



Avian Reovirus Antibody Test Kit

Trousse de détection d'anticorps contre le réovirus aviaire

Kit para Detecção de Anticorpos contra Reovírus Aviário

USO VETERINÁRIO

Kit para la detección de Anticuerpos frente al Reovirus Aviar

Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen Aviäre Reo-Viren

IDEXX **REO**

06-01108-14

Test With Confidence™

IDEXX

Avian Reovirus Antibody Test Kit

For veterinary use only.

Name and Intended Use

IDEXX REO is IDEXX's enzyme immunoassay for the detection of antibody to avian reovirus (REO) in chicken serum.

General Information

An assessment of immune status as well as serologic identification of REO requires a measurement of antibody to REO in serum. Enzyme immunoassay systems have proven efficacious in the quantification of antibody levels to REO and facilitate the monitoring of immune status in large flocks.

Descriptions and Principles

This assay is designed to measure the relative level of antibody to REO in chicken serum. Viral antigen is coated on 96-well plates. Upon incubation of the test sample in the coated well, antibody specific to REO forms a complex with the coated viral antigens. After washing away unbound material from the wells, a conjugate is added which binds to any attached chicken antibody in the wells. Unbound conjugate is washed away and enzyme substrate is added. Subsequent color development is directly related to the amount of antibody to REO present in the test sample.

Reagents

Volume

	Reagents	Volume
1	REO Antigen Coated Plate	5
2	Positive Control — diluted chicken anti-REO serum; preserved with sodium azide	1 x 1.9 mL
3	Negative Control — diluted chicken serum non-reactive to REO; preserved with sodium azide	1 x 1.9 mL
4	(Goat) anti-chicken: HRPO conjugate — preserved with gentamicin and Proclin	1 x 50 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

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
- 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 Samples

Dilute test samples five hundred fold (1:500) with sample diluent prior to being assayed (e.g., by diluting 1 μL of sample with 500 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.

- 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. Samples may be tested in duplicate, but a single well is acceptable.

- 5 Incubate for 30 minutes (\pm 2 minutes) at 18–26°C.

- 6 Remove the solution and wash each well with approximately 350 μL of distilled or deionized water 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 (\pm 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 (\pm 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

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

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

Validity criteria

$$\text{PC}\bar{x} - \text{NC}\bar{x} > 0.075$$

$$\text{NC}\bar{x} \leq 0.150$$

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

Samples

$$S/P = \frac{\text{Sample Mean} - \overline{NC\bar{x}}}{\overline{PC\bar{x}} - \overline{NC\bar{x}}}$$

$$\text{Log}_{10} \text{Titer} = 1.09 (\log_{10} S/P) + 3.36^*$$

*Relates S/P at a 1:500 dilution to an endpoint titer

The presence or absence of antibody to REO is determined by relating the A(650) value of the unknown to the Positive Control mean. The Positive Control is standardized and represents significant antibody levels to REO in chicken serum. The relative level of antibody in the sample is determined by calculating the sample to positive (S/P) ratio. Endpoint titers are calculated using the equation described above.

15 Interpretation:

Negative

Positive

$S/P \leq 0.20$

$S/P > 0.20$

A positive result (titer greater than 396) should be considered positive and indicate vaccination or other exposure to REO. Each laboratory should establish its own criterion for immunity with respect to antibody titer based on correlation of IDEXX REO to current laboratory test methodologies and on historical antibody responses to specific vaccines and vaccination protocols. The immune status of a flock is best assessed by monitoring and recording antibody titers in representative samples as a function of time. The resulting flock profiles allow an assessment of the distribution of antibody titers and an analysis of changes in titer over time.

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/contactlpd

U.S. Vet. License No. 313

Product Code: 5008.00

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

© 2016 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved.

Trousse de détection d'anticorps contre le réovirus aviaire

Réservé à l'usage vétérinaire.

Définition et application

IDEXX REO est une trousse de dosage immunoenzymatique mise au point par IDEXX pour la détection d'anticorps contre le réovirus aviaire (REO) à partir du sérum de poulet.

Informations Générales

Le dosage d'anticorps anti-REO présents dans le sérum de l'animal permet d'évaluer le statut immunitaire de ce dernier au regard du REO. Le dosage immunoenzymatique s'est avéré être une méthode efficace pour évaluer le niveau d'anticorps produits par l'organisme contre la maladie et vérifier l'état immunitaire des grands troupeaux.

Description et principe

Le dosage a pour but de mesurer le niveau relatif d'anticorps anti-REO présents dans le sérum des poulets. Chaque plaque est constituée de 96 cupules sensibilisées avec des antigènes du REO. Durant l'incubation, les anticorps spécifiques anti-REO, s'ils sont présents dans l'échantillon à tester, se fixent aux antigènes couplés à la microplaque et forment des complexes Ag-Ac. Les fractions non fixées sont ensuite éliminées par lavage et un conjugué anti-poulet marqué à la peroxydase se lie aux anticorps précédemment fixés. Les fractions non fixées sont éliminées par lavage et la réaction est révélée par l'ajout du substrat de l'enzyme. La coloration obtenue est directement proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-REO présents dans l'échantillon à tester.

Réactifs

Volume

	Réactifs	Volume
1	Microplaque sensibilisée avec des antigènes REO	5
2	Contrôle positif — antisérum de poulet anti-REO dilué; conservateur: azoture de sodium	1 x 1,9 ml
3	Contrôle négatif — sérum de poulet négatif en Ac anti-REO dilué, conservateur: azoture de sodium	1 x 1,9 ml
4	Conjugué — conjugué anti-poulet (chèvre) marqué à la peroxydase de raifort; conservateur: gentamicine et Proclin	1 x 50 ml
5	Diluant des échantillons — conservateur: azoture de sodium	1 x 235 ml
A	Substrat TMB	1 x 60 ml
B	Solution d'arrêt	1 x 60 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
- 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 trousse après leur date de péremption.

Préparation des échantillons

Diluer les échantillons à tester au 1:500 avec le diluant des échantillons (1 μ l de sérum + 500 μ l de diluant). **REMARQUE: NE PAS DILUER LES CONTRÔLES.** Changer d'embout de pipette entre chaque échantillon et homogénéiser les échantillons pré-dilués préalablement à leur distribution dans la microplaque sensibilisée.

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 μ l de contrôle négatif (CN) NON DILUÉ dans deux cupules.
- 3 Distribuer 100 μ l de contrôle positif (CP) NON DILUÉ dans deux cupules.
- 4 Distribuer 100 μ l de chaque échantillon PRÉ-DILUÉ à tester dans les cupules appropriées. Les échantillons peuvent être testés en double mais un test en simple est acceptable.
- 5 Incuber pendant 30 minutes (\pm 2 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 μ l d'eau distillée ou désionisée. 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 μ l de conjugué dans chaque cupule.
- 8 Incuber pendant 30 minutes (\pm 2 minutes) à 18–26°C.
- 9 Répéter l'étape 6.
- 10 Distribuer 100 μ l de substrat TMB dans chaque cupule.
- 11 Incuber pendant 15 minutes (\pm 1 minute) à 18–26°C.
- 12 Distribuer 100 μ l de solution d'arrêt dans chaque cupule.
- 13 Mesurer les valeurs de densité optique des échantillons et des contrôles à l'aide d'un spectrophotomètre en monochromatisme à 650 nm, A(650).

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

$$CP\bar{x} - CN\bar{x} > 0,075$$

$$CN\bar{x} \leq 0,150$$

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

Échantillons

$$E/P = \frac{\text{Moyenne de l'échantillon} - \text{CN}\bar{x}}{\text{CP}\bar{x} - \text{CN}\bar{x}}$$

$$\text{Titre } \log_{10} = 1,09 (\log_{10} E/P) + 3,36^*$$

*Établit le rapport entre E/P (dilution 1:500) et un titre final.

La présence ou l'absence d'anticorps anti-REO est déterminée par la valeur du rapport E/P pour chaque échantillon. Le contrôle positif est calibré et représente un niveau significatif d'anticorps anti-REO dans le sérum de poulet. Le taux relatif d'anticorps présent dans l'échantillon est déterminé en calculant le rapport entre l'échantillon et le Control positif (E/P). Les titres sont calculés selon la formule décrite ci-dessus.

15 Interprétation:

Négatifs

Positifs

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

$$E/P > 0,20$$

Un résultat positif (titre supérieur à 396) indique une vaccination ou une exposition au virus REO. Chaque laboratoire doit établir ses propres critères d'immunité concernant le titre des anticorps obtenus avec IDEXX REO comparé avec ses méthodes d'analyses ainsi que les réponses habituelles des anticorps aux vaccins et aux protocoles de vaccination. L'état immunitaire d'un troupeau est plus facile à déterminer en surveillant et en consignant les titres des anticorps en tant qu'échantillons représentatifs de manière chronologique. Les profils de troupeau qui sont obtenus permettent de déterminer la répartition des titres des anticorps et de suivre l'évolution des titres au fil du temps.

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

Perm. vét. des É.-U. N° 313

Code de produit: 5008.00

IDEXX et Test With Confidence sont des marques de commerce ou des marques déposées d'IDEXX Laboratories, Inc. ou ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays.

© 2016 IDEXX Laboratories, Inc. Tous droits réservés.

Kit para Detecção de Anticorpos contra Reovírus Aviário

Para uso exclusivamente veterinário.

Nome e Indicações

IDEXX REO é um ensaio imunoenzimático da IDEXX para detecção de anticorpos contra Reovírus Aviário (REO) em soro de galinha.

Informações Gerais

Uma avaliação do estado de imunidade, assim como a identificação sorológica do REO, exigem a mensuração dos anticorpos de REO em soro. Os sistemas de imunoensaio enzimáticos provaram ser eficazes na quantificação de níveis de anticorpos de REO e facilitam o monitoramento do estado de imunidade em grandes lotes.

Descrição e Princípios

Este ensaio é designado a medir o nível relativo de anticorpos contra REO em soro de galinha. O antígeno viral é impregnado em placas de 96 cavidades. Após incubação da amostra de teste na cavidade impregnada, os anticorpos específico contra REO formam um complexo com os antígenos virais impregnados. Após a lavagem de material não reagente da cavidade, um conjugado é adicionado, o qual se liga à qualquer anticorpo de galinha preso nas cavidades. O conjugado não reagente é lavado e um substrato enzimático é adicionado. O subsequente desenvolvimento de cor é diretamente relacionado à quantidade de anticorpo contra REO presente na amostra de teste.

Reagentes

Volume

		Volume
1	Placa Impregnada com Antígeno de REO	5
2	Controle Positivo — soro Anti-REO de galinha diluído; conservado com azida sódica	1 x 1,9 ml
3	Controle Negativo — soro de galinha diluído não reativo para REO; conservado com azida sódica	1 x 1,9 ml
4	Conjugado — conjugado Anti-galinha (cabra): HRPO — conservado com gentamicina e Proclin	1 x 50 ml
5	Diluyente da 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

Nota: Ver a tabela no final do inserte para uma descrição dos símbolos utilizados no inserte e nos rótulos deste kit.

Armazenagem

Conservar os reagentes a 2–8°C. Os reagentes são estáveis até a data de validade, desde que sejam devidamente conservados.

Materiais Necessários, mas Não Fornecidos

- Micropipetas de precisão e micropipetas multicanal
- Ponteiras de pipeta descartáveis
- 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 / proteção para olhos ou rosto ao manusear amostras e reagentes.
- Consultar a Ficha de Segurança do produto para informações adicionais.
- Ver no final do protocolo para os perigos e medidas de prevenção relacionados com os reagentes.

Práticas laboratoriais

- Resultados ótimos serão obtidos seguindo-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 Amostras

Diluir as amostras de teste em proporção 1:500 com Diluente de Amostra antes de ser efetuada a análise (por exemplo, diluindo-se 1 μ l de amostra com 500 μ l de Diluente de Amostra).

NOTA: NÃO DILUIR CONTROLES. Certifique-se de trocar as ponteiras para cada amostra.

As amostras devem ser totalmente homogeneizadas antes de distribuídas nas placas impregnadas.

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. As amostras podem ser testadas em duplicata, mas uma única cavidade por amostra é aceitável.

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

- 6 Remover o conteúdo líquido das cavidades da placa e lave cada cavidade com aproximadamente 350 µl de água destilada ou deionizada 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

$$CP\bar{x} - CN\bar{x} > 0,075$$

$$CN\bar{x} \leq 0,150$$

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

Amostras

$$A/P = \frac{\text{Média da Amostra} - \text{CN}\bar{x}}{\text{CP}\bar{x} - \text{CN}\bar{x}}$$

$$\text{Log}_{10} \text{ Título} = 1,09 \times (\log_{10} A/P) + 3,36^*$$

*Relaciona A/P em uma diluição 1:500 com um título final.

A presença ou ausência de anticorpo contra REO é determinada relacionando-se o valor A(650) da amostra com a média do Controle Positivo. O Controle Positivo é padronizado e representa níveis significativos de anticorpo contra REO em soro de galinha. O nível de anticorpo da amostra é determinado calculando-se a razão amostra/positivo (A/P). Os títulos de anticorpos finais são calculados usando a equação descrita acima.

15 Interpretação:

Negativas

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

Positivas

$$A/P > 0,20$$

Os resultados positivos (títulos maiores que 396) indicam vacinação ou exposição ao REO. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios critérios para imunidade com respeito a título de anticorpo baseado em correlação de IDEXX REO com metodologias atuais de teste de laboratório e em históricos de respostas de anticorpo para vacinas e protocolos de vacinação específicos. A condição imunológica de um lote é melhor avaliada pelo monitoramento e registro de títulos de anticorpo em amostras representativas ao longo do tempo. Os perfis de lotes resultantes permitem uma avaliação da distribuição de títulos de anticorpos e uma análise de mudanças de títulos ao longo do tempo.

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

Para assistência técnica:

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

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Contate o representante local ou distribuidor IDEXX ou visite: idexx.com/contactIpd

PRODUTO IMPORTADO. USO VETERINÁRIO.

Licenciado no MAPA sob nº 5.836/1997.

REPRESENTANTE EXCLUSIVO NO BRASIL

IDEXX BRASIL LABORATÓRIOS LTDA. Cotia-SP

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

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

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

IDEXX e Test With Confidence são marcas ou marcas registradas de IDEXX Laboratories Inc. ou de suas filiais nos Estados Unidos e/ou em outros países.

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

Kit para la detección de Anticuerpos frente al Reovirus Aviar

Para uso veterinario exclusivo.

Nombre y uso propuesto

IDEXX REO es un ensayo inmunoenzimático de IDEXX diseñado para la detección de anticuerpos frente al Reovirus Aviar (REO) en suero de pollos.

Información general

La evaluación del estado inmunitario y la identificación serológica del virus REO requiere una medición de anticuerpos frente al virus REO en el suero. Los ensayos inmunoenzimáticos han demostrado ser eficaces en la medición cuantitativa de los niveles de anticuerpos frente al virus REO, y facilitan el seguimiento del estado inmunitario en grupos de aves grandes.

Descripción y principios

Este ensayo está diseñado para medir la concentración relativa de anticuerpos frente al virus REO en suero de pollos. Placas de 96 pocillos se tapizan con antígeno viral. Después de la incubación de la muestra en el pocillo tapizado, se agrega un anticuerpo específico frente al virus REO, que forma un complejo con los antígenos virales. Después de eliminar por lavado el material no unido, se añade a los pocillos un conjugado que se une a los anticuerpos de pollo ligados en los pocillos. El conjugado no unido se elimina por lavado, y se agrega a los pocillos un sustrato enzimático. El cambio de color resultante está directamente relacionado con la cantidad de anticuerpos anti-REO presentes en la muestra.

Reactivos

		Volumen
1	Placa tapizada con Antígeno REO	5
2	Control Positivo — suero de pollo anti REO diluido; conservado con azida de sodio	1 x 1,9 ml
3	Control Negativo — suero de pollo diluido, no reactivo en REO; conservado con azida de sodio	1 x 1,9 ml
4	Conjugado — conjugado (de cabra) anti-pollo: peroxidasa de rábano, conservado con gentamicina y Proclin	1 x 50 ml
5	Diluyente de la Muestra — solución tampón; conservada con azida de sodio	1 x 235 ml
A	Substrato TMB	1 x 60 ml
B	Solución de Frenado	1 x 60 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
- Lector de placas de 96 pocillos (equipado con filtros de 650-nm)
- Lavador de micro, manual, semiautomático o automático
- 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.
- 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 muestras

Diluir las muestras 1:500 con el Diluyente de la Muestra antes de efectuar la prueba (por ejemplo, diluir 1 μ l de la muestra con 500 μ l de Diluyente). **NOTA: NO DILUIR LOS CONTROLES.** Asegurarse de cambiar las puntas de las pipetas cada vez que se tome una muestra. Mezclar bien las muestras antes de añadir las a la placa tapizada con antígeno REO.

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 anotar 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. Las muestras pueden analizarse por duplicado pero el análisis en un solo pocillo es también aceptable.

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

- 6 Eliminar el contenido líquido de cada pocillo y lavar cada pocillo con aproximadamente 350 μ l de agua destilada o desionizada 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 a cada pocillo.

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

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

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

14 Cálculos:

Controles

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

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

Criterios de Validación

$$CP\bar{x} - CN\bar{x} > 0,075$$

$$CN\bar{x} \leq 0,150$$

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

Muestras

$$M/P = \frac{\text{Media de la Muestra} - \text{CN}\bar{x}}{\text{CP}\bar{x} - \text{CN}\bar{x}}$$

$$\text{Log}_{10} \text{ del título} = 1,09 (\text{log}_{10} M/P) + 3,36^*$$

*Relaciona el cociente M/P en una dilución de 1:500 con un título final

La presencia o ausencia de anticuerpos frente al virus REO se determina por medio de una relación entre el valor de A(650) de la muestra con la media del Control Positivo. El Control Positivo está normalizado y representa concentraciones significativas de anticuerpos anti-REO en el suero de pollo. La concentración relativa de anticuerpos en la muestra se determina a través del cálculo del cociente de la absorbancia de la muestra con respecto a la del Control Positivo, M/P. Los títulos finales de anticuerpos se calculan mediante la ecuación descrita arriba.

15 Interpretación:

Negativo

Positivo

M/P % \leq 0,20

M/P % $>$ 0,20

Un resultado positivo (títulos mayores que 396) indican vacunación u otra exposición a REO. Cada laboratorio debe establecer su propio criterio para inmunidad con respecto al título del anticuerpo, de acuerdo con la correlación del kit IDEXX REO con otros métodos de laboratorio actuales, y las respuestas de anticuerpos observadas en el pasado hacia vacunas específicas y protocolos de inmunización. La mejor manera de evaluar el estado inmunitario de un grupo de aves es mediante el control y el seguimiento de los títulos de anticuerpos en muestras representativas en función del tiempo. Los datos resultantes para el grupo permiten evaluar la distribución de los títulos de anticuerpos y analizar los cambios de título en el tiempo.

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

N.º de registro: 3011-RD

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

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

Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen Aviäre Reo-Viren

Nur zum tierärztlichen Gebrauch.

Name und Verwendungszweck

IDEXX REO ist ein Enzymimmunoassay von IDEXX zum Nachweis von Antikörpern gegen aviäre Reo-Viren (REO) in Serumproben von Hühnern.

Allgemeine Informationen

Untersuchungen des Immunstatus eines Bestandes sowie der serologische Nachweis einer REO-Infektion erfordern die quantitative Bestimmung von REO-Antikörpern in Serumproben des Bestandes. Enzymimmunoassays haben sich als effektiv zum Nachweis von Antikörpern gegen REO erwiesen und vereinfachen die Kontrolle des Immunstatus großer Bestände.

Beschreibung des Testprinzips

Das Testsystem dient zur quantitativen Bestimmung von Antikörpern gegen REO in Serumproben von Hühnern. Es wurden Mikrotiterplatten mit Virusantigen beschichtet. Bei der Inkubation der Probe in der beschichteten Vertiefung bilden spezifische Antikörper gegen REO einen Komplex mit dem Virusantigen. Nachdem ungebundenes Material herausgewaschen ist, wird ein Konjugat hinzugefügt, welches sich an alle Antikörper bindet. Im letzten Testschritt wird ungebundenes Konjugat herausgewaschen und ein Enzymsubstrat in die Vertiefungen gegeben. Die darauffolgende Farbentwicklung steht in direkter Korrelation zur Menge von REO-Antikörpern in der Probe.

Reagenzien

Menge

	Reagenzien	Menge
1	Mit REO-Antigen beschichtete Testplatte (inaktiviert)	5
2	Positive Kontrolle — von hyperimmunisierten Hühnern gewonnenes Serum in Puffer mit Proteinstabilisatoren. Konservierungsstoff: Natriumazid	1 x 1,9 ml
3	Negative Kontrolle — von spezifisch pathogenfreien Hühnern gewonnenes Serum in Puffer mit Proteinstabilisatoren. Konservierungsstoff: Natriumazid	1 x 1,9 ml
4	Konjugat — (Ziegen) anti-Huhn: HRPO-Konjugat; Konservierungsstoff: Gentamicin und Proclin	1 x 50 ml
5	Probenverdünnungspuffer — Konservierungsstoff: mit Natriumazid	1 x 235 ml
A	TMB-Substrat	1 x 60 ml
B	Stopplösung	1 x 60 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
- 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 und eine genaue Zeiteinteilung während der Testdurchführung sind notwendig, um die Genauigkeit der Werte zu gewährleisten. Für jede Probe und Kontrolle eine neue Pipettenspitze benutzen.
- Substrat nicht starkem Licht oder oxidierenden Mitteln aussetzen. Nur saubere Glas- oder Plastikbehälter benutzen.
- Alle Abfälle vor der Entsorgung ordnungsgemäß dekontaminieren. Den Inhalt im Einklang mit den lokalen, regionalen und nationalen Bestimmungen entsorgen.
- Eine Verunreinigung der Bestandteile des Testkits sorgfältig vermeiden. Keine unbenutzten Reagenzien zurück in die Originalflaschen schütten.
- Die Bestandteile nicht nach Ablauf des Verfalldatums benutzen.

Vorbereitung der Proben

Die Proben 1:500 mit dem Probenverdünnungspuffer verdünnen, bevor sie getestet werden (z.B.: 1 μ l der Probe mit 500 μ l des Probenverdünnungspuffers verdünnen).

ACHTUNG: KONTROLLEN NICHT VERDÜNNEN! Die Pipettenspitze muss nach jeder Probe gewechselt werden. Proben mischen, bevor sie auf die beschichtete Platte gegeben werden.

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 UNVERDÜNTE negative Kontrolle (NK) in zwei Vertiefungen geben.

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

- 4 100 µl VERDÜNNTE Serumprobe in die entsprechenden Vertiefungen geben. Die Proben können im Einfachansatz getestet werden, empfehlenswert ist jedoch, sie im Doppelansatz zu testen.

- 5 30 Minuten (± 2 Minuten) bei 18–26°C inkubieren.

- 6 Den flüssigen Inhalt aus den Vertiefungen absaugen und sodann mit etwa 350 µl destilliertem oder demineralisiertem Wasser 3- bis 5-mal waschen. Dabei ein Austrocknen der Platte zwischen den Waschrufen 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 (± 2 Minuten) bei 18–26°C inkubieren.

- 9 Schritt 6 wiederholen.

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

- 11 15 Minuten (± 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

$$PK\bar{x} - NK\bar{x} > 0,075$$

$$NK\bar{x} \leq 0,150$$

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

Proben

$$P/PK = \frac{\text{Mittelwert der Probe} - NK\bar{x}}{PK\bar{x} - NK\bar{x}}$$

$$\text{Log}_{10}\text{Titer} = 1,09 (\log_{10} P/PK) + 3,36^*$$

*Nachstehende Gleichung verbindet den P/PK-Wert bei einer Verdünnung von 1:500 mit einem Endpunkt-Titer

Das Vorhandensein oder Fehlen von Antikörpern gegen die REO wird festgestellt, indem man den A(650)-Wert des zu testenden Serums mit der positiven Kontrolle vergleicht.

Die positive Kontrolle ist genormt und enthält eine erhebliche Menge von REO-Antikörpern.

Die relative Menge der Antikörper in der zu testenden Serumprobe kann festgestellt werden, indem man das Verhältnis der Probe zur positiven Kontrolle (P/PK) berechnet. Endpunkt-Titer werden nach der oben angegebenen Formel berechnet.

15 Interpretation:

Negativ

Positiv

$P/PK \leq 0,20$

$P/PK > 0,20$

Ein positives Ergebnis (Titer größer als 396) deutet auf eine Impfung oder einen anderen Kontakt mit REO hin. Jedes Labor sollte seine eigenen Erfahrungswerte für die Interpretation der IDEXX REO-Ergebnisse sammeln. Dazu sollten die Ergebnisse früher angewandter serologischer Testsysteme mit den IDEXX-Ergebnissen unter Berücksichtigung der angewandten Impfstoffe und Impfprogramme verglichen werden. Der Immunstatus einer Herde wird am sinnvollsten geprüft, indem man die Antikörpertiter an repräsentativen Beispielen regelmäßig überwacht und aufzeichnet. Der daraus resultierende Herdenquerschnitt ermöglicht die Bewertung der Antikörperverteilung und eine Analyse von Titerveränderungen im Laufe der Zeit.

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/contactipd

IDEXX und Test With Confidence sind Schutzmarken oder eingetragene Schutzmarken von IDEXX Laboratories, Inc. oder eines Tochterunternehmens von IDEXX in den Vereinigten Staaten und/oder in anderen Ländern

© 2016 IDEXX Laboratories, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

WARNING / ATTENTION / ATENCIÓN / ATENÇÃO / ACHTUNG



H315 / H316 / H319

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

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

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

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

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

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

	Batch Code (Lot) / Numéro de lot / Código de lote (Lote) Número de Partida (Lote) / Chargenbezeichnung (Ch.-B.) / Codice del lotto (partita)
	Serial Number / Numéro de série / Número de série Número de serie / Seriennummer / Numero di serie
	Catalog Number / Numéro de catalogue / Número de catálogo Número de catálogo / Katalognummer / Numero di catalogo
	In vitro diagnostic / Diagnostic in vitro / Diagnóstico in-vitro Diagnóstico in-vitro / In-vitro-Diagnostikum / Diagnostico in vitro
	Authorized Representative in the European Community Représentant agréé pour la Communauté européenne Representante autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Autorisierte EG-Vertretung Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Positive Control / Contrôle positif / Controle Positivo Control Positivo / Positive Kontrolle / Controllo Positivo
	Negative Control / Contrôle négatif / Controle Negativo Control Negativo / Negative Kontrolle / Controllo Negativo
	Use by date / À utiliser avant la date / Data de Vencimento Usar antes de / Verwendbar bis / Usare entro
	Date of manufacture / Date de fabrication / Data de Fabricação Fecha de fabricación / Herstellungsdatum / Data di produzione
	Manufacturer / Fabricant / Fabricante Fabricante/ Hersteller / Ditta produttrice
	Temperature limitation / Limite de température Limite de temperatura / 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 importantes 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