



Avian Influenza Virus Antibody Test Kit

**Kit de détection d'anticorps du virus de
l'Influenza Aviaire**

**Kit para Detecção de Anticorpos contra o Vírus
da Influenza Aviária**

USO VETERINÁRIO

**Kit para la detección de Anticuerpos frente al
Virus de la Influenza Aviar**

**Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen das
Virus der Aviären Influenza - AIV Antibody Test Kit**

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

IDEXX AI

Test With Confidence™

 06-02806-11

IDEXX

Avian Influenza Virus Antibody Test Kit

For veterinary use only.

Name and Intended Use

IDEXX AI is IDEXX's enzyme immunoassay for the detection of antibody to Avian Influenza Virus (AI) in chicken 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. Due to the variation and severity of clinical symptoms, serological testing produces significant advantages to detection of infected birds. Monitoring for exposure of a flock to influenza is facilitated by the measurement of antibody to avian influenza in serum.

Descriptions and Principles

This assay is designed to measure the relative level of antibody to AI in chicken serum. Viral antigen is coated on 96-well plates. Upon incubation of the test sample in the coated well, antibody specific to AI 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 AI present in the test sample.



Reagents

Volume

	Reagents	Volume
1	AI Antigen Coated Plate	5
2	Positive Control — diluted chicken anti-AI serum; preserved with ProClin™ 150	1 x 1.9 mL
3	Negative Control — diluted chicken serum non-reactive to AI, preserved with ProClin™ 150	1 x 1.9 mL
4	Conjugate — (goat) anti-chicken/(goat) anti-turkey: HRPO Conjugate; preserved with ProClin™ 150	1 x 50 mL
5	Sample Diluent — preserved with ProClin™ 150	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. 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. Samples may be tested in duplicate, but a single well is acceptable.

- 5 Incubate for 30 minutes (± 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 (± 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 Calculation:

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

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

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

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

Samples

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

The presence or absence of antibody to AI 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 AI in chicken serum. The relative level of antibody in the sample is determined by calculating the sample to positive (S/P) ratio.

15 Interpretation:

Negative

Positive

$$S/P \leq 0.50$$

$$S/P > 0.50$$

ELISA positive samples should be confirmed by additional serological testing such as Agar Gel Precipitation Test (AGP).

Note: U.S. Customers must submit all positive samples and/or results to the National Veterinary Services Laboratories for H and N titration.

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/contacttpd

VLN/PCN: 313/5004.00

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

© 2020 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved.

Kit de détection d'anticorps du virus de l'Influenza Aviaire

Réservé à l'usage vétérinaire.

Définition et application

IDEXX AI est un kit de dosage immunoenzymatique mis au point par IDEXX pour la détection des anticorps du virus de influenza aviaire (AI) à partir du sérum de poulet.

Informations Générales

Les virus influenza aviaires affectent les espèces aviaires domestiques et sauvages. La maladie est caractérisée par divers symptômes allant de quasiment aucun signe clinique à une mortalité élevée. Les signes respiratoires sont communs ainsi qu'une diminution de la ponte, une diarrhée verdâtre, des hémorragies nasales et buccales, une cyanose et un oedème de la tête, de la crête et de la caroncule. Parce que les symptômes cliniques sont sévères et divers, un test sérologique présente des avantages considérables pour détecter les sujets infectés. La surveillance du troupeau au regard de l'exposition à l'influenza est facilitée par le dosage des anticorps sériques.

Description et principe

Le dosage a pour but de mesurer le niveau relatif d'anticorps présents dans le sérum des poulets à tester vis-à-vis de l'antigène du virus de l'influenza aviaire. Chaque plaque est constituée de 96 cupules sensibilisées avec l'antigène du virus de l'influenza aviaire. Les anticorps spécifiques de l'influenza aviaire, s'ils sont présents dans l'échantillon à tester, se fixent sur l'antigène sensibilisé sur la microplaque et forment un complexe 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 enzymatique. La coloration obtenue est directement proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans l'échantillon à tester.



Réactifs

Volume

	Réactifs	Volume
1	Microplaque sensibilisée avec de l'antigène AI	5
2	Contrôle positif — antisérum de poulet anti-AI dilué; conservateur: ProClin™ 150	1 x 1,9 ml
3	Contrôle négatif — sérum de poulet négatif en Ac anti-AI dilué; conservateur: ProClin™ 150	1 x 1,9 ml
4	Conjugué — conjugué anti-poulet (chèvre)/anti-dindon (chèvre); péroxydase de raifort; conservateurs: ProClin™ 150	1 x 50 ml
5	Diluant des échantillons — conservateur: ProClin™ 150	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 dans 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 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 appropriées. Les échantillons peuvent être testés en double mais un test en simple est acceptable.

- 5 Incuber pendant 30 minutes (± 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 µl 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 µl de conjugué dans chaque cupule.

- 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 cupule.

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

- 12 Distribuer 100 µl de solution d'arrêt dans chaque cupule.

- 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

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

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

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

Échantillons

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

La présence ou l'absence d'anticorps anti-AI 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-AI 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).

15 Interprétation:

Négatifs

Positifs

$$E/P \leq 0,50$$

$$E/P > 0,50$$

Les échantillons ELISA "Positifs" seront confirmés par d'autres techniques immunologiques telles que Immunodiffusion en gélose.

Remarque: aux Etats-Unis, tous les clients doivent soumettre les échantillons et/ou résultats positifs au laboratoire des services vétérinaires (National Veterinary Services Laboratory) pour les titrages H et N.

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/contactpd

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.

© 2020 IDEXX Laboratories, Inc. Tous droits réservés.

Kit para Detecção de Anticorpos contra o Vírus da Influenza Aviária

Para uso exclusivamente veterinário.

Nome e Indicações

IDEXX AI é um ensaio imunoenzimático da IDEXX para detecção de anticorpos contra o vírus da Influenza Aviária (AI) em soro de galinha.

Informações Gerais

Espécies aviárias domésticas e selvagens são afetadas pelo vírus de Influenza Aviária. A doença é caracterizada por uma variedade de respostas que incluem desde a falta de sinais clínicos até alta mortalidade. Sintomas respiratórios são frequentes, associados à queda na produção de ovos, diarreia esverdeada, descarga nasal e oral sanguinolenta, cianose e edema de cabeça, crista e barbeta. Devido a variação e severidade dos sintomas clínicos, os procedimentos de testes sorológicos produzem uma vantagem significativa na detecção de aves infectadas. A monitoria à exposição de um lote à influenza é facilitada pela medição de anticorpos à Influenza Aviária em soro.

Descrição e Princípios

Este ensaio é designado à medir o nível relativo de anticorpo contra AI em soro de galinha. O antígeno viral é impregnado em placas de 96 cavidades. Após incubação da amostra teste na cavidade impregnada, os anticorpos específico contra AI forma um complexo com os antígenos virais impregnados. Após a lavagem de material não reagente da cavidade, o conjugado é adicionado e se liga a todos os complexos antígeno-anticorpo formados na placa. Conjugado não reagente é lavado e substrato enzimático é adicionado. Subsequente desenvolvimento de cor é diretamente relacionado à quantidade de anticorpo contra AI presente na amostra de teste.



Reagentes

Volume

	Reagentes	Volume
1	Placa Impregnada com Antígeno de AI	5
2	Controle Positivo — soro diluído Anti-AI de galinha; conservado com ProClin™ 150	1 x 1,9 ml
3	Controle Negativo — soro de galinha diluído não reativo para AI; conservado com ProClin™ 150	1 x 1,9 ml
4	Conjugado — conjugado HRPO: Anti-galinha (cabra) / Anti-Peru(cabra); conservado com ProClin™ 150	1 x 50 ml
5	Diluyente de Amostra — conservado com ProClin™ 150	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 monocal e multicanal
- Ponteiras 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 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 na 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 ponteiras para cada amostra.

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

Procedimento de Teste

Todos os reagentes devem ser mantidos a 18–26°C antes da utilização. Misturar reagentes invertendo suavemente ou realizando movimentos circulares.

- 1 Obter placa(s) impregnadas(s) com 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 devem ser testadas em duplicada, mas uma única cavidade por amostra é aceitável.
- 5 Incubar por 30 minutos (±2 minutos) à 18–26°C.
- 6 Remover o conteúdo líquido das cavidades da placa e lavar 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 (±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 (±1 minuto) à 18–26°C.
- 12 Distribuir 100 µl de Solução de Interrupção em cada cavidade.
- 13 Medir e registrar 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

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

A presença ou ausência de anticorpo contra AI é determinada relacionando-se o valor (A650) da amostra com a média do Controle Positivo. O Controle Positivo é padronizado e representa níveis significantes de anticorpo contra AI em soro de galinha. O nível relativo anticorpo da amostra é determinado calculando-se a razão amostra/positivo (A/P).

15 Interpretação:

Negativas	Positivas
A/P ≤ 0,50	A/P > 0,50

Amostras positivas no ELISA devem ser confirmadas por exames sorológicos adicionais como teste de precipitação em ágar gel.

Nota: Os clientes nos Estados Unidos devem submeter todas amostras positivas e/ou resultados National Veterinary Services Laboratories para titulação para H ou N.

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

Para assistência técnica:

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

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

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

PRODUTO IMPORTADO. USO VETERINÁRIO.

Licenciado no MAPA sob nº 9.461/2009.

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 Leão Carneiro 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.

© 2020 IDEXX Laboratories, Inc. Todos os direitos reservados.

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

Para uso veterinario exclusivo.

Nombre y uso propuesto

IDEXX AI es un inmunoanálisis enzimático de IDEXX diseñado para detectar anticuerpos frente al virus de la influenza aviar (AI) en suero de pollo.

Información general

Las especies aviarias domésticas y silvestres pueden verse afectadas por los virus de la influenza aviar. La enfermedad se caracteriza por una amplia gama de respuestas que apenas comprenden ningún signo clínico que implique una alta mortalidad. Son comunes los signos respiratorios, así como una disminución en la producción de huevos, una diarrea verdosa, exudado nasal y oral sanguinolento, y cianosis y edema de la cabeza, la cresta y la barba o curúncula. Dada la variación y gravedad de los síntomas clínicos, la prueba serológica implica ventajas considerables en la detección de aves infectadas. El control para detectar la exposición de un grupo de aves a la influenza se ve facilitado por la medición del nivel de anticuerpos frente a la influenza aviar en suero.

Descripción y principios

Este ensayo está diseñado para medir la concentración relativa de anticuerpos frente al virus AI en suero de pollo. Placas de 96 pocillos se tapizan con antígeno viral en una placa. Después de la incubación de la muestra en el pocillo tapizado, se agrega un anticuerpo específico frente al virus AI, 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 complejos de anticuerpos de pollo presentes 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-AI presentes en la muestra.



Reactivos

Volumen

	Reactivos	Volumen
1	Placa tapizada con Antígeno AI	5
2	Control Positivo — suero de pollo anti AI-diluido; conservado con ProClin™ 150	1 x 1,9 ml
3	Control Negativo — suero de pollo diluido, no reactivo en AI; conservado con ProClin™ 150	1 x 1,9 ml
4	Conjugado — conjugado anti-pollo (cabra)/anti-pavo (cabra): HRPO; conservado con ProClin™ 150	1 x 50 ml
5	Diluyente de la Muestra — conservado con ProClin™ 150	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 placas, 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 lo manipule. 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 muestras

Diluir las muestras 1:500 con el Diluyente de la Muestra antes de efectuar la prueba (por ejemplo, diluir 1 μl de la muestra con 500 μl 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 AI.

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 pozos 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 siguiendo una revisión meticulosa del protocolo suministrado con el producto.

Muestras

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

La presencia o ausencia de anticuerpos frente al virus AI se determina mediante 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-AI 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.

15 Interpretación:

Negativo

Positivo

$$M/P \leq 0,50$$

$$M/P > 0,50$$

Las muestras positivas de ELISA deben de ser confirmadas mediante pruebas serológicas adicionales como precipitación en gel de agar (AGAP).

Nota: los clientes estadounidenses deberán remitir todas las pruebas y resultados positivos a los Laboratorios de los Servicios Veterinarios Nacionales para titulación de H y N.

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/contactplp

N.º de registro: 0461-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.

© 2020 IDEXX Laboratories, Inc. Todos los derechos reservados.

Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Aviären Influenza

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

Name und Verwendungszweck

IDEXX AI ist ein Enzymimmunoassay von IDEXX zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Aviären Influenza (AI) in Serumproben von Hühnern.

Allgemeine Informationen

Die Aviären Influenzaviren können Nutz- und Wildgeflügelarten befallen. Die Symptome einer Infektion mit einem dieser Viren sind sehr unterschiedlich und reichen vom Fehlen jeglicher Anzeichen bis hin zu einer extrem hohen Mortalität. Häufig kommt es zu Erkrankungen der Atemwege, die mit einem Rückgang der Legeleistung, grünlichem Durchfall, bluthaltigem Nasen- und Mundsekret, Zyanose und Ödemen des Kopfes, Kammes und Kehllappens einhergehen können. Aufgrund der Verschiedenartigkeit der Symptome und der Schwere der klinischen Anzeichen können serologische Tests bei der Erkennung infizierter Tiere große Vorteile bieten. Die Kontrolle von Geflügelherden auf Kontakt mit dem Virus der Aviären Influenza wird durch die Bestimmung von Antikörpern gegen das Virus erheblich erleichtert.

Beschreibung des Testprinzips

Das Testsystem dient zur quantitativen Bestimmung von Antikörpern gegen AI in Serumproben von Hühnern. Es wurden Mikrotiterplatten mit Virusantigenen beschichtet. Bei der Inkubation der Probe in der beschichteten Vertiefung bilden spezifische Antikörper gegen AI 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 AI-Antikörpern in der Probe.



Reagenzien

Menge

1	Mit AI-Antigen beschichtete Testplatte (inaktiviert)	5
2	Positive Kontrolle — von hyperimmunisierten Hühnern gewonnenes Serum. Konservierungsstoff: ProClin™ 150	1 x 1,9 ml
3	Negative Kontrolle — von spezifisch pathogenfreien Hühnern gewonnenes Serum. Konservierungsstoff: ProClin™ 150	1 x 1,9 ml
4	Konjugat — (Ziege) Anti-Huhn/(Ziege) Anti-Puten: HRPO Konjugat; Konservierungsstoff: ProClin™ 150	1 x 50 ml
5	Probenverdünnungspuffer — Konservierungsstoff: ProClin™ 150	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 µl der Probe mit 500 µl 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 UNVERDÜNNTEN negative Kontrolle (NK) in zwei Vertiefungen geben.

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

- 4 100 µl VERDÜNNTEN 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 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 (± 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

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

Das Vorhandensein oder Fehlen von Antikörpern gegen AI 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 beträchtliche Menge von AI-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.

15 Interpretation:

Negativ

Positiv

$$P/PK \leq 0,50$$

$$P/PK > 0,50$$

Im ELISA positive Proben sollten mit einem weiteren serologischen Test (z.B. Agar-Gel-Präzipitationstest) bestätigt 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/contactlpd

Zul.-Nr.: BGVV-B 219

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

© 2020 IDEXX Laboratories, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

WARNING / ATTENTION / ATENCIÓN / ATENÇÃO / ACHTUNG



H317 / H412 / P280 / P302 + P352 / P333 + P313

Positive Control / Conjugate – May cause an allergic skin reaction. Harmful to aquatic life with long lasting effects. Wear protective gloves. IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.

Contrôle positif / Conjugué – Peut provoquer une allergie cutanée. Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Porter des gants de protection. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: laver abondamment à l'eau et au savon. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.

Control Positivo / Conjugado – Pode provocar uma reacção alérgica cutânea. Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Usar luvas de protecção. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.

Control Positivo / Conjugado – Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Llevar guantes de protección. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

Positive Kontrolle / Konjugat – Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Schutzhandschuhe tragen. BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

H317 / P280 / P302 + P352 / P333 + P313

Negative Control / Sample Diluent – May cause an allergic skin reaction. Wear protective gloves. IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.

Contrôle négatif / Diluant des échantillons – Peut provoquer une allergie cutanée. Porter des gants de protection. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: laver abondamment à l'eau et au savon. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.

Control Negativo / Diluente de Amostra – Pode provocar uma reacção alérgica cutânea. Usar luvas de protecção. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.

Control Negativo / Diluyente de la Muestra – Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Llevar guantes de protección. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

Negative Kontrolle / Probenverdünnungspuffer – Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Schutzhandschuhe tragen. BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

Symbol Descriptions / Descriptions des symboles / Descrições dos 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
	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