

Avian Pneumovirus Antibody Test Kit

Kit de détection des anticorps dirigés
contre le virus du pneumovirus aviaire

Kit para Detecção de Anticorpos contra
Pneumovírus Aviário

USO VETERINÁRIO

Kit para la detección de Anticuerpos frente
al Pneumovirus Aviar

Testkit zum Nachweis von Antikörpern
gegen das Aviäre Pneumovirus

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

Avian Pneumovirus Antibody Test Kit

For veterinary use only

Name and Intended Use

IDEXX APV is IDEXX's enzyme immunoassay for the detection of antibody to avian pneumovirus (APV) in chicken and turkey serum.

General Information

Avian Pneumovirus (APV) is a pathogen of chickens and turkeys that can produce respiratory signs and reproductive failures as a primary pathogen, or as part of a multiagent syndrome known as Swollen Head Syndrome (SHS). Virus isolation of APV is a difficult task, so diagnosis through serology is one of the most important tools for disease control. This test is intended for quantitative monitoring chicken and turkey flocks that have been vaccinated with live and/or inactivated products containing A, B or C antigens, as well as naive (SPF) flocks for the detection of infected birds with any A, B or C serotype of APV.

Descriptions and Principles

This assay is designed to measure the relative level of antibody to APV in chicken and turkey serum. Viral antigen is coated on 96-well plates. Upon incubation of the test sample in the coated well, antibody specific to APV forms a complex with the coated viral antigens. After washing away unbound material from the wells, a conjugate is added that binds to any attached chicken and turkey 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 APV present in the test sample.

Reagents

Store all reagents at 2–8°C.

Reagents	Volume	
1	APV Antigen coated plates	5
2	Positive Control	1.9 ml
3	Negative Control	1.9 ml
4	(Anti-Chicken/Anti-Turkey HRPO) Conjugate	50 ml
5	Sample Diluent	235 ml
A	TMB Substrate	60 ml
B	Stop Solution	60 ml

NOTE: see table on page 28 for the description of international symbols used on the kit labels.

Materials Required but Not Provided

- Precision Micropipettes and Multi-dispensing micropipettes (reagents volumes listed in the “Test Protocol” require pipette precision of $\pm 5\%$)
- 96-well plate reader equipped with 650 nm filter
- Tubes for diluting samples
- Distilled or deionized water
- Device for the delivery and aspiration of wash solution

Precautions and Warnings for Users

- Handle all biological material as potentially infectious.
- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink or smoke where specimens or kit reagents are being handled.
- The substrate solution is irritating to the eyes, respiratory system and skin. Avoid contact with skin and eyes.
- Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
- Do not expose TMB solution to strong light or any oxidizing agents. Handle TMB solution with clean glass or plasticware.
- Store all reagents at 2–8°C. Bring the reagents to 18–26°C prior to use, and return to 2–8°C following use.
- 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 the contamination of kit components.
- Do not use components past their expiration dates and do not mix components from different serials.
- 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.
- The two controls must be used for each test series.
- Use only distilled or deionized water for preparation of the reagents used in the test.
- Unused microtiter wells should be stored sealed within the enclosed plastic bag at 2–8°C.
- For veterinary use only.

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 then mixed by inverting and swirling. Use a separate pipette tip for each sample

1. Obtain antigen-coated plate(s) and record the sample position on a worksheet.
2. Dispense 100 μl of undiluted Negative Control into two appropriate wells.
3. Dispense 100 μl of undiluted Positive Control into two appropriate wells.
4. Dispense 100 μl of diluted sample into applicable wells.
5. Incubate for 30 minutes (± 2 min.) at 18–26°C.
6. Wash each well with approximately 350 μl of distilled or deionized water 3–5 times.
7. Dispense 100 μl of Conjugate into each well.
8. Incubate for 30 minutes (± 2 min.) at 18–26°C.
9. Repeat step 6.
10. Dispense 100 μl of TMB Substrate solution into each well.
11. Incubate for 15 minutes (± 1 min.) at 18–26°C.
12. Dispense 100 μl of Stop Solution into each well to stop the reaction.
13. Blank the reader with air.
14. Measure and record absorbance values at 650 nm, A(650).

Results

For the assay to be valid, the difference between the Positive Control mean and the Negative Control mean ($PC\bar{x} - NC\bar{x}$) should be greater than 0.075. The Negative Control mean absorbance should be less than or equal to 0.150. The presence or absence of antibody to APV is determined by relating the A(650) value of the sample to the Positive Control mean. The Positive Control is standardized and represents significant antibody levels to APV in chicken and turkey 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 in the calculations section.

NOTE: IDEXX has instrument and software systems available which calculate means and % values and provide data summaries.

Calculation

Calculation of Negative Control mean

(NC \bar{x})

$$\text{NC}\bar{x} = \frac{\text{NC1 A650} + \text{NC2 A650}}{2}$$

Example:

$$\text{NC}\bar{x} = \frac{0.105 + 0.095}{2} = 0.100$$

Calculation of Positive Control mean

(PC \bar{x})

$$\text{PC}\bar{x} = \frac{\text{PC1 A650} + \text{PC2 A650}}{2}$$

Example:

$$\text{PC}\bar{x} = \frac{0.295 + 0.305}{2} = 0.300$$

S/P calculation for each sample

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

Example:

$$\text{S/P} = \frac{0.425 - 0.100}{0.300 - 0.100} = 0.162$$

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

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

Interpretation of Results

- Serum samples with S/P ratios of less than or equal to 0.20 should be considered negative.
- Serum samples with S/P ratios greater than 0.20 (titers greater than 396) should be considered positive and indicate vaccination or other exposure to APV.

Each laboratory should establish its own criterion for immunity with respect to antibody titer based on correlation of IDEXX APV 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.

👁 = *Modification in the using instructions*

Summarized Test Procedure

IDEXX strongly recommends that you read the complete instructions carefully before using the test the first time.

Steps	Action
1. Preparation and distribution of samples	Dilute test samples five hundred fold (1:500) with Sample Diluent prior to being assayed (e.g., by diluting 1 μ l of sample with 500 μ l 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. Dispense 100 μ l of undiluted Negative Control into two appropriate wells. Dispense 100 μ l of undiluted Positive Control into two appropriate wells. Dispense 100 μ l of diluted sample into applicable wells.
2. Sample incubation	Incubate for 30 minutes (\pm 2 min.) at 18–26°C.
3. Washing the plate	Wash each well with approximately 350 μ l of distilled or deionized water 3–5 times.
4. Conjugate Distribution	Dispense 100 μ l of Conjugate into each well.
5. Conjugate Incubation	Incubate for 30 minutes (\pm 2 min.) at 18–26°C .
6. Repeat step 4	
7. Substrate distribution	Dispense 100 μ l of TMB Substrate into each well.
8. Substrate incubation	Incubate for 15 minutes (\pm 1 min.) at 18–26°C.
9. Stopping the reaction	Dispense 100 μ l of Stop Solution into each well to stop the reaction.
10. Measure the plate	Measure and record absorbance values at 650 nm, A(650).
11. Interpretation	Serum samples with S/P ratios of less than or equal to 0.20 should be considered negative. Serum samples with S/P ratios greater than 0.20 (titers greater than 396) should be considered positive and indicate vaccination or other exposure to APV.

Manufactured by:

IDEXX Switzerland AG
Stationsstrasse 12
3097 Liebefeld-Bern, Switzerland

For technical assistance:

Contact your IDEXX area manager or distributor
or visit: www.idexx.com/production/contact
IDEXX Technical Support: 00-800-727-43399

*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.

Kit de détection des anticorps dirigés contre le virus du Pneumovirus Aviaire

Réservé à l'usage vétérinaire

Définition et application

IDEXX APV est un test immunoenzymatique (ELISA) pour la détection des anticorps dirigés contre le virus du Pneumovirus Aviaire (APV) à partir du sérum de poulet et de dinde.

Informations générales

Le Pneumovirus Aviaire (APV) est un pathogène du poulet et de la dinde à l'origine de signes respiratoires et de troubles de la reproduction comme agent d'infection primaire ou comme agent multifactoriel encore connu sous l'appellation syndrome des grosses têtes (SHS, Swollen Head Syndrome). L'isolement du virus APV est une tâche difficile, si bien que le diagnostic sérologique constitue un des outils les plus importants dans le contrôle de la maladie. Ce test est préconisé dans le cadre du suivi quantitatif des troupeaux de poulets et de dindes préalablement vaccinés avec des vaccins vivants ou inactivés (Sérotypes A, B ou C), aussi bien que dans le cadre de la détection de l'infection sur des troupeaux SPF (Sérotypes A, B ou C).

Description et principe

Le dosage a pour but de mesurer le niveau relatif d'anticorps présents à partir du sérum de poulet ou de dinde à tester vis à vis du Pneumovirus Aviaire. Chaque plaque est constituée de 96 cupules sensibilisées avec l'antigène viral. Les anticorps spécifiques du Pneumovirus 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 liées sont ensuite éliminées par lavage et un conjugué marqué à la peroxydase se lie aux anticorps anti-poulet et anti-dinde précédemment fixés. Les fractions non fixées sont éliminées par lavage et la réaction est révélée par oxydation du substrat de l'enzyme correspondante, qui se traduit par une réaction colorée. La coloration obtenue est directement proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans l'échantillon à tester.

Réactifs

Stocker tous les réactifs à 2–8°C.

Réactifs		Quantités
1	Plaques sensibilisées avec des antigènes de l'APV	5
2	Contrôle positif	1,9 ml
3	Contrôle négatif	1,9 ml
4	Conjugué (anti-poulet/anti-dinde -HRPO)	50 ml
5	Diluant des échantillons	235 ml
A	Substrat TMB	60 ml
B	Solution d'arrêt	60 ml

REMARQUE: voir le tableau page 28 pour la description des symboles internationaux utilisés sur les étiquettes du kit.

Matériel nécessaire mais non fourni

- Pipettes de précision ou pipettes multicanaux avec embouts jetables (la précision requise pour la mesure des volumes indiqués au « Mode Opérateur » doit être de $\pm 5\%$)
- Lecteur de microplaques équipé d'un filtre à 650 nm
- Microtubes pour la dilution des échantillons
- Eau distillée ou déionisée
- Système de lavage manuel, semi automatique ou automatique

Mises en garde et précautions d'emploi

- Manipuler tous les réactifs et les échantillons comme une source potentielle de contamination.
- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de manipulation des échantillons et des réactifs.
- La solution de substrat est irritante pour les yeux, le système respiratoire et la peau. Éviter tout contact avec les yeux et la peau.
- Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
- Ne pas exposer la solution de substrat TMB à la lumière directe du soleil ou aux agents oxydants. Veiller à la propreté de la verrerie et/ou du matériel de laboratoire en matière plastique utilisés lors de sa manipulation.
- Stocker tous les réactifs au réfrigérateur à 2–8°C. Porter à 18–26°C avant utilisation et remettre au réfrigérateur à 2–8°C après utilisation.
- Décontaminer l'ensemble du matériel intervenant dans la manipulation avant élimination. Éliminer l'ensemble du matériel selon les réglementations locales, régionales et nationales en vigueur.
- Éviter la contamination des composants du kit.
- Ne pas utiliser de kit au delà de la date d'expiration et éviter de mélanger des composants issus de lots de réactifs différents.

- La qualité des résultats dépend du respect des instructions établies par le fournisseur ainsi que des bonnes pratiques de laboratoire.
- Les contrôles positif et négatif doivent être inclus dans chaque plaque.
- Utiliser de l'eau distillée ou désionisée pour la préparation des réactifs.
- Les barrettes non utilisées doivent être conservées dans leur sachet plastique scellé au réfrigérateur à 2–8°C.
- Réactifs réservés à l'usage vétérinaire.

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 des échantillons).

Remarque: NE PAS DILUER LES CONTROLES. Changer d'embout de pipette entre chaque échantillon et homogénéiser les échantillons pré-dilués préalablement à leur distribution dans la microplaque sensibilisée.

Mode Opérateur

Porter tous les réactifs à 18–26°C avant utilisation et bien homogénéiser par agitation douce ou au vortex. Utiliser un embout de pipette différent pour chaque échantillon.

1. Réserver le nombre de plaques nécessaires à la manipulation et noter la position des échantillons à l'aide d'un plan de plaque
2. Distribuer 100 μ l de Contrôle négatif non dilué dans deux puits appropriés.
3. Distribuer 100 μ l de Contrôle positif non dilué dans deux puits appropriés.
4. Distribuer 100 μ l d'échantillon pré-dilué à tester dans les cupules adjacentes.
5. Incuber pendant 30 minutes (\pm 2 min.) à 18– 26°C.
6. Laver chacune des cupules 3 à 5 fois en utilisant environ 350 μ l d'eau distillée ou déionisée.
7. Distribuer 100 μ l de Conjugué dans chaque cupule.
8. Incuber pendant 30 minutes (\pm 2 min.) à 18– 26°C.
9. Reprendre la procédure décrite au point 6.
10. Distribuer 100 μ l de Substrat TMB dans chaque cupule.
11. Incuber pendant 15 minutes (\pm 1 min.) à 18– 26°C à l'abri de la lumière.
12. Distribuer 100 μ l de Solution d'arrêt dans chaque cupule.
13. Faire le blanc du spectrophotomètre sur l'air.
14. Lire la densité optique des échantillons et des contrôles à l'aide d'un spectrophotomètre en monochromatisme à 650 nm.

Résultats

Le test est validé si la différence entre la valeur moyenne de DO du Contrôle positif et la valeur moyenne de DO du Contrôle négatif est supérieure ou égale à 0,075 ($PC\bar{x} - NC\bar{x} \geq 0,075$).

De plus, la valeur moyenne de DO du Contrôle négatif ($NC\bar{x}$) doit être inférieure ou égale à 0,150. La présence ou l'absence d'anticorps est déterminée par la valeur du rapport E/P pour chaque échantillon. Voir chapitre "Calculs".

Note: IDEXX Laboratories Inc. met à votre disposition l'équipement de laboratoire et le logiciel pour l'enregistrement des données, le calcul et l'interprétation des résultats.

Calculs

Valeur moyenne du Contrôle négatif ($CN\bar{x}$)	Valeur moyenne du Contrôle positif ($CP\bar{x}$)
$CN\bar{x} = \frac{CN1 A650 + CN2 A650}{2}$	$CP\bar{x} = \frac{CP1 A650 + CP2 A650}{2}$
Exemple:	Exemple:
$CN\bar{x} = \frac{0,105 + 0,095}{2} = 0,100$	$CP\bar{x} = \frac{0,295 + 0,305}{2} = 0,300$
Rapport E/P $E/P = \frac{\text{Moyenne DO}_{\text{échantillon}} - CN\bar{x}}{CP\bar{x} - CN\bar{x}}$ Exemple: $E/P = \frac{0,425 - 0,100}{0,300 - 0,100} = 0,162$	Titre. Etablit le rapport entre E/P (dilution 1:500) et une limite de titre $\text{Log}_{10} \text{Titre} = 1,09 (\text{Log}_{10} E/P) + 3,36$

Interprétation

- Les échantillons de sérum dont la valeur du rapport E/P est inférieure ou égale à 0,20 doivent être considérés comme négatifs.
- Lorsque la valeur du rapport est supérieure à 0,20 (titres supérieurs à 396), l'échantillon est positif et indique la vaccination contre le virus APV ou l'exposition du sujet au virus APV.

Chaque laboratoire doit arrêter ses propres critères d'immunisation concernant le titre des anticorps en fonction de la corrélation établie entre IDEXX APV et les méthodes d'analyses utilisées en laboratoire ainsi que des 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 consignnant 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.

👁 = *Modification majeure du mode d'emploi (= modification concernant le « Mode opératoire », les « Critères de validation » ou les « Règles d'interprétation »)*

Résumé du Protocole

Avant la première mise en œuvre du test, il est vivement recommandé de lire l'ensemble du mode opératoire

Steps	Action
1. Préparation et distribution des réactifs	Diluer les échantillons à tester au 1:500 dans le Diluant des échantillons (1 μ l de sérum + 500 μ l de Diluant des échantillons). Remarque: NE PAS DILUER LES CONTROLES. Changer d'embout de pipette entre chaque échantillon et homogénéiser les échantillons pré-dilués préalablement à leur distribution dans la microplaque sensibilisée. Distribuer 100 μ l de Contrôle négatif non dilué dans deux puits appropriés. Distribuer 100 μ l de Contrôle positif non dilué dans deux puits appropriés. Distribuer 100 μ l d'échantillon pré-dilué à tester dans les cupules adjacentes.
2. Incubation des échantillons	Incuber pendant 30 minutes (\pm 2 min.) à 18– 26°C.
3. Lavage des plaques	Laver chacune des cupules 3 à 5 fois en utilisant environ 350 μ l d'eau distillée ou déionisée.
4. Distribution du conjugué	Distribuer 100 μ l de Conjugué dans chaque cupule.
5. Incubation du conjugué	Incuber pendant 30 minutes (\pm 2 min.) à 18– 26°C.
6. Répéter l'étape 4	
7. Distribution du substrat	Distribuer 100 μ l de Substrat TMB dans chaque cupule.
8. Incubation du substrat	Incuber pendant 15 minutes (\pm 1 min.) à 18– 26°C à l'abri de la lumière.
9. Arrêt de la réaction	Distribuer 100 μ l de Solution d'arrêt dans chaque cupule.
10. Lecture de la plaque	Lire la densité optique des échantillons et des contrôles à l'aide d'un spectrophotomètre en monochromatisme à 650 nm.
11. Interpretation	Les échantillons de sérum dont la valeur du rapport E/P est inférieure ou égale à 0,20 doivent être considérés comme négatifs. Lorsque la valeur du rapport est supérieure à 0,20 (titres supérieurs à 396), l'échantillon est positif et indique la vaccination contre le virus APV ou l'exposition du sujet au virus APV.

Fabricant:

IDEXX Switzerland AG
Stationsstrasse 12
3097 Liebefeld-Bern, Switzerland

For technical assistance:

Contactez votre représentant local IDEXX
ou visitez www.idexx.com/production/contact
IDEXX Technical Support: 00-800-727-43399

*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.

Kit para Detecção de Anticorpos contra Pneumovírus Aviário

Para uso exclusivamente veterinário.

Nome e Indicações

IDEXX APV é um ensaio imunoenzimático da IDEXX para detecção de anticorpos contra Pneumovírus Aviário (APV) em soro de galinhas e perus.

Informações Gerais

Pneumovírus Aviário (APV) é um patógeno de galinha e peru que pode produzir sinais respiratórios e falhas reprodutivas tanto como patógeno primário quanto como parte de uma síndrome multifatorial conhecida como Síndrome da Cabeça Inchada (SCI). O isolamento viral de APV é uma tarefa muito difícil, sendo assim, o diagnóstico através da sorologia é uma das ferramentas mais importantes no controle dessa enfermidade. Este teste foi desenvolvido para monitoramento quantitativo de lotes de galinhas ou perus que tenham sido vacinados com vacinas vivas e/ou inativadas que contenham antígenos de APV tipo A, B ou C, tanto para lotes de aves livres de patógenos específicos (SPF) quanto para a detecção de aves infectadas com qualquer um desses sorotipos.

Descrição e Princípios

Este teste é designado para medir o nível relativo de anticorpos em amostras séricas de galinhas e perus. Para tanto, a placa contendo 96 cavidades é impregnada com antígeno viral. Depois da incubação da amostra na cavidade impregnada, o anticorpo específico contra APV forma um complexo com os antígenos virais. Depois de eliminar, através da lavagem, o material não reagente das cavidades, adiciona-se o conjugado que irá unir-se aos complexos antígeno/anticorpo de galinha ou peru nas cavidades. O conjugado não reagente é eliminado através da lavagem e então um substrato enzimático é agregado às cavidades. O subsequente desenvolvimento de cor está diretamente relacionado com a quantidade de anticorpos anti-APV presentes na amostra.

Reagentes

Armazene todos os reagentes entre 2–8°C.

Reagentes		Quantitês
1	Placa impregnada com antígeno APV	5
2	Controle positivo	1,9 ml
3	Controle negativo	1,9 ml
4	Conjugado (HRPO Anti-Galinha/Anti-Peru)	50 ml
5	Diluíente de Amostra tamponado	235 ml
A	Substrato TMB	60 ml
B	Solução de Interrupção	60 ml

NOTA: veja a tabela na página 28 para descrição dos símbolos internacionais usados nos rótulos dos kits.

Materiais Necessários, mas Não Fornecidos

- Pipetas de precisão e dispositivos de pipetagem múltipla com ponteiros descartáveis (os volumes de reagentes listados no “Protocolo do Teste” exigem pipetas com precisão de $\pm 5\%$)
- Leitora para placas de 96 cavidades equipada com filtro 650 nm
- Tubos para diluição das amostras
- Água destilada ou deionizada
- Dispositivo para a distribuição e aspiração da solução de lavagem

Precauções e Advertências aos Usuários

- Manipule todos os materiais biológicos como potencialmente infectantes.
- Não pipete com a boca
- Não coma, beba ou fume nos locais onde estão sendo manuseadas as amostras ou reagentes do kit.
- A solução de substrato TMB é irritante aos olhos, sistema respiratório e pele. Evite contato com a pele e olhos
- Não expor solução TMB à luz forte ou a quaisquer agentes oxidantes.
- Manipule a solução TMB com materiais de plástico ou vidro limpos.
- Usar luvas, avental, máscara para proteger o rosto e óculos protetores.
- Armazene todos os reagentes entre 2–8°C. Deixar a 18–26°C antes do uso, e retornar a 2–8°C após o uso.
- Todos os resíduos devem ser adequadamente descontaminados antes de serem eliminados.
- Descarte o material conforme regulamentos locais, regionais e nacionais
- Deve-se tomar cuidado para prevenir contaminação dos componentes do kit.
- Não use componentes com prazo de validade vencido e não misture componentes de kits de diferentes números de lote.
- Resultados ótimos serão obtidos seguindo-se rigorosamente o protocolo deste teste.
- Pipetagens e lavagens cuidadosas durante todo o procedimento são necessárias para manter a precisão e acurácia.
- Os dois controles devem ser usados para cada bateria de testes.
- Use somente água destilada ou deionizada para o preparo dos reagentes usados no teste.
- Cavidades não usadas devem ser armazenadas seladas dentro da bolsa plástica a 2–8°C.
- Somente para uso veterinário.

Preparo das Amostras

Diluir amostras teste em 1:500 com Diluente de Amostra antes de ser testada (por exemplo, diluindo-se 1 μl de amostra com 500 μl de Diluente de Amostra).

NOTA: NÃO DILUIR CONTROLES. Certifique-se de trocar ponteiros para cada amostra. Amostras devem ser homogeneizadas antes de distribuídas nas placas imprimadas.

Protocolo do teste

Os reagentes devem estar à 18–26°C antes do uso e devem ser homogeneizados através de inversão e movimentos circulares leves. Use uma ponteira diferente para cada amostra.

1. Obter placa(s) impregnada(s) com antígeno e registrar a posição da amostra em uma folha de trabalho.
2. Distribuir 100 μ l de Controle Negativo NÃO DILUÍDO em duas cavidades apropriadas.
3. Distribuir 100 μ l de Controle Positivo NÃO DILUÍDO em duas cavidades apropriadas.
4. Distribuir 100 μ l de amostra diluída nas cavidades apropriadas.
5. Incubar por 30 minutos (± 2 min.) à 18–26°C.
6. Lavar cada cavidade com aproximadamente 350 μ l de água destilada ou deionizada por 3–5 vezes.
7. Distribuir 100 μ l de Conjugado em cada cavidade.
8. Incubar por 30 minutos (± 2 min.) em 18–26°C.
9. Repetir passo 6.
10. Distribuir 100 μ l de solução de substrato TMB em cada cavidade.
11. Incubar por 15 minutos (± 1 min.) à 18–26°C.
12. Distribuir 100 μ l de Solução de Interrupção em cada cavidade para parar a reação.
13. Zerar o leitor com ar.
14. Medir e registrar valores de absorvância a 650 nm, A(650).

Resultados

Para o teste ser válido a diferença entre a média do Controle Positivo e a média do Controle

Negativo ($CP\bar{x} - CN\bar{x}$) deve ser maior que 0,075. A absorvância média do Controle Negativo deve ser menor ou igual a 0,150. A presença ou ausência de anticorpo contra APV 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 APV em soro de galinha e peru. O nível relativo de anticorpo na amostra é determinado calculando-se porá razão amostra/positivo (A/P). Os títulos finais são calculados usando a equação descrita na seção de cálculos.

Nota: IDEXX Laboratories, Inc. têm instrumentos e software disponíveis para o cálculo de razões das médias e razões A/P e elaboração de resumo de dados.

Cálculos

Média do Controle Negativo (CN \bar{x})

$$\text{CN}\bar{x} = \frac{\text{CN1 A650} + \text{CN2 A650}}{2}$$

Ejemplo:

$$\text{CN}\bar{x} = \frac{0,105 + 0,095}{2} = 0,100$$

Média do Controle Positivo (CP \bar{x})

$$\text{CP}\bar{x} = \frac{\text{CP1 A650} + \text{CP2 A650}}{2}$$

Ejemplo:

$$\text{CP}\bar{x} = \frac{0,295 + 0,305}{2} = 0,300$$

Cálculo do coeficiente A/P

$$\text{A/P} = \frac{\text{Amostra A650} - \text{CN}\bar{x}}{\text{CP}\bar{x} - \text{CN}\bar{x}}$$

Ejemplo:

$$\text{A/P} = \frac{0,425 - 0,100}{0,300 - 0,100} = 0,162$$

Títulos – Relaciona A/P em uma diluição 1:500 com um título final

$$\text{Log}_{10} \text{Títulos} = 1,09 (\text{Log}_{10} \text{A/P}) + 3,36$$

Interpretação de Resultados

- Amostras de soro com coeficiente A/P menores ou iguais a 0,20 devem ser consideradas negativas.
- Coeficientes maiores que 0,20 (títulos maiores que 396) devem ser considerados positivos e indicam vacinação ou outra exposição ao APV.

Cada laboratório deve estabelecer seus próprios critérios para imunidade com respeito à títulos de anticorpos baseado em correlação de IDEXX APV com metodologias atuais de teste de laboratório, em históricos de respostas de anticorpos a vacinas e em protocolos de vacinação específicos.

A condição imunológica de um lote é melhor avaliada pela monitoria e registro de títulos de anticorpo em amostras representativas ao longo do tempo.

Os perfis resultantes dos lotes permitem uma avaliação da distribuição de títulos de anticorpos e uma análise de mudanças dos títulos ao longo do tempo.

☞ = *Modificações nas instruções de uso*

Resumo do procedimento do teste

Recomenda-se ler as instruções completas, cuidadosamente, antes de realizar o teste.

Etapa	Ação
1. Preparo e distribuição das Amostras	Diluir amostras teste em 1:500 com Diluente de Amostra antes de serem testadas (por exemplo, diluindo-se 1 μl de amostra com 500 μl de Diluente de Amostra). NOTA: NÃO DILUIR CONTROLES. Certifique-se de trocar ponteiros para cada amostra. Amostras devem ser homogêneas antes de distribuídas nas placas impregnadas. Distribuir 100 μl de Controle Negativo NÃO DILUÍDO em duas cavidades apropriadas. Distribuir 100 μl de Controle Positivo NÃO DILUÍDO em duas cavidades apropriadas. Distribuir 100 μl de amostra diluída nas cavidades apropriadas.
2. Incubação da Amostra	Incubar por 30 minutos (± 2 min.) à 18–26°C
3. Lavagem da Placa	Lavar cada cavidade com aproximadamente 350 μl de água destilada ou deionizada por 3–5 vezes.
4. Distribuição do conjugado	Distribuir 100 μl de Conjugado em cada cavidade.
5. Incubação do Conjugado	Incubar por 30 minutos (± 2 min.) à 18–26°C.
6. Repita o etapa 4	
7. Distribuição do substrato	Distribuir 100 μl de solução de substrato TMB em cada cavidade.
8. Incubação do substrato	Incubar por 15 minutos (± 1 min.) à 18–26°C.
9. Interrupção da reação	Distribuir 100 μl de Solução de Interrupção em cada cavidade para parar a reação.
10. Leitura da placa	Medir e registrar valores de absorbância a 650nm, A(650).
11. Interpretação	Amostras de soro com coeficiente A/P menores ou iguais a 0,20 devem ser consideradas negativas. Coeficientes maiores que 0,20 (títulos maiores que 396) devem ser considerados positivos e indicam vacinação ou outra exposição à APV.

**Licenciado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
sob nº nº 9.139 em 02/08/2005.
PRODUTO IMPORTADO. USO VETERINÁRIO.**

Representante exclusivo no Brasil, Importador e Distribuidor

ABASE COMÉRCIO E REPRESENTAÇÕES LTDA.

Av. Emílio Marconato, 1000 - Galpão B3

Jaguariúna – SP - CEP: 13820-000

Fone/Fax: (19) 3847-9900

CNPJ: 63.982.896/0001-71

Responsável técnico: Edison Hideyo Baba

CRMV-SP 2967

Proprietário:

IDEXX Laboratories, Inc.

One Idexx Drive, Westbrook, Maine

04092-EUA

Para assistência técnica:

Contacte o representante local IDEXX

ou visite: www.idexx.com/production/contact/

IDEXX Technical Support: 00-800-727-43399

Fabricante:

IDEXX Switzerland AG

Stationsstrasse 12

CH 3097 Liebefeld – Bern, Suíça

*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.

Kit para la detección de Anticuerpos frente al Pneumovirus Aviar

Para uso veterinario exclusivo

Nombre y uso propuesto

IDEXX APV es un ensayo inmunoenzimático de IDEXX para la detección de anticuerpos frente al Pneumovirus aviar (APV) en suero de pollo y pavo.

Información general

El Pneumovirus aviar (APV) es un virus que afecta a pollos y pavos produciendo problemas respiratorios y reproductivos cuando actúa como patógeno primario, o también puede formar parte de un síndrome multifactorial conocido como Síndrome de la Cabeza Hinchada (SCH). El aislamiento viral de APV es una tarea muy difícil, por ello el diagnóstico a través de la serología puede ser de gran utilidad en el control de esta enfermedad. Esta prueba está diseñada para el control cuantitativo de lotes de pollos o pavos que hayan sido vacunados con vacunas vivas y/o inactivadas que contengan antígenos de APV tipo A, B o C así como para el control de aves libres de patógenos específicos (SPF).

Descripción y principios

Esta prueba está diseñada para medir los niveles relativos de anticuerpos frente a APV en suero de pollo y pavo. Se tapizan los 96 pocillos de las placas con antígeno viral. Tras la incubación de la muestra en el pocillo tapizado, el anticuerpo específico frente a APV presente en la misma formará 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 o pavo que quedaron unidos. El conjugado no unido se elimina mediante lavados de la placa y se agrega a los pocillos un sustrato. El cambio de color resultante está directamente relacionado con la cantidad de anticuerpos anti-APV presentes en la muestra.

Reactivos

Conserve todos los reactivos a 2–8°C,

Reactivos		Volumen
1	Placas tapizadas con Antígeno APV	5
2	Control Positivo	1,9 ml
3	Control Negativo	1,9 ml
4	Conjugado (anti-pollo/anti-pavo HRPO)	50 ml
5	Diluyente de la Muestra	235 ml
A	Substrato TMB	60 ml
B	Solución de Frenado	60 ml

NOTA: Ver tabla en la página 28 para las explicaciones de los símbolos internacionales utilizados en las etiquetas del kit.

Materiales necesarios que no se suministran

- Pipetas de precisión monocanal o multicanal apropiadas para distribuir de 10 a 1000 μl (los volúmenes de los reactivos descritos en el apartado “Protocolo del ensayo” requieren una pipeta con una precisión del $\pm 5\%$)
- Puntas de pipeta desechables
- Cilindro graduado de 500 ml para la solución de lavado
- Lector de microplacas de 96 pocillos provisto de filtro de 650 nm
- Agua destilada o desionizada
- Dispositivo para la aplicación y aspiración de solución de lavado
- Trampa de retención de aspirado y desinfectante
- Cámara húmeda o selladores de placas
- Agitador vortex

Precauciones y advertencias para los usuarios

- Maneje todo el material biológico como material potencialmente infectado.
- No use la boca para pipetear.
- No coma, beba ni fume en los lugares donde se esté trabajando con las muestras o los reactivos del kit.
- La solución del sustrato irrita los ojos, las vías respiratorias y la piel. Evite el contacto con la piel y los ojos.
- Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
- No exponga la solución TMB a una luz intensa ni a agentes oxidantes. Maneje dicha solución con material limpio de plástico o vidrio.
- Almacene todos los reactivos entre 2–8°C. Deje que adquieran 18–26°C antes de utilizarlos, y refrigérelos de nuevo a entre 2–8°C después del uso.
- Todo el material usado deberá descontaminarse adecuadamente antes de su eliminación. Eliminar el contenido en conformidad con las regulaciones locales, regionales y nacionales.
- Manipule con cuidado los componentes del kit para evitar contaminaciones.
- No use componentes que hayan caducado y no mezcle componentes de diferentes lotes.
- Obtendrá resultados óptimos si sigue escrupulosamente este protocolo. Para mantener la precisión y reproducibilidad es necesario un pipeteo correcto, respetar los tiempos de incubación y un lavado adecuado.
- Los dos controles deben usarse para cada serie de ensayos.
- Utilice sólo agua desionizada o destilada para la preparación de los reactivos que se empleen en el ensayo.
- Los pocillos que no se usen deberán almacenarse bien cerrados dentro de su bolsa de plástico entre 2–8°C.
- Sólo para uso veterinario.

Preparación de las muestras

Diluya las muestras a una dilución 1:500 con el Diluyente de la Muestra antes de realizar el análisis (es decir, diluya 1 μl de la muestra en 500 μl del diluyente de la muestra).

NOTA: NO DILUYA LOS CONTROLES. Asegúrese de cambiar las puntas de la pipeta cada vez que tome una muestra. Mezcle bien las muestras antes de dispensarlas en la placa tapizada con antígeno APV.

Protocolo del ensayo

Todos los reactivos se deben equilibrar a 18–26°C antes de su empleo. Los reactivos deberán mezclarse invirtiéndolos o agitándolos en un vórtex suavemente. Use una punta de pipeta diferente para cada muestra.

1. Tome la(s) placa(s) tapizada(s) con antígeno y anote la posición de las muestras en una hoja de trabajo
2. Dispense 100 μl del Control Negativo NO DILUIDO en dos pocillos apropiados.
3. Dispense 100 μl de Control Positivo NO DILUIDO en dos pocillos apropiados.
4. Dispense 100 μl de la muestra diluida en los pocillos apropiados.
5. Incube durante 30 minutos (± 2 min.) a 18–26°C.
6. Lave cada pocillo de tres a cinco veces con unos 350 μl de agua destilada o desionizada.
7. Dispense 100 μl de Conjugado en cada pocillo.
8. Incube durante 30 minutos (± 2 min.) a 18–26°C.
9. Repita el paso 6.
10. Dispense 100 μl de Substrato TMB en cada pocillo.
11. Incube durante 15 minutos (± 1 min.) a 18–26°C.
12. Dispense 100 μl de la Solución de Frenado en cada pocillo para interrumpir la reacción.
13. Calibre el lector en blanco con aire.
14. Mida y anote los valores de absorbancia a 650 nm, A(650)

Resultados

Para que la prueba sea válida, la diferencia entre la absorbancia media del Control Positivo y del

Control Negativo ($CP\bar{x} - CN\bar{x}$) debe ser mayor de 0,075. La absorbancia media del Control Negativo debe ser menor o igual que 0,150. La presencia o ausencia de anticuerpos frente a APV se determina por medio del cociente 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-APV en el suero de pollo y pavo. 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 se calculan a partir de la ecuación que aparece en la sección de cálculos.

Nota: IDEXX tiene a disposición instrumentos y sistemas de software para el cálculo de valores medios y relaciones M/P, y la elaboración de resúmenes de datos.

Cálculos

Media del Control Negativo (CN \bar{x})

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A650 + CN2 A650}{2}$$

Ejemplo:

$$CN\bar{x} = \frac{0,105 + 0,095}{2} = 0,100$$

Media del Control Positivo (CP \bar{x})

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A650 + CP2 A650}{2}$$

Ejemplo:

$$CP\bar{x} = \frac{0,295 + 0,305}{2} = 0,300$$

Cociente M/P

$$M/P = \frac{\text{Muestra A650} - CN\bar{x}}{CP\bar{x} - CN\bar{x}}$$

Ejemplo:

$$M/P = \frac{0,425 - 0,100}{0,300 - 0,100} = 0,162$$

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

$$\text{Log}_{10} \text{Título} = 1,09 (\text{Log}_{10} M/P) + 3,36$$

Interpretación de los resultados

- Las muestras de suero que tengan cocientes M/P inferiores o iguales a 0,20 deben considerarse negativas.
- Las muestras con cocientes M/P superiores a 0,20 (títulos superiores a 396) deben considerarse positivas e indican que ha habido vacunación u otro tipo de exposición al APV.

Cada laboratorio debe establecer su propio criterio de inmunidad con respecto al título de anticuerpos, de acuerdo a la correlación IDEXX APV con los métodos habituales de análisis laboratorial, así como de las respuestas de anticuerpos observadas en el pasado frente a vacunas específicas y protocolos de vacunación.

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 obtenidos para cada grupo de aves permite evaluar la distribución de los títulos de anticuerpos y analizar los cambios de titulaciones en el tiempo.

👁 = *Modificación en el manual de instrucciones.*

Resumen del protocolo del test

Se recomienda antes de la realización del test por primera vez, realizar una lectura completa del manual de instrucciones

Paso	Acción
1. Preparación y distribución de las muestras	Diluya las muestras a una dilución 1:500 con el Diluyente de la Muestra antes de realizar el análisis (es decir, diluya 1 μ l de la muestra en 500 μ l del Diluyente de la Muestra). NOTA: NO DILUYA LOS CONTROLES. Asegúrese de cambiar las puntas de la pipeta cada vez que tome una muestra. Mezcle bien las muestras antes de dispensarlas en la placa tapizada con antígeno APV Dispense 100 μ l del Control Negativo NO DILUIDO en dos pocillos apropiados. Dispense 100 μ l de Control Positivo NO DILUIDO en dos pocillos apropiados. Dispense 100 μ l de la muestra diluida en los pocillos apropiados.
2. Incubación de las muestras	Incube durante 30 minutos (± 2 min.) a 18–26°C.
3. Lavado de la placa	Lave cada pocillo de tres a cinco veces con unos 350 μ l de agua destilada o desionizada
4. Distribución del conjugado	Dispense 100 μ l de Conjugado en cada pocillo.
5. Incubación del conjugado	Incube durante 30 minutos (± 2 min.) a 18–26°C
6. Repita la etapa 4	
7. Distribución del sustrato	Dispense 100 μ l de Sustrato TMB en cada pocillo
8. Incubación del sustrato	Incube durante 15 minutos (± 1 min.) a 18–26°C
9. Frenado de la reacción	Dispense 100 μ l de la Solución de Frenado en cada pocillo para interrumpir la reacción.
10. Medición de la placa	Mida y anote los valores de absorbancia a 650 nm, A(650).
11. Interpretación	Las muestras de suero que tengan cocientes M/P inferiores o iguales a 0,20 deben considerarse negativas. Las muestras con cocientes M/P superiores a 0,20 (títulos superiores a 396) deben considerarse positivas e indican que ha habido vacunación u otro tipo de exposición al APV.

Fabricado por:

IDEXX Switzerland AG
Stationsstrasse 12
3097 Liebfeld-Bern, Switzerland

Para asistencia técnica:

contacte el representante local IDEXX
o visite: www.idexx.com/production/contact
IDEXX US Technical Support: 00-800-727-43399

*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.

Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen das Aviäre Pneumovirus

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

Name und Verwendungszweck

IDEXX APV ist ein Enzymimmunoassay von IDEXX zum Nachweis von Antikörpern gegen das Aviäre Pneumovirus (APV) in Serumproben von Hühnern und Puten.

Allgemeine Informationen

Das Aviäre Pneumovirus ist pathogen für Hühner und Puten. Es kann respiratorische Symptome und Fortpflanzungsstörungen als primäres Pathogen oder im Rahmen einer als Swollen Head Syndrome (SHS) bekannten Faktorenkrankheit verursachen. Die Isolierung von APV ist schwierig. Die Diagnosestellung mittels Serologie ist deshalb eine der wichtigsten Methoden zur Kontrolle der Krankheit. Dieser Test ist vorgesehen für ein quantitatives Monitoring von Hühner- und Putenbeständen, die mit Lebend- und/oder Inaktivatimpfstoffen, die A-, B- oder C-Antigene enthalten, geimpft sind, sowie zur Detektion von mit A-, B- oder C-Serotypen des APV infizierten Tieren in naiven (SPF-) Beständen.

Beschreibung des Testprinzips

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

Reagenzien

Alle Reagenzien bei 2–8°C lagern.

Reagenzien	Menge	
1	Mit APV-Antigen beschichtete Testplatten (inaktiviert)	5
2	Positive Kontrolle	1,9 ml
3	Negative Kontrolle	1,9 ml
4	(Anti-Huhn/Anti-Pute HRPO) Konjugat	50 ml
5	Probenverdünner	235 ml
A	TMB-Substrat	60 ml
B	Stopplösung	60 ml

Bemerkung: Sie finden auf Seite 28 die Tabelle mit den Beschreibungen der auf den Testkit-Etiketten gebrauchten Symbole.

Notwendiges Material, das nicht mitgeliefert wird

- Präzisionspipetten, Multikanalpipetten, Einwegpipettenspitzen (die erforderliche Messgenauigkeit muss für sämtliche angegebenen Mengen weniger oder gleich 5% betragen).
- Photometer mit 650 nm Filter zum Lesen von Mikrotiterplatten
- Röhrchen für die Verdünnung der Proben
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Vorrichtung zum Aufbringen und Absaugen der Waschlösung

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

- Behandeln Sie das Testmaterial als potentiell infektiös.
- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- Wo mit Proben oder Reagenzien gearbeitet wird, sollte nicht gegessen, getrunken oder geraucht werden.
- Die Substratlösung ruft Augen-, Atemwegs- und Hautreizungen hervor. Einatmen, Haut- und Augenkontakt ist zu vermeiden.
- Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
- Setzen Sie die TMB-Substratlösung nicht starkem Licht oder oxidierenden Substanzen aus.
- Lagern Sie die Reagenzien bei 2–8°C. Bringen Sie diese vor Gebrauch auf 18–26°C und lagern Sie sie anschließend wieder bei 2–8°C.
- Das Testmaterial ist nach Abschluss des Testes als infektiös zu betrachten und darf nur inaktiviert entsorgt werden. Die Entsorgung infektiöser Materialien sollte nach den regionalen und nationalen Bestimmungen erfolgen.
- Eine Kontamination der Kitbestandteile mit Bakterien oder Pilzen muss sorgfältig vermieden werden. Daher bei der Handhabung der Reagenzien mit größter Sauberkeit vorgehen.
- Benutzen Sie die Testbestandteile nicht nach Ablauf des Verfalldatums und mischen Sie Testbestandteile und Testanweisungen nicht mit Bestandteilen aus anderen Chargen.
- Optimale Ergebnisse erhalten Sie nur bei strenger Einhaltung der Testanweisung. Präzision und Genauigkeit werden durch sorgfältiges Pipettieren und Waschen erzielt.
- Bei jeder Testserie die beiden Kontrollserien mittesten.
- Zur Vorbereitung der Reagenzien nur destilliertes oder entionisiertes Wasser verwenden. Alle Anweisungen dieser Gebrauchsinformation sorgfältig lesen und befolgen.
- Nicht verwendete Teststreifen sollten bei 2–8°C im verschlossenen Plastikbeutel gelagert werden.
- Nur zum tierärztlichen Gebrauch.

Vorbereitung der Proben

Verdünnen Sie die Testproben 1:500 mit dem Probenverdünner, bevor sie getestet werden (z.B. indem Sie 1 μ l der Probe mit 500 μ l des Probenverdünners verdünnen).

ACHTUNG: VERDÜNNEN SIE NICHT DIE KONTROLLEN. Die Pipettenspitze muß nach jeder Probe gewechselt werden. Mischen Sie die Proben, bevor Sie sie auf die mit APV beschichtete Platte geben.

Testanweisung

Alle Reagenzien müssen vor Gebrauch auf 18–26°C gebracht werden. Die Reagenzien sollten durch leichtes Schütteln gemischt werden. Für jede Probe eine neue Pipettenspitze verwenden.

1. Nehmen Sie die mit Antigen beschichtete(n) Platte(n) und registrieren Sie die Position der Probe auf dem Arbeitsblatt.
2. Geben Sie 100 μ l UNVERDÜNNTE negative Kontrolle in zwei entsprechende Vertiefungen.
3. Geben Sie 100 μ l UNVERDÜNNTE positive Kontrolle in zwei entsprechende Vertiefungen.
4. Geben Sie 100 μ l verdünnte Serumprobe in die entsprechenden Vertiefungen.
5. 30 Minuten (\pm 2 Min.) bei 18–26°C inkubieren.
6. Jede Vertiefung drei-bis fünfmal mit etwa 350 μ l destilliertem oder entionisiertem Wasser waschen. Nach jedem Waschvorgang den flüssigen Inhalt aller Vertiefungen absaugen.
7. Geben Sie 100 μ l Konjugat in jede Vertiefung.
8. 30 Minuten (\pm 2 Min.) bei 18–26°C inkubieren.
9. Wiederholen Sie den Schritt 6.
10. Geben Sie 100 μ l TMB-Substrat in jede Vertiefung.
11. 15 Minuten (\pm 1 Min.) bei 18–26°C inkubieren.
12. Geben Sie 100 μ l Stopplösung in jede Vertiefung, um die Reaktion zu stoppen.
13. Kalibrieren Sie das Photometer mit Luft als Leerwert.
14. Messen und notieren Sie die Extinktionswerte bei 650 nm, A(650).

Ergebnisse

Damit der Test gültig ist, soll die Differenz zwischen dem Mittelwert der positiven Kontrollen und

dem Mittelwert der negativen Kontrollen ($PK\bar{x}$ - $NK\bar{x}$) größer als 0,075 sein. Der Mittelwert der negativen Kontrolle sollte kleiner oder gleich 0,150 sein. Das Vorhandensein oder Fehlen von Antikörpern gegen das APV 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 signifikante Menge von APV-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. Endpunkttiter können von den P/PK-Verhältnissen bei einer Verdünnung von 1:500 berechnet werden, indem die Gleichung benutzt wird, die unter Berechnungen angegeben ist.

Hinweis: IDEXX hält für Sie Geräte und Softwaresysteme zur Berechnung des P/PK-Verhältnisses und zur Datenverarbeitung bereit.

Berechnungen

Mittelwert der negativen Kontrolle (NK \bar{x})

$$\text{NK}\bar{x} = \frac{\text{NK1 A650} + \text{NK2 A650}}{2}$$

Beispiel:

$$\text{NK}\bar{x} = \frac{0,105 + 0,095}{2} = 0,100$$

Mittelwert der negativen Kontrolle (PK \bar{x})

$$\text{PK}\bar{x} = \frac{\text{PK1 A650} + \text{PK2 A650}}{2}$$

Beispiel:

$$\text{PK}\bar{x} = \frac{0,295 + 0,305}{2} = 0,300$$

Verhältnis P/PK

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

Beispiel:

$$\text{P/PK} = \frac{0,425 - 0,100}{0,300 - 0,100} = 0,162$$

Titer: Nachstehende Gleichung verbindet den S/P-Wert bei einer Verdünnung von 1:500 mit einem Endpunkttiter:

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

Interpretation der Ergebnisse

- Serumproben mit einem P/PK-Verhältnis kleiner oder gleich 0,20 sollten als negativ angesehen werden.
- P/PK-Verhältnisse größer als 0,20 (Titer größer als 396) sollten als positiv angesehen werden und indizieren einen Kontakt mit APV-Impfstoff oder einem APV-Antigen.

Jedes Labor sollte seine eigenen Erfahrungswerte für die Interpretation der IDEXX APV-Ergebnisse sammeln. Dazu sollten die Ergebnisse früher angewandter serologischer Testsysteme mit den IDEXX APV-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.

👁 = Wichtige Veränderung der Gebrauchsanweisung (Protokoll, Validationskriterien oder Auswertung)

Kurzbeschreibung

Es ist empfehlenswert, vor dem ersten Gebrauch des Testkits die gesamte Anleitung durchzulesen.

Schritt	Handlung
1. Vorbereitung und Verteilung der Proben	Verdünnen Sie die Testproben 1:500 mit dem Probenverdünnungspuffer, bevor sie getestet werden (z.B. indem Sie 1 µl der Probe mit 500 µl des Probenverdünnungspuffers verdünnen). ACHTUNG: VERDÜNNEN SIE NICHT DIE KONTROLLEN. Die Pipettenspitze muß nach jeder Probe gewechselt werden. Mischen Sie die Proben, bevor Sie sie auf die mit APV beschichtete Platte geben. Geben Sie 100 µl UNVERDÜNNTENegative Kontrolle in zwei entsprechende Vertiefungen. Geben Sie 100 µl UNVERDÜNNTENegative Kontrolle in zwei entsprechende Vertiefungen. Geben Sie 100 µl verdünnte Serumprobe in die entsprechenden Vertiefungen.
2. Probeninkubation	30 Minuten (± 2 Min.) bei 18–26°C inkubieren
3. Waschen der Platte	Jede Vertiefung drei-bis fünfmal mit etwa 350 µl destilliertem oder entionisiertem Wasser waschen. Nach jedem Waschvorgang den flüssigen Inhalt aller Vertiefungen absaugen.
4. Konjugatverteilung	Geben Sie 100 µl Konjugat in jede Vertiefung.
5. Konjugatinkubation	30 Minuten (± 2 Min.) bei 18–26°C inkubieren.
6. Wiederholen Sie Schritt 4	
7. Substratverteilung	Geben Sie 100 µl TMB-Substrat in jede Vertiefung.
8. Substratinkubation	15 Minuten (± 1 Min.) bei 18–26°C inkubieren.
9. Stoppen der Reaktion	Geben Sie 100 µl Stopplösung in jede Vertiefung, um die Reaktion zu stoppen.
10. Messen der Platte	Messen und notieren Sie die Extinktionswerte bei 650 nm, A(650).
11. Interpretation	Serumproben mit einem P/PK-Verhältnis kleiner oder gleich 0,20 sollten als negativ angesehen werden. P/PK-Verhältnisse größer als 0,20 (Titer größer als 396) sollten als positiv angesehen werden und indizieren einen Kontakt mit APV-Impfstoff oder einem APV-Antigen.






Zul.–Nr.: BFAV– B383

Produziert durch:
 IDEXX Switzerland AG
 Stationsstrasse 12
 3097 Liebfeld-Bern, Switzerland

Für Technische Unterstützung:
 Kontaktieren Sie den lokalen IDEXX-Vertreter
 oder besuchen Sie: www.idexx.com/production/contact
 IDEXX Technical Support: 00-800-727-43399

*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..

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

<p>LOT</p> <p>Batch Code (Lot) Code de lot (Lot) Chargenbezeichnung (Partie) Codice del lotto (partita) Código de lote (Lote) Número de Partida (Lote)</p>	<p>Use by À utiliser avant Verwendbar bis Usare entro Usar antes de Data de Vencimento</p> 
<p>SN</p> <p>Serial Number Numéro de série Seriennummer Numero di serie Número de serie Número de série</p>	<p>CONTROL +</p> <p>Control positive Contrôle positif Positive Kontrolle Controllo Positivo Control Positivo Controle Positivo</p>
<p>REF</p> <p>Catalog Number Numéro de catalogue Bestellnummer Numero di catalogo Número de catálogo Número de catálogo</p>	<p>CONTROL -</p> <p>Control negative Contrôle négatif Negative Kontrolle Controllo Negativo Control Negativo Controle Negativo</p>
<p>IVD</p> <p>Date of manufacture Date de fabrication Herstellungsdatum Data di produzione Fecha de producción Data de Fabricação</p> 	<p>IVD</p> <p>In vitro diagnostic Diagnostic in vitro In vitro-Diagnostikum Diagnóstico in vitro Diagnóstico in-vitro Diagnóstico in-vitro</p>
<p>Manufacturer Fabricant Hersteller Ditta produttrice Fabricante Fabricante</p> 	<p>Temperature limitation Température limite Zulässiger Temperaturbereich Temperatura limite Límite de temperatura Limite de temperatura</p> 
<p>EC REP</p> <p>Authorized Representative in the European Community Représentant agréé pour la C.E.E. Autorisierte EG-Vertretung Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea Representante autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea</p>	<p>Consult instructions for use Consulter la notice d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten Consultare le istruzioni per l'uso Consultar las instrucciones de uso Consulte instruções para o uso</p> 

IDEXX

Manufacturer

IDEXX Switzerland AG
Stationsstrasse 12
3097 Liebefeld-Bern
Switzerland

EU-Representative

IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1334
2130 EK Hoofddorp
The Netherlands
idexx.com