



Avian Influenza Virus Antibody Test Kit, ELISA

(MultiS-Screen)

Trousse de détection d'anticorps contre le virus de l'influenza aviaire, ELISA

(MultiS-Screen)

Kit para Detecção de Anticorpo Contra o Vírus da Influenza Aviária, ELISA

(MultiS-Screen)

Kit para la detección de Anticuerpos frente al Virus de la Influenza Aviar, ELISA

(MultiS-Screen)

Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Aviären Influenza, ELISA

(MultiS-Screen)

Avian Influenza Virus Antibody Test Kit, ELISA (MultiS-Screen)

For veterinary use only.

Name and Intended Use

IDEXX AI MultiS-Screen Test Kit is IDEXX's enzyme immunoassay for the detection of antibody to avian influenza virus (AI) in chicken, turkey, duck, ostrich and goose serum.

General Information

Domestic and wild avian species are affected by avian influenza viruses. The disease is characterized by a wide range of responses that include virtually no clinical signs to high mortality. Respiratory signs are common, along with drop in egg production, greenish diarrhea, bloodstained nasal and oral discharges, and cyanosis and edema of the head, comb and wattle. Because of the variation and severity of clinical symptoms, serological testing produces significant advantages to the detection of infected birds. Monitoring for exposure of a flock to AI is facilitated by the measurement of antibody to AI in serum.

Descriptions and Principles

This assay is designed to measure the relative level of antibody to AI in chicken, turkey, duck, ostrich and goose serum. The assay is performed on 96-well plates that have been coated with avian influenza viral antigen. Upon incubation of the test sample in the coated wells, AI specific antibody forms a complex with the coated antigen. After washing away unbound material, an anti-AI monoclonal antibody enzyme conjugate is added to the wells. In the absence of AI antibodies in the test sample, the conjugate is free to bind to the AI antigen on the plate. Conversely, if there are antibodies to AI present in the sample, the anti-AI conjugate is blocked from binding to the antigen. Unbound conjugate is washed away and enzyme substrate is added. Subsequent color development is inversely proportional to the amount of anti-AI antibodies in the test sample.

Reagents		Volume
1	AI Antigen Coated Plate	5
2	Positive Control — diluted chicken anti-AI serum; preserved with sodium azide	1 x 2.0 mL
3	Negative Control — diluted chicken serum non-reactive to AI; preserved with sodium azide	1 x 2.0 mL
4	Conjugate — anti-AI: HRPO conjugate; preserved with gentamicin and Kathon	1 x 55 mL
5	Sample Diluent —buffer, preserved with sodium azide	1 x 235 mL
A	TMB Substrate	1 x 60 mL
B	Stop Solution	1 x 60 mL
C	Wash Concentrate (10X) — preserved with gentamicin	1 x 235 mL

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 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.

Preparation of Wash Solution

The 10X Wash Concentrate must be brought to 18–26°C and mixed to ensure dissolution of any precipitated salts. The Wash Concentrate 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 tenfold (1/10) with sample diluent prior to being assayed (e.g., by diluting 15 μL of sample with 135 μL of sample diluent). **NOTE: DO NOT DILUTE CONTROLS.** Be sure to change tips for each sample. Samples must be thoroughly mixed prior to dispensing into the 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.

- 2 Dispense 100 μL of UNDILUTED Negative Control (NC) into duplicate wells.

- 3 Dispense 100 μL of UNDILUTED Positive Control (PC) into duplicate wells.

- 4 Dispense 100 μL of DILUTED sample into appropriate wells.

- 5 Incubate for 60 minutes (± 5 minutes) at 18–26°C.

- 6 Remove the solution and wash each well with approximately 350 μL 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 μL of Conjugate into each well.

- 8 Incubate for 30 minutes (± 2 minutes) at 18–26°C.

- 9 Repeat step 6.

- 10 Dispense 100 μL of TMB Substrate into each well.

- 11 Incubate for 15 minutes (± 1 minute) at 18–26°C.

- 12 Dispense 100 μL of Stop Solution into each well.

- 13 Measure and record absorbance values at 650nm, A(650).

14 Calculations:

Controls

$$NC\bar{x} = \frac{NC1\ A(650) + NC2\ A(650)}{2}$$

$$PC\bar{x} = \frac{PC1\ A(650) + PC2\ A(650)}{2}$$

Validity criteria

$$NC\bar{x} \geq 0.600$$

$$PC\bar{x} / NC\bar{x} < 0.50$$

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 AI is determined by the sample to negative (S/N) ratio for each sample.

15 Interpretation:

Negative
$S/N \geq 0.50$

Positive
$S/N < 0.50$

Heat inactivation of samples may adversely affect results and should be avoided.

Note: IDEXX has instrument and software systems available which 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/contactIpd

U.S. Vet. License No. 313

Product Code: 5004.20

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

© 2015 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved.

Trousse de détection d'anticorps contre le virus de l'influenza aviaire, ELISA (MultiS-Screen)

Réservé à l'usage vétérinaire.

Définition et application

IDEXX AI MultiS-Screen est une trousse IDEXX de dosage immunoenzymatique pour la détection d'anticorps contre le virus de l'influenza aviaire (IA) dans le sérum de poulet, de dinde, de canard, d'autruche et d'oie.

Informations Générales

Les espèces aviaires domestiques et sauvages sont affectées par les virus de l'influenza aviaire. Les manifestations cliniques de cette maladie peuvent varier de pratiquement aucun signe clinique à un taux de mortalité élevé. On remarque fréquemment des signes respiratoires, ainsi qu'une diminution de la production d'oeufs, une diarrhée verdâtre, un écoulement nasal et oral présentant des taches de sang, et une cyanose et de l'œdème de la tête, de la crête et du barbillon. Compte tenu de la variation et de la gravité des symptômes cliniques, il est très avantageux d'effectuer des tests de dépistage sérologique pour détecter les oiseaux infectés. Au niveau d'un élevage, ce dépistage est facilité par la détection d'anticorps contre l'IA dans le sérum.

Description et principe

Ce test a été conçu afin de mesurer le taux relatif d'anticorps contre l'IA dans le sérum de poulet, de dinde, de canard, d'autruche et d'oie. Le test est effectué dans des plaques de 96 puits qui ont été préalablement sensibilisées avec des antigènes de l'IA. Après incubation des échantillons dans les puits, des anticorps spécifiques anti-IA forment un complexe avec les antigènes. Après lavage du matériel non lié, un conjugué immunoenzymatique monoclonal anti-IA est ajouté aux puits. En l'absence d'anticorps anti-IA dans l'échantillon testé, le conjugué peut se lier aux antigènes de l'IA au niveau de la plaque. Inversement, s'il y a présence d'anticorps anti-IA dans l'échantillon, le conjugué anti-IA ne pourra pas se lier aux antigènes. Le conjugué non lié est lavé et un substrat enzymatique est ajouté. L'apparition subséquente de couleur est inversement proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-IA dans l'échantillon testé.

Réactifs

		Volume
1	Plaque sensibilisée avec des antigènes IA	5
2	Contrôle positif — anticorps de poulet anti-IA sérum dilués; conservateur: azoture de sodium	1 x 2,0 ml
3	Contrôle négatif — sérum de poulet dilué sans anticorps anti-IA; conservateur: azoture de sodium	1 x 2,0 ml
4	Conjugué — anti-IA peroxydase de raifort (HRPO); conservateur: gentamicine et Kathon	1 x 55 ml
5	Diluant des échantillons — tampon, conservateur: azoture de sodium	1 x 235 ml
A	Substrat TMB	1 x 60 ml

B	Solution d'arrêt	1 x 60 ml
C	Concentré de lavage (10X)— conservateur: gentamicine	1 x 235 ml

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 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 trousses après leur date de péremption.

Préparation de la solution de lavage

Amener le concentré de lavage (10X) à 18–26°C et bien l'homogénéiser pour dissoudre tout précipité. Le concentré de lavage doit être dilué au 1/10 avec de l'eau distillée ou désionisée (par exemple: 30 ml de concentré de lavage et 270 ml d'eau distillée par plaque à tester).

Préparation des échantillons

Diluer tout d'abord les échantillons testés dans le diluant (dilution 1/10) – p.ex., en diluant 15 µl d'échantillon dans 135 µl de diluant. **REMARQUE: NE DILUEZ PAS LES CONTRÔLES.** Assurez-vous de changer d'embout pour chaque échantillon. Les échantillons doivent être bien mélangés avant d'être distribués dans la plaque.

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.
- 2 Distribuer 100 µl de contrôle négatif (CN) NON DILUÉ dans deux cupules.
- 3 Distribuer 100 µl de contrôle positif (CP) NON DILUÉ dans deux cupules.
- 4 Distribuer 100 µl de chaque échantillon PRÉ-DILUÉ à tester dans les cupules appropriés.
- 5 Incuber pendant 60 minutes (± 5 minutes) à 18–26°C.
- 6 Éliminer le liquide contenu dans les puits de la microplaque et laver 3–5 fois chaque puits avec environ 350 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 puits.
- 8 Incuber pendant 30 minutes (± 2 minutes) à 18–26°C.
- 9 Répéter l'étape 6.
- 10 Distribuer 100 µl de substrat TMB dans chaque puits.
- 11 Incuber pendant 15 minutes (± 1 minute) à 18–26°C.
- 12 Distribuer 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puits.
- 13 Mesurer la densité optique des échantillons et des contrôles à l'aide d'un spectrophotomètre en monochromatisme à 650 nm.

14 Calculs:

Contrôles

$$CN\bar{x} = \frac{CN1\ A(650) + CN2\ A(650)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{CP1\ A(650) + CP2\ A(650)}{2}$$

Critères de validité

$$CN\bar{x} \geq 0,600$$

$$CP\bar{x} / CN\bar{x} < 0,50$$

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

Échantillons

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

La présence ou l'absence d'anticorps anti-IA est déterminée par le ratio échantillon/contrôle négatif (E/N) pour chaque échantillon.

15 Interprétation:

Négatifs

$$E/N \geq 0,50$$

Positifs

$$E/N < 0,50$$

L'inactivation thermique des échantillons peut affecter les résultats et devrait être évitée.

Remarque: 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 votre distributeur ou visitez notre site web:
idexx.com/contactlpd

Perm. vét. des É.-U. N° 313

Code de produit: 5004.20

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.

© 2015 IDEXX Laboratories, Inc. Tous droits réservés.

Kit para Detecção de Anticorpo Contra o Vírus da Influenza Aviária, ELISA (MultiS-Screen)

Para uso exclusivamente veterinário.

Nome e Indicações

O Kit IDEXX AI MultiS-Screen é um ensaio imunoenzimático da IDEXX para a detecção de anticorpos do vírus da gripe aviária (IA) em soro galinha, peru, pato, avestruz e ganso.

Informações Gerais

As espécies de aves domésticas e silvestres são afetadas pelos vírus da gripe aviária. A doença é caracterizada por uma ampla gama de respostas, que inclui desde virtualmente nenhum sintoma até a alta mortalidade. Sintomas respiratórios são comuns, juntamente com a queda da produção de ovos, diarreia esverdeada, secreções nasal e oral e cianose e edema da cabeça, crista e barbelas. Devido à variação e gravidade dos sintomas clínicos, os testes serológicos produzem vantagens significativas para a detecção de aves infectadas. O monitoramento da exposição de um lote à gripe.

Descrição e Princípios

Este ensaio foi criado para medir o nível relativo de anticorpos da gripe aviária no soro galinha, peru, pato, avestruz e ganso. O ensaio é realizado em placas de 96 cavidade que foram revestidas com antígeno do vírus da gripe aviária. Após a incubação da amostra de teste nas cavidades revestidas, o anticorpo específico IA forma um complexo com a camada de antígeno. Após a lavagem de qualquer material não ligado, um conjugado formado por anticorpo monoclonal anti-IA e enzima é adicionado às cavidades. Se nenhum anticorpo IA estiver presente na amostra de teste, o conjugado está livre para reagir com o antígeno IA presente na placa. Por outro lado, se houver anticorpos da gripe aviária presentes na amostra, a ligação entre o conjugado anti-IA e o antígeno é bloqueada. O conjugado não ligado é eliminado na lavagem e um substrato de enzima é adicionado. O desenvolvimento subsequente de cor é inversamente proporcional à quantidade de anticorpos anti-IA na amostra de teste.

Reagentes

Volume

1	Placa Impregnada com Antígeno de IA	5
2	Controle Positivo — anti-IA de galinha diluído soro; conservado com azida sódica	1 x 2,0 ml
3	Controle Negativo — soro de galinha diluído não reativo para IA; conservado com azida sódica	1 x 2,0 ml
4	Conjugado — conjugado HRPO: Anti-IA conservado com gentamicina e Kathon	1 x 55 ml
5	Diluyente de amostra — tamponado, conservado com azida sódica	1 x 235 ml
A	Substrato TMB	1 x 60 ml
B	Solução de interrupção	1 x 60 ml
C	Concentrado de lavagem (10X) — conservado com gentamicina	1 x 235 ml

Nota: Ver a tabela no final do inserto para uma descrição dos símbolos utilizados na inserto 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
- Ponteiros 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)
- Usar 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 protecção / vestuário / protetores para o rosto e oculares ao manusear amostras e reagentes.
- Consultar a ficha de segurança do produto para informações adicionais.
- Ver no final do protocolo as medidas de prevenção relacionadas aos perigos potenciais de alguns 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.

Preparação dos solução de lavagem

O Concentrado de lavagem 10X deve alcançar a temperatura ambiente de 18–26°C e misturado para assegurar a dissolução de qualquer sal precipitado. O Concentrado de lavagem deve ser diluído a 1/10 com água destilada/deionizada antes do uso (por ex., 30 ml de concentrado misturado a 270 ml de água por placa de ensaio).

Preparação dos Amostras

Dilua as amostras de teste na proporção de 1/10 com diluente de amostra antes do ensaio (por ex., ao diluir 15 μl de amostra com 135 μl de diluente de amostra). **NOTA: NÃO DILUA OS CONTROLES.** Certifique-se de trocar as pontas para cada amostra. As amostras devem ser completamente misturadas antes da distribuição.

Procedimento de Teste

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

- 1 Obter a(s) placa(s) impregnadas(s) de antígeno e registrar a posição da amostra.

- 2 Distribuir 100 μl de Controle Negativo (CN) NÃO DILUÍDO em duplicata.

- 3 Distribuir 100 μl de Controle Positivo (CP) NÃO DILUÍDO em duplicata.

- 4 Distribuir 100 μl de amostra DILUÍDA nas cavidades apropriadas.

- 5 Incubar por 60 minutos ($\pm$ 5 minutos) à 18–26°C.

- 6 Remover o conteúdo líquido das cavidades da placa e lavar cada cavidade com aproximadamente 350 μl 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 μl de Conjugado em cada cavidade.

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

- 9 Repetir o passo 6.

- 10 Distribuir 100 μl de Substrato TMB em cada cavidade.

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

- 12 Distribuir 100 μl de Solução de Interrupção em cada cavidade.

- 13 Medir e registrar os valores de absorbância a 650 nm, A(650).

14 Cálculos:

Controles

$$CN\bar{x} = \frac{CN1\ A(650) + CN2\ A(650)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{CP1\ A(650) + CP2\ A(650)}{2}$$

Critérios de Validade

$$CN\bar{x} \geq 0,600$$

$$CP\bar{x} / CN\bar{x} < 0,50$$

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 anticorpo para AI é determinada pela razão amostra por negativo (A/N) para cada amostra.

15 Interpretação:

Negativas

$$A/N \geq 0,50$$

Positivas

$$A/N < 0,50$$

A inativação térmica de amostras pode prejudicar os resultados, pelo que deverá ser evitada.

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

Contacte o representante local ou distribuidor IDEXX ou visite: idexx.com/contactlpd

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.

© 2015 IDEXX Laboratories, Inc. Todos os direitos reservados.

Kit para la detección de Anticuerpos frente al Virus de la Influenza Aviar, ELISA (MultiS-Screen)

Para uso veterinario exclusivo.

Nombre y uso propuesto

El kit IDEXX AI MultiS-Screen es un inmunoensayo enzimático de IDEXX para la detección de anticuerpos frente al virus de la influenza aviar (IA) en suero de gallina, pavo, avestruz y ganso.

Información general

Las especies aviares domésticas y silvestres se ven afectadas por los virus de la influenza aviar. La enfermedad en sí se caracteriza por una amplia variedad de respuestas, que van desde la ausencia virtual de signos clínicos hasta mortalidad alta. Son comunes los signos respiratorios, junto con la caída de la puesta de huevos, diarrea verdosa, secreciones nasales y orales sanguinolentas, y cianosis y edemas en cabeza, cresta y barba. Debido a la variación y gravedad de los síntomas clínicos, las pruebas serológicas nos aportan importantes ventajas para la detección de aves infectadas. La vigilancia de la exposición de un grupo de aves a la influenza se facilita con la medición de anticuerpos frente al virus de la influenza aviar en el suero.

Descripción y principios

Este ensayo está diseñado para medir el nivel relativo de anticuerpos frente a la influenza aviar en suero de gallina, pavo, pato, avestruz y ganso. El ensayo se realiza en placas de 96 pocillos que se tapizan con el antígeno viral de la influenza aviar. Tras la incubación de la muestra a analizar en los pocillos tapizados, el anticuerpo específico frente a la IA forma un complejo con el antígeno. Tras eliminar el material no unido, se añade un conjugado enzimático de anticuerpos monoclonales anti-IA a los pocillos. Si no hay anticuerpos frente a la IA presentes en la muestra a analizar, el conjugado puede reaccionar libremente con el antígeno de la IA presente en la placa. Al contrario, si hay anticuerpos frente a la influenza aviar presentes en la muestra, el conjugado anti-IA no puede unirse al antígeno. El conjugado no unido se elimina mediante lavado y se añade un sustrato enzimático. El color que aparece a continuación es inversamente proporcional a la cantidad de anticuerpos anti-IA en la muestra a analizar.

Reactivos		Volumen
1	Placa tapizada con Antígeno de IA	5
2	Control Positivo — suero de gallina anti-IA diluido, conservado con azida de sodio	1 x 2,0 ml
3	Control Negativo — suero de gallina diluido; no reactivo en IA, conservado con azida de sodio	1 x 2,0 ml
4	Conjugado — conjugado anti-IA con peroxidasa de rábano (HRPO); conservado con gentamicina y Kathon	1 x 55 ml
5	Diluyente de la Muestra — solución tampón, conservado con azida de sodio	1 x 235 ml
A	Substrato TMB	1 x 60 ml

B	Solución de Frenado	1 x 60 ml
C	Solución de Lavado Concentrada (10X) — conservada con gentamicina	1 x 235 ml

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.

Preparación de las solución de lavado

La Solución de Lavado Concentrada (10X) debe dejarse atemperar hasta que alcance temperatura ambiente, 18–26°C, y luego mezclarse para asegurar la disolución de las sales precipitadas existentes. La Solución de Lavado Concentrada (10X) debe diluirse a 1/10 con agua destilada/desionizada antes de utilizarse (por ejemplo, 30 ml de concentrado más 270 ml de agua por placa analizada).

Preparación de las muestras

Diluir las muestras 10 veces (1/10) con el Diluyente de la Muestra antes de analizarlas (por ejemplo, mediante la dilución de 15 μ l de muestra con 135 μ l del diluyente de muestras).

NOTA: NO DILUYA LOS CONTROLES. No olvidar cambiar las puntas para cada muestra.

Las muestras deben estar mezcladas correctamente antes de dispensarlas.

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 con antígeno y anote la posición de las muestras.

- 2 Dispensar 100 μ l de Control Negativo (CN) NO DILUIDO en pocillos por duplicado.

- 3 Dispensar 100 μ l de Control Positivo (CP) NO DILUIDO en pocillos por duplicado.

- 4 Dispensar 100 μ l de muestra DILUIDA en los pocillos correspondientes.

- 5 Incubar durante 60 minutos ($\pm$ 5 minutos) a 18–26°C.

- 6 Eliminar el contenido líquido de cada pocillo y lavar cada pocillo con aproximadamente 350 μ 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 μ l de Conjugado de rábano en cada pocillo.

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

- 9 Repetir el paso 6.

- 10 Dispensar 100 μ l de Substrato TMB en cada pocillo.

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

- 12 Dispensar 100 μ l de Solución de Frenado en cada pocillo.

- 13 Medir y anotar los valores de la absorbancia a 650nm, A(650).

14 Cálculos:

Controles

$$CN\bar{x} = \frac{CN1\ A(650) + CN2\ A(650)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{CP1\ A(650) + CP2\ A(650)}{2}$$

Criterios de Validación

$$CN\bar{x} \geq 0,600$$

$$CP\bar{x}/CN\bar{x} < 0,50$$

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

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

La presencia o ausencia de anticuerpos frente a la IA se determina por la relación muestra-control negativo (M/N) para cada muestra.

15 Interpretación:

Negativo

$$M/N \geq 0,50$$

Positivo

$$M/N < 0,50$$

La inactivación térmica de las muestras podrá afectar de manera adversa a los resultados y deberá evitarse.

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/contactIpd

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.

© 2015 IDEXX Laboratories, Inc. Todos los derechos reservados.

Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Aviären Influenza, ELISA (MultiS-Screen)

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

Name und Verwendungszweck

IDEXX Der AI MultiS-Screen Antikörpertestkit ist ein Enzym Immunoassay von IDEXX zum Nachweis von Antikörpern gegen die Aviäre Influenza (AI) in Hühner-, Puten-, Enten-, Straußen- und Gänseserum.

Allgemeine Informationen

Aviäre Influenzaviren bzw. Vogelgrippeviren infizieren Hausgeflügel und Wildvögel. Die Erkrankung kann verschiedene Ausprägungen annehmen, wobei die Symptome von kaum feststellbar bis hin zu hoher Mortalität reichen. Häufige Symptome sind Atembeschwerden und verringerte Legeleistung, grünlicher Durchfall, blutiger Ausfluss aus Nase und Schnabel, sowie Zyanose und Ödeme an Kopf, Kamm und Kehllappen. Aufgrund der Verschiedenheit und Schwere der klinischen Symptome bieten Bluttests entscheidende Vorteile für den Nachweis von Infektionen bei Vögeln. Die Bestimmung von Serumantikörpern gegen Vogelgrippeviren erleichtert die Überwachung eines Bestands hinsichtlich einer Infektion mit Vogelgrippeviren.

Beschreibung des Testprinzips

Dieser Test wurde entwickelt, um die relative Menge von Antikörpern gegen Vogelgrippeviren in Hühner-, Puten-, Enten-, Straußen- und Gänseserum zu bestimmen. Der Nachweis wird auf Mikrotiterplatten mit 96 Vertiefungen durchgeführt, welche mit Vogelgrippevirusantigen beschichtet sind. Nach Inkubation der Probe in den beschichteten Vertiefungen bildet der für AI spezifische Antikörper einen Komplex mit dem in der Beschichtung enthaltenen Antigen. Nach Entfernung des ungebundenen Probenmaterials durch Waschen, wird ein Konjugat aus Enzym und monoklonalem Anti-AI-Antikörper in die Vertiefungen zugegeben. Wenn keine AI-Antikörper in der Probe vorhanden sind, kann das Konjugat mit dem AI-Antigen auf der Platte reagieren. Im umgekehrten Fall, also bei Vorhandensein von Antikörpern gegen das Vogelgrippevirus in der Probe, wird die Bindung des Anti-AI-Konjugats an das Antigen blockiert. Ungebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt, und es wird ein Enzym-Substrat zugegeben. Die nachfolgende Farbentwicklung ist umgekehrt proportional zur Menge der Anti-AI-Antikörper in der Probe.

Reagenzien

Menge

1	Mit inaktiviertem AI beschichtete Testplatte	5
2	Positive Kontrolle — Verdünnter Anti-AI-Antikörper aus Hühnern; Konservierungsstoff: Natriumazid	1 x 2,0 ml
3	Negative Kontrolle — Verdünntes Hühnerserum ohne Reaktivität gegen Anti-AI; Konservierungsstoff: Natriumazid	1 x 2,0 ml
4	Konjugat — Anti-AI: Meerrettichperoxidase-Konjugat (HRPO); Konservierungsstoff: Gentamicin und Kathon	1 x 55 ml
5	Probenverdünnungspuffer — mit Proteinstabilisatoren; Konservierungsstoff: Natriumazid	1 x 235 ml
A	TMB-Substrat	1 x 60 ml

B	Stopplösung	1 x 60 ml
C	Waschkonzentrat (10X) — Konservierungsstoff: Gentamicin	1 x 235 ml

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 650 nm Messfilter)
- 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 sowie eine genaue Zeiteinteilung während der Testdurchführung sind notwendig, um die Genauigkeit der Werte zu gewährleisten. Für jede Probe und Kontrolle eine neue Pipettenspitze benutzen.
- Substrat nicht starkem Licht oder oxidierenden Mitteln aussetzen. Nur saubere Glas- oder Plastikbehälter benutzen.
- Alle Abfälle vor der Entsorgung ordnungsgemäß dekontaminieren. Den Inhalt im Einklang mit den lokalen, regionalen und nationalen Bestimmungen entsorgen.
- Eine Verunreinigung der Bestandteile des Testkits sorgfältig vermeiden. Keine unbenutzten Reagenzien zurück in die Originalflaschen schütten.
- Die Bestandteile nicht nach Ablauf des Verfalldatums benutzen.

Vorbereitung der Waschlösung

Das 10x Waschkonzentrat auf 18–26°C bringen und mischen, damit sich etwaige Salzkristalle auflösen können. Das Waschkonzentrat muss vor Gebrauch im Verhältnis 1/10 mit destilliertem/ demineralisiertem Wasser verdünnt werden (z. B. 30 ml Konzentrat mit 270 ml Wasser/ Untersuchungsplatte).

Vorbereitung der Proben

Die Testproben werden vorab mit Probenverdünnungsmittel zehnfach (1/10) verdünnt (indem z. B. 15 µl Probe mit 135 µl Probenverdünnungsmittel verdünnt werden). **HINWEIS: KONTROLLEN NICHT VERDÜNNEN.** Darauf achten, dass für jede Probe die Pipettenspitzen gewechselt werden. Die Proben vor dem Pipettieren gründlich mischen.

Testanweisung

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

- 1 Die mit Antigen beschichtete(n) Platte(n) hernehmen und die Position der Proben notieren.

- 2 100 µl UNVERDÜNNTE negative Kontrolle (NK) in zwei Vertiefungen geben.

- 3 100 µl UNVERDÜNNTE positive Kontrolle (PK) in zwei Vertiefungen geben.

- 4 100 µl VERDÜNNTE Serumprobe in die entsprechenden Vertiefungen geben.

- 5 60 Minuten ($\pm$ 5 Minuten) bei 18–26°C inkubieren.

- 6 Den flüssigen Inhalt aus den Vertiefungen entfernen und sodann mit etwa 350 µl 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 µl Konjugat in jede Vertiefung geben.

- 8 30 Minuten ($\pm$ 2 Minuten) bei 18–26°C inkubieren.

- 9 Schritt 6 wiederholen.

- 10 100 µl TMB-Substrat in jede Vertiefung geben.

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

- 12 100 µl Stopplösung in jede Vertiefung geben.

- 13 Die Extinktionswerte bei 650 nm, A(650) messen und notieren.

14 Berechnungen:

Kontrollen

$$NK\bar{x} = \frac{NK1 A(650) + NK2 A(650)}{2}$$

$$PK\bar{x} = \frac{PK1 A(650) + PK2 A(650)}{2}$$

Validitätskriterien

$$NK\bar{x} \geq 0,600$$

$$PK\bar{x} / NK\bar{x} < 0,50$$

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 das Nichtvorhandensein von Antikörpern gegen AI, wird für jede Probe durch das Verhältnis der Absorption der Probe zur Absorption der negative Kontrolle (P/NK-Verhältnis) bestimmt.

15 Interpretation:

Negativ

$$P/NK \geq 0,50$$

Positiv

$$P/NK < 0,50$$

Die Inaktivierung von Proben durch Hitzeeinwirkung kann die Ergebnisse negativ beeinflussen und sollte vermieden werden.

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

Technische Unterstützung:

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

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Kontaktieren Sie Ihren lokalen IDEXX-Vertreter oder besuchen Sie unsere Webseite:
idexx.com/contactIdp

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.

© 2015 IDEXX Laboratories, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

WARNING / ATTENTION / ATENCIÓN / ATENÇÃO / ACHTUNG



H319 / P280 / P337+P313

Positive control / Negative Control / Sample Diluent — Causes skin irritation. Causes serious eye irritation. Wear eye protection. If eye irritation persists: Get medical advice/attention.

Contrôle positif / Contrôle négatif / Diluant des échantillons — Causes skin irritation. Causes serious eye irritation. Wear eye protection. If eye irritation persists: Get medical advice/attention.

Controle Positivo / Controle Negativo / Diluente de Amostra — Provoca irritação ocular grave. Usar proteção ocular. Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

Control Positivo / Control Negativo / Diluyente de la Muestra — Provoca irritación ocular grave. Llevar gafas de protección. Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

Positive Kontrolle / Negative Kontrolle / Probenverdünnungspuffer — Provoca irritación ocular grave. Llevar gafas de protección. Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

H316 / P332+P313

Stop solution — Causes mild skin irritation. Causes serious eye irritation. Wear eye 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 un équipement de protection des yeux. 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 proteção ocular. 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 gafas 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. Augenschutz 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

IDEXX