ocular grave. Llevar gafas/máscara de protección. Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

---

**Probenverdünnungspuffer** – Verursacht schwere Augenreizung. Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

**Stop solution** – Causes mild 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.

---

**Solution d'arrêt** – Provoque une légère 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

---

**Solução de Interrupção** – Causa uma irritação suave da pele. Provoca irritação ocular grave. Usar luvas de protecção/protecção ocular/protecção facial. Em caso de irritação cutânea: consulte um médico. Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

---

**Solución de Frenado** – Provoca una leve 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.

---

**Stopplösung** – Verursacht milde 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.

## 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 / Limite 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 importante nas instruções de uso Modificación importante en el manual de instrucciones Wesentliche Änderung der Gebrauchsinformation Modifica importante nell'inserto tecnico

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

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

[idexx.com](http://idexx.com)

**IDEXX**