



Influenza A Virus Antibody Test Kit

Kit de détection d'anticorps contre le virus de l'Influenza A

Kit para Detecção de Anticorpos contra Influenza A

USO VETERINÁRIO

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

Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der
Influenza A

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

Test With Confidence*

Influenza A Virus Antibody Test Kit

For veterinary use only

Name and Intended Use

IDEXX Influenza A Test Kit is an enzyme immunoassay for the detection of antibody to influenza A virus in animal serum.

General Information

Domestic and wild animal species are affected by the influenza A virus. The disease is characterized by a wide range of responses that include virtually no clinical signs to variable mortality. The severity of influenza A will vary with the strain and/or isolate of the virus, the age and the immune status of the animal, the presence of concurrent viral infections and whether influenza A is complicated by secondary infections. Respiratory signs include coughing, nasal and/or ocular discharge, sneezing and dyspnea. Hyperthermia may be observed with associated anorexia, weight loss, lethargy and prostration. Because of the variation and severity of clinical symptoms, serological testing has significant advantages. Monitoring for exposure of a flock or herd to influenza A is facilitated by the measurement of antibody to influenza A in serum.

Descriptions and Principles

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

Reagents

Store all reagents at 2–8°C.

Reagents		Volume
1	Influenza A Antigen Coated Plate	5
2	Positive Control	2.0 mL
3	Negative Control	2.0 mL
4	Conjugate (Anti-Influenza A: HRPO)	55 mL
5	Dilution Buffer	235 mL
A	TMB Substrate	60 mL
B	Stop Solution	60 mL
C	Wash Concentrate (10X)	235 mL

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

Materials Required but Not Provided

- Precision pipettes or multiple delivery pipetting devices (reagents volumes listed in the “Test Protocol” require pipette precision of $\leq 5\%$)
- Disposable pipette tips
- 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 influenza A biological materials as though capable of transmitting influenza A. The antigen-coated plates may be a source of influenza A. Prior to coating on the solid phase, the antigen has been inactivated by chemical treatment. Nevertheless, do not assume complete inactivation.
- Some kit components contain sodium azide as a preservative. Disposal requires flushing plumbing with large volumes of water to prevent formation of copper or lead azide complexes, which may explode upon percussion. All wastes should be properly decontaminated prior to disposal. Dispose of contents in accordance with local, regional and national regulations.
- Do not expose TMB solutions to strong light or any oxidation agents. Store all reagents at 2–8°C
- Do not use components past expiration date and do not intermix components from kits with different lot numbers.
- 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.
- For veterinary use only.
- Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

Preparation of Reagents

Wash Solution

The Wash Concentrate (10X) should be brought to 18–26°C and mixed to ensure dissolution of any precipitated salts. The Wash Concentrate (10X) must be diluted 1 to 10 with distilled/deionized water before use (e.g., 30 ml of Wash Concentrate (10X) plus 270 ml of water per plate to be assayed). When prepared under sterile conditions, the Wash Solution can be stored for one week at 2–8°C.

Preparation of Samples

Dilute test samples tenfold (1/10) with the Dilution Buffer prior to being assayed (e.g. by diluting 15 μL of sample with 135 μL of Dilution Buffer).

DO NOT DILUTE THE CONTROLS.

Use a separate pipette tips for each sample. Samples should be mixed thoroughly before being distributed on the plates.

Test Procedure

All reagents must be allowed to come to 18–26°C before use.

Reagents should be mixed by gentle swirling or vortexing. Use a separate pipette tip for each sample.

1. Obtain coated plates and record the sample position on a worksheet.
2. Dispense 100 μL of UNDILUTED Negative Control into two wells.
3. Dispense 100 μL of UNDILUTED Positive Control into two wells.
4. Dispense 100 μL of diluted samples into remaining wells.
5. Incubate for 60 minutes (± 5 min.) at 18–26°C.
6. Wash each well with approximately 350 μL of Wash Solution 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 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 spectrophotometer on air.
14. Measure and record the absorbance of the samples and controls at 650 nm.
15. Calculate the results.

Results

For the assay to be valid, the Negative Control mean ($\text{NC}\bar{x}$) must be greater than or equal to 0.600 optical density (OD). In addition, the Positive Control mean S/N must be less than 0.50. For invalid assays, technique may be suspect and the assay should be repeated following a thorough review of the package insert. The presence or absence of antibody to Influenza A is determined by the sample to negative (S/N) ratio for each sample.

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

Calculation

Calculation of Negative

Control mean (NC \bar{x})

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

Calculation of Positive Control

mean (PC \bar{x})

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

Calculation for test sample

$$S/N = \frac{\text{Sample mean A650}}{NC\bar{x}}$$

Interpretation of Results

Avian Cutoff:

- Samples with S/N values < 0.50 should be considered influenza A antibody positive.
- Samples with an S/N ratio \geq 0.50 are considered negative for the presence of influenza A antibodies.

Other Animal Species Cutoff:

- Samples with S/N values < 0.60 should be considered influenza A antibody positive.
- Samples with an S/N ratio \geq 0.60 are considered negative for the presence of influenza A antibodies.

Note: Heat inactivation of sera from geese may give a weak false positive test result.

👁 = *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 of Reagents	The Wash Concentrate (10X) must be diluted 1 to 10 with distilled/deionized water before use.
2. Sample Preparation	Dilute test samples tenfold (1/10) with the Dilution Buffer prior to being assayed.
3. Sample Distribution	Dispense 100 μ L of UNDILUTED Negative Control into two wells. Dispense 100 μ L of UNDILUTED Positive Control into two wells. Dispense 100 μ L of diluted samples into remaining wells.
4. Sample incubation	Incubate for 60 minutes (\pm 5 min.) at 18–26°C.
5. Washing the plate	Wash each well with approximately 350 μ L of Wash Solution 3–5 times.
6. Conjugate distribution	Dispense 100 μ L of Conjugate into each well.
7. Conjugate incubation	Incubate for 30 minutes (\pm 2 min) at 18–26°C
8. Repeat step 5	
9. Substrate Distribution	Dispense 100 μ L of TMB Substrate solution into each well
10. Substrate Incubation	Incubate 15 minutes (\pm 1 min) at 18–26°C
11. Stopping the reaction	Dispense 100 μ L of Stop Solution into each well to stop the reaction
12. Measure the plate	Blank the spectrophotometer on air. Measure and record the absorbance of the samples and controls at 650 nm. Calculate the results.
13. Interpretation	<u>Avian Cutoff:</u> Samples with S/N values < 0.50 should be considered influenza A antibody positive. Samples with an S/N ratio \geq 0.50 are considered negative for the presence of influenza A antibodies. <u>Other Animal Species Cutoff:</u> Samples with S/N values < 0.60 should be considered influenza A antibody positive. Samples with an S/N ratio \geq 0.60 are considered negative for the presence of influenza A antibodies.

Manufactured by:

IDEXX Montpellier SAS
326 rue de la Galéra – Parc Euromédecine
34090 Montpellier, France

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 d'anticorps contre le virus de l'Influenza A

Réservé à l'usage vétérinaire

Définition et application

Le kit IDEXX Influenza A est une épreuve immunoenzymatique pour la détection d'anticorps contre le virus de l'Influenza A à partir d'échantillons de sérum animal.

Informations Générales

Les espèces domestiques et sauvages sont affectées par le virus de l'Influenza A. Cette maladie se caractérise du point de vue clinique par une grande variété de réponses qui peuvent varier de pratiquement aucun signe clinique à un taux de mortalité élevé. La gravité de l'infection à l'Influenza A varie en fonction de la souche virale ou de l'isolat, de l'âge et du statut immunitaire de l'animal, de la présence potentielle d'infections virales concurrentes et/ou d'infections secondaires. Les signes respiratoires incluent la toux, des écoulements nasaux et/ou oculaires, étournements et dyspnée. De l'hyperthermie associée avec de l'anorexie peut être observée ainsi que la perte de poids, léthargie et prostration. Compte tenu de la variation et de la gravité des symptômes cliniques, il est très avantageux de procéder à des tests de dépistage sérologique. Au niveau d'un élevage, ce dépistage est facilité par la détection d'anticorps contre l'Influenza A dans le sérum.

Description et principe

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

Réactifs

Stocker tous les réactifs à 2–8°C.

Réactifs		Quantité
1	Plaque sensibilisée avec des antigènes de l'Influenza A	5
2	Contrôle positif	2,0 ml
3	Contrôle négatif	2,0 ml
4	Conjugué	55 ml
5	Tampon de dilution	235 ml
A	Substrat TMB	60 ml
B	Solution d'arrêt	60 ml
C	Solution de lavage concentrée (10X)	235 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 (la précision requise pour la mesure des volumes indiqués au « Mode Opérateur » doit être $\leq 5\%$).
- Cônes de pipettes à usage unique
- Lecteur de microplaques équipé d'un filtre à 650 nm
- Tubes de dilution pour échantillons
- Eau distillée ou désionisée
- Système de lavage manuel, semi-automatique ou automatique

Mises en garde et précautions d'emploi

- Manipulez toutes les substances biologiques relatives à l'Influenza A comme étant en mesure de transmettre l'Influenza A : les plaques revêtues d'antigènes doivent être manipulées comme étant une source potentielle d'Influenza A. Avant de procéder au revêtement en phase solide, l'antigène a été inactivé par traitement chimique. Néanmoins, ne présumez pas que l'inactivité est complète.
- Certains composants de la trousse contiennent de l'azoture de sodium comme agent de conservation. Lorsque vous en rejetez dans l'évier, il est nécessaire de rincer avec de grandes quantités d'eau afin de prévenir la formation de complexes d'azoture de cuivre ou de plomb, lesquels peuvent exploser lors de percussion. 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.
- N'exposez pas la solution de TMB à la lumière vive ou à des agents d'oxydation. Conservez tous les réactifs à 2–8°C.

- Ne pas utiliser les composants après leurs dates d'expiration et ne pas mélanger les composants provenant de kits portant différents numéros de lots.
- Il est nécessaire de procéder avec soin au pipetage et au lavage afin d'obtenir des résultats précis et exacts. Ce n'est qu'en adhérant rigoureusement à ce protocole que vous obtiendrez des résultats optimaux.
- Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
- Réactifs réservés à l'usage vétérinaire.

Préparation des réactifs

Solution de lavage

Porter la Solution de lavage concentrée (10X) à 18–26°C et bien l'homogénéiser pour assurer la dissolution complète d'éventuels cristaux. Diluer la Solution de lavage concentrée (10X) au 1/10 dans de l'eau distillée ou déionisée avant utilisation (Ex: 30 ml de Solution de lave concentrée (10X) + 270 ml d'eau distillée par plaque). Préparée dans des conditions stériles, la Solution de lavage reconstituée (1x) est stable pendant une semaine à 2–8°C.

Préparation des échantillons

Diluez tout d'abord les échantillons à tester dans le Tampon de dilution au 1/10 ; p.ex., en diluant 15 μ l d'échantillon dans 135 μ l de Tampon de dilution.

REMARQUE : NE PAS DILUEZ LES CONTRÔLES.

Assurez-vous de changer les embouts pour chaque échantillon. Les échantillons doivent être bien mélangés avant d'être distribués sur la plaque.

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 plaque(s) sensibilisée(s) nécessaire(s) à la manipulation et établir le plan de distribution d'échantillons sur la microplaque.
2. Distribuer 100 μ l de Contrôle négatif NON DILUÉ dans deux cupules.
3. Distribuer 100 μ l de Contrôle positif NON DILUÉ dans deux cupules.
4. Distribuer 100 μ l d'échantillons dilués dans les puits appropriés.
5. Incuber pendant 60 minutes (\pm 5 minutes) à 18–26°C.
6. Laver 3 à 5 fois chaque puits à l'aide d'environ 350 μ l de Solution de lavage.
7. Distribuer 100 μ l de Conjugué dans chaque puits.
8. Incuber pendant 30 minutes (\pm 2 minutes) à 18–26°C.
9. Répéter l'étape 6.
10. Distribuez 100 μ l de Substrat TMB dans chaque puits.
11. Incubez pendant 15 minutes (\pm 1 minute) à 18–26°C.
12. Distribuer 100 μ l de Solution d'arrêt dans chaque puits pour stopper la réaction.
13. Faire le blanc du lecteur sur l'air.
14. Mesurer et noter la densité optique à A(650).

Résultats

Pour que l'essai soit valide, la densité optique du Contrôle négatif A(650) doit être supérieure ou égale à 0,600 et la valeur moyenne E/N du Contrôle positif doit être inférieure à 0,50. Si le test est invalide, la technique doit être suspectée et l'essai devrait être répété. La présence ou l'absence d'anticorps anti-Influenza A est déterminée par le rapport Echantillon/Control négatif (E/N) pour chaque échantillon.

Note: IDEXX est en mesure de vous fournir matériel et logiciel informatique pour le calcul des résultats et l'enregistrement des données.

Calculs

Calcul de la valeur moyenne de

DO du Contrôle négatif ($CN\bar{x}$)

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

Calcul de la moyenne de DO du

Contrôle positif ($CP\bar{x}$)

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

Calcul du rapport E/P

$$E/P = \frac{\text{Éch. A650 moyen}}{CN\bar{x}}$$

Interprétation

Valeur seuil pour les échantillons de sérum aviaire:

- Les échantillons dont le rapport E/N est < 0,50 doivent être considérés comme positif en anticorps anti-influenza A.
- Les échantillons dont le rapport E/N est \geq 0,50 sont considérés comme négatifs pour la présence d'anticorps anti-Influenza A.

Valeur seuil pour les autres espèces animales :

- Les échantillons dont le rapport E/N est < 0,60 doivent être considérés comme positif en anticorps anti-Influenza A.
- Les échantillons dont le rapport E/N est \geq 0,60 sont considérés comme négatifs pour la présence d'anticorps anti-Influenza A.

L'inactivation des échantillons d'oies par la chaleur peut engendrer des résultats faux positifs faibles.

☞ = *Modification du mode d'emploi*

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 des réactifs	Diluer la solution de lavage concentrée (10X) au 1/10 dans de l'eau distillée ou désionisée.
2. Préparation des échantillons	Diluez tout d'abord les échantillons à tester dans le Tampon de dilution au 1/10.
3. Distribution des échantillons	Distribuer 100 µl de Contrôle négatif NON DILUÉ dans deux cupules. Distribuer 100 µl de Contrôle positif NON DILUÉ dans deux cupules. Distribuer 100 µl d'échantillons dilués dans les puits appropriés.
4. Incubation des échantillons	Incuber pendant 60 minutes (± 5 minutes) à 18–26°C.
5. Lavage des plaques	Laver 3 à 5 fois chaque puits à l'aide d'environ 350 µl de Solution de lavage .
6. Distribution du Conjugué	Distribuer 100 µl de Conjugué dans chaque puits .
7. Incubation du conjugué	Incuber pendant 30 minutes (± 2 minutes) à 18–26°C.
8. Répéter l'étape 5	
9. Distribution du substrat	Distribuez 100 µl de de Substrat TMB dans chaque puits.
10. Incubation du substrat	Incubez pendant 15 minutes (± 1 minute) à 18–26°C.
11. Arrêt de la réaction	Distribuer 100 µl de Solution d'arrêt dans chaque puits pour stopper la réaction.
12. Lecture de la plaque	Faire le blanc du lecteur sur l'air. Mesurer et noter la densité optique à A(650).
13. Interprétation	<u>Valeur seuil pour les échantillons de sérum aviaire:</u> Les échantillons dont le rapport E/N est < 0.50 doivent être considérés comme positifs en anticorps anti-Influenza A. Les échantillons dont le rapport E/N est ≥ 0.50 sont considérés comme négatifs pour la présence d'anticorps anti-Influenza A. <u>Valeur seuil pour les autres espèces animales :</u> Les échantillons dont le rapport E/N est < 0.60 doivent être considérés comme positifs en anticorps anti-Influenza A. Les échantillons dont le rapport E/N est ≥ 0.60 sont considérés comme négatifs pour la présence d'anticorps anti-Influenza A.

Fabricant:

IDEXX Montpellier SAS
326 rue de la Galéra – Parc Euromédecine
34090 Montpellier – France

Pour toute assistance technique:

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 Influenza A

Para uso exclusivamente veterinário.

Nome e Indicações

IDEXX Influenza A é um ensaio imunoenzimático da IDEXX para a detecção de anticorpos do vírus da gripe aviária (IA) no soro de animais.

Informações gerais

Espécies animais domésticas e selvagens são afetadas pelo vírus da influenza A. A doença é caracterizada por uma ampla gama de respostas que incluem virtualmente desde a ausência de sinais clínicos até mortalidade variável. A severidade da influenza A pode variar de acordo com a cepa e/ou isolamento do vírus, a idade ou o estado imunitário do animal, a presença de infecções virais concorrentes e com o fato de a influenza A ter ou não complicações causadas por infecções secundárias. Sinais respiratórios incluem tosse, descarga nasal e/ou ocular, espirros e dispnéia. Hipertermia pode ser observada juntamente com a associação de falta de apetite, perda de peso, letargia e prostração. Devido à variedade e à severidade dos sintomas clínicos, o teste sorológico apresenta vantagens significantes. O monitoramento da exposição de um bando de aves ou de um rebanho à influenza A é facilitada pela medição de anticorpos direcionados contra a influenza A no soro.

Descrição e Princípios

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

Reagentes

Armazene todos os reagentes entre 2–8°C.

Reagentes		Volume
1	Placa impregnada com Antígeno Influenza A	5
2	Controle Positivo	2,0 ml
3	Controle Negativo	2,0 ml
4	Conjugado	55 ml
5	Tampão de Diluição	235 ml
A	Substrato TMB	60 ml
B	Solução de Interrupção	60 ml
C	Concentrado de Lavagem (10X)	235 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 ou pipetas multicanais (de acordo com o "Protocolo de Teste", os volumes exigidos para os reagentes requerem pipeta com precisão de $\leq 5\%$)
- Ponteiros de pipeta descartáveis
- Leitora para placas de 96 cavidades equipada com filtro de 650 nm
- Tubos para diluição
- Água destilada ou deionizada
- Dispositivo para distribuição e aspiração da solução de lavagem

Precauções e Advertências aos Usuários

- Manuseie qualquer material biológico IA como se fosse capaz de transmitir IA. As placas abertas com antígeno podem ser uma fonte de IA. Antes do revestimento em fase sólida, o antígeno foi inativado através de tratamento químico. Mesmo assim, não assumam uma inativação completa.
- Alguns componentes do kit contêm azida de sódio como conservante. O descarte requer descarga com grande volume de água corrente, para evitar a formação de complexos de azida de cobre ou chumbo que podem explodir com o choque. Todos os resíduos devem ser adequadamente descontaminados antes de serem eliminados. Descarte o material conforme regulações locais, regionais e nacionais
- Não exponha as soluções de TMB à luz forte ou a qualquer agente oxidante. Armazene todos os reagentes a 2–8°C.
- Não utilize componentes após o prazo de validade, e não misture componentes de kits com números de lote diferentes.

- Resultados ótimos serão obtidos seguindo-se rigorosamente o protocolo deste teste. Pipetagem cuidadosa, observação do tempo e lavado durante todo o procedimento são necessários para manter a precisão e acurácia
- Usar luvas, avental, mascara para proteger o rosto e oculos protetores
- Somente para uso veterinário.

Preparação dos reagentes

Solução de Lavagem

Permitir que a solução concentrada de lavagem (10x) atinja a 18–26°C e agitar para garantir que possíveis sais precipitados se dissolvam. A solução deve ser diluída em 1/10 em água destilada/deionizada antes de ser empregada (por exemplo, 30 ml de concentrado mais 270 ml de água por placa a ser analisada).

Quando preparada em condições estéreis, a solução de lavagem (1x) pode ser armazenada por uma semana a 2–8°C.

Preparação dos amostras

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

Protocolo do teste

Os reagentes devem estar a 18–26°C antes do uso. Homogeneiza-los através de inversão com movimentos circulares suaves ou com auxílio de um vortex.

1. Obtenha a(s) placa(s) impregnada(s) com antígeno e marque a posição das amostras em uma planilha.
2. Distribua 100 µl de Controle Negativo NÃO DILUÍDO nas duas avidades adequadas.
3. Distribua 100 µl de Controle Positivo NÃO DILUÍDO nas duas avidades adequadas.
4. Distribua 100 µl de amostra diluída nas cavidades restantes.
5. Incube por 60 minutos (± 5 min.) a 18–26°C.
6. Lave 3–5 vezes cada cavidade com aproximadamente 350 µl de solução de lavagem. Distribua 100 µl do conjugado em cada cavidade.
7. Incube por 30 minutos (± 2 min.) a 18–26°C.
8. Repita a etapa 6.
9. Distribua 100 µl de Substrato TMB em cada cavidade.
10. Incube por 15 minutos (± 1 min.) a 18–26°C no escuro.
11. Adicione 100 µl de Solução de Interrupção em cada cavidade para deter a reação.
12. Calibre o espectrofotômetro ao ar.
13. Meça e anote a absorbância das amostras e controles a 650 nm.
14. Calcule os resultados.

Resultados

Para garantir a validade do ensaio, a média do controle negativo ($CN\bar{x}$) deve ser superior ou equivalente a uma densidade ótica (OD) de 0,600. Além disso, a relação entre o controle positivo ($CP A_{650}$) e a média do controle negativo ($CN\bar{x}$) deve ser inferior a 0,50. Quando os testes são inválidos, deve-se suspeitar da técnica e o teste deve ser repetido, seguindo uma meticulosa revisão das instruções. A presença ou a ausência de anticorpos contra Influenza A é determinada pela percentagem de bloqueio de cada amostra.

NOTA: A IDEXX Laboratories, Inc. dispõe de instrumentos e sistemas de software para calcular médias e % de bloqueio, e fornecer resumos de dados.

Cálculos

Cálculo da média do controle negativo ($CN\bar{x}$)

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A_{650} + CN2 A_{650}}{2}$$

Cálculo da média do controle positivo ($CP\bar{x}$)

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A_{650} + CP2 A_{650}}{2}$$

Cálculo das amostras de teste

$$A/P = \frac{\text{Amostra } \bar{x} A_{650}}{CN\bar{x}}$$

Interpretação de Resultados

Aves

- Amostras com razão A/P < 0,50 são consideradas como positivas para a presença de anticorpos IA.
- Amostras com razão A/P ≥ 0,50 são consideradas como negativas para a presença de anticorpos IA.

Outras espécies

- Amostras com razão A/P < 0,60 são consideradas como positivas para a presença de anticorpos IA.
- Amostras com razão A/P ≥ 0,60 são consideradas como negativas para a presença de anticorpos IA.

A inactivação térmica de amostras de gansos pode causar falsos positivos baixo.

Resumo do procedimento do teste

E extremamente recomendável que se leia cuidadosamente as informações completas, antes de usar o teste pela primeira vez.

Etapa	Ação
1. Preparo das reagentes	A solução deve ser diluída em 1/10 em água destilada/deionizada antes de ser empregada.
2. Preparo das Amostras	Dilua as amostras de teste na proporção de 1/10 com Tampão de Diluição antes do ensaio.
3. Distribuição das Amostras	Distribua 100 µl de Controle Negativo NÃO DILUÍDO nas duas avidades adequadas. Distribua 100 µl de Controle Positivo NÃO DILUÍDO nas duas avidades adequadas. Distribua 100 µl de amostra diluída nas cavidades restantes.
4. Incubação da Amostra	Incube por 60 minutos (± 5 min.) a 18–26°C.
5. Lavagem da Placa	Lave 3–5 vezes cada cavidade com aproximadamente 350 µl de solução de lavagem.
6. Distribuição do conjugado	Distribua 100 µl do conjugado em cada cavidade.
7. Incubação do Conjugado	Incube por 30 minutos (± 2 min.) a 18–26°C.
8. Repita o passo 5	
9. Distribuição do substrato	Distribua 100 µl de Substrato TMB em cada cavidade.
10. Incubação do substrato	Incube por 15 minutos (± 1 min.) a 18–26°C no escuro.
11. Bloqueio da reação	Adicione 100 µl de Solução de Interrupção em cada cavidade para deter a reação.
12. Leitura da placa	Calibre o espectrofotômetro ao ar. Meça e anote a absorbância das amostras e controles a 650 nm. Calcule os resultados.
13. Interpretação	<u>Aves</u> Amostras com razão A/P $< 0,50$ são consideradas como positivas para a presença de anticorpos IA. Amostras com razão A/P $\geq 0,50$ são consideradas como negativas para a presença de anticorpos IA. <u>Outras espécies</u> Amostras com razão A/P $< 0,60$ são consideradas como positivas para a presença de anticorpos IA. Amostras com razão A/P $\geq 0,60$ são consideradas como negativas para a presença de anticorpos IA.

*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.

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 Montpellier SAS

326 rue de la Galéra

Parc Euromédecine

34090 Montpellier

France

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

Para uso veterinario exclusivo

Nombre y uso propuesto

IDEXX Influenza A es un inmunoensayo enzimático para la detección de anticuerpos frente al virus de la Influenza A en muestras de suero.

Información general

Las especies domésticas y silvestres se ven afectadas por los virus de la Influenza A. La enfermedad en sí se caracteriza por una amplia variedad de respuestas, que van desde la ausencia virtual de signos clínicos hasta mortalidad alta. La virulencia de la influenza A varía con la cepa y/o aislamiento viral, la edad y el estatus inmunitario del animal, la presencia de infecciones virales habituales y la eventual complicación con infecciones secundarias. Los signos respiratorios incluyen tos, descarga nasal y/u ocular, estornudos y disnea. La hipertermia puede observarse en asociación con anorexia, pérdida de peso, letargia y postración. Debido a la variación y gravedad de los síntomas clínicos, las pruebas serológicas nos aportan importantes ventajas para la detección de la Influenza A. La vigilancia de la exposición de grupos animales se facilita con la medición de anticuerpos frente al virus de la Influenza A en el suero.

Descripción y principios

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

Reactivos

Conserve todos los reactivos a 2–8°C

Reactivos		Cantidad
1	Placa tapizada con Antígeno de la Influenza A	5
2	Control Positivo	2,0 ml
3	Control Negativo	2,0 ml
4	Conjugado	55 ml
5	Solución Tampón de Dilución	235 ml
A	Substrato TMB	60 ml
B	Solución de Frenado	60 ml
C	Solución Concentrada de Lavado (10X)	235 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 (los volúmenes de los reactivos descritos en el apartado “Protocolo del ensayo” requieren una pipeta con una precisión de $\leq 5\%$)
- Puntas de pipeta desechables
- Lector de microplacas de 96 pocillos provisto de filtro de 650 nm
- Tubos para dilución de muestras
- Agua destilada o desionizada
- Dispositivo para la aplicación y aspiración de solución de lavado

Precauciones y advertencias para los usuarios

- Manipular todos los materiales biológicos de la Influenza A como si pudieran transmitir la Influenza A. Las placas tapizadas con antígeno podrían ser una fuente de Influenza A. Antes del tapizado en la fase sólida, se ha inactivado el antígeno mediante tratamiento químico. No obstante, no hay que presuponer su inactivación total.
- Algunos componentes del kit contienen azida de sodio como conservante. La eliminación requiere lavar con agua en abundancia las cañerías para que no se formen complejos de cobre o azida de plomo que podrían explotar por percusión. Todo el material usado deberá descontaminarse adecuadamente antes de su eliminación. Eliminar el contenido en conformidad con las regulaciones locales, regionales y nacionales.
- No exponer las soluciones TMB a luz intensa o a agentes oxidantes. Conservar todos los reactivos a 2–8°C.
- 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.
- Todos los desechos deberían descontaminarse apropiadamente antes de eliminarse. No utilizar componentes después de su fecha de caducidad y no mezclar componentes de kits con distintos números de lote. Para mantener la precisión y la exactitud, el pipeteado y el lavado deben hacerse con cuidado a lo largo de este procedimiento. El estricto seguimiento de este protocolo garantizará unos resultados óptimos.
- Sólo para uso veterinario.
- Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Preparación de los reactivos

Solución de Lavado

La Solución de Lavado Concentrada (10X) debe dejarse a 18–26°C y agitarse para asegurar la disolución de posibles sales precipitadas. Esta solución deberá diluirse a 1/10 con agua destilada/desionizada antes de emplearla (por ej., 30 ml de concentrado más 270 ml de agua por placa a analizar). Preparándose en condiciones estériles, la solución de lavado puede almacenarse durante una semana a 2–8°C.

Preparación de las muestras

Diluya las muestras 10 veces (1/10) con la Solución Tampón de Dilución antes de analizarlas (por ejemplo, mediante la dilución de 15 µl de muestra con 135 µl de la Solución Tampón de Dilución).

NOTA: NO DILUYA LOS CONTROLES. No olvide cambiar las puntas para cada muestra. Las muestras deben estar mezcladas correctamente antes de dispensarlas.

Protocolo del ensayo

Debe dejarse que todos los reactivos adquieran a 18–26°C antes de usarlos. Los reactivos deberán mezclarse invirtiéndolos o agitándolos en un vórtex suavemente.

1. Tome la(s) placa(s) tapizada(s) con antígenos y marque la posición de la muestra en una hoja de trabajo.
2. Dispense 100 μ l de control negativo NO DILUIDO en dos pocillos.
3. Dispense 100 μ l de control positivo NO DILUIDO en dos pocillos.
4. Dispense 100 μ l de muestra diluida en los pocillos correspondientes.
5. Incube durante 60 minutos (\pm 5 minutos) a 18–26°C.
6. Lave cada pocillo con aproximadamente 350 μ l de solución de lavado de 3 a 5 veces.
7. Dispense 100 μ l de Conjugado en cada pocillo.
8. Incube durante 30 minutos (\pm 2 minutos) a 18–26°C.
9. Repita el paso 6.
10. Dispense 100 μ l de Substrato TMB en cada pocillo.
11. Incube durante 15 minutos (\pm 1 minuto) a 18–26°C.
12. Dispense 100 μ l de Solución de Frenado en cada pocillo para detener la reacción.
13. Calibre el lector en blanco con aire.
14. Meda y anote los valores de la absorbencia a 650nm, A(650).

Resultados

Para que el ensayo sea válido, la absorbancia media A(650) del control negativo debe ser superior o igual a 0,600, y la relación M/N del control positivo debe ser inferior a 0,50. En el caso de análisis no válidos, la técnica podría ser la causante y habría que repetir el ensayo. La presencia o ausencia de anticuerpos frente a la IA se determina por la relación muestra-control negativo (M/N) para cada muestra.

Cálculos

Cálculo de la media del Control Negativo (CN \bar{x})

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

Cálculo de la media del Control Positivo (CP \bar{x})

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

Cálculo del coeficiente Muestra sobre Positivo (M/P)

$$M/N = \frac{\text{Media Muestra A650}}{CN\bar{x}}$$

Interpretación de los resultados

Suero aviar:

- Las muestras con valores $M/N < 0,50$ deberán considerarse positivas a la presencia de anticuerpos frente a la Influenza A.
- Las muestras con una relación $M/N \geq 0,50$ se consideran negativas a la presencia de anticuerpos frente a la Influenza A.

Suero de otras especies:

- Las muestras con valores $M/N < 0,60$ deberán considerarse positivas a la presencia de anticuerpos frente a la Influenza A.
- Las muestras con una relación $M/N \geq 0,60$ se consideran negativas a la presencia de anticuerpos frente a la Influenza A.

La inactivación del suero por calor puede dar como resultado falsos débiles positivos en muestras de gansos.

◉ = *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 de los reactivos	La Solución de Lavado Concentrada (10X) debe dejarse a 18–26°C y agitarse para asegurar la disolución de posibles sales precipitadas. Esta solución deberá diluirse a 1/10 con agua destilada/desionizada antes de emplearla.
2. Preparación de las muestras	Diluya las muestras 10 veces (1/10) con la Solución Tampón de Dilución antes de analizarlas.
3. Distribución de las muestras	Dispense 100 µl de control negativo NO DILUIDO en dos pocillos. Dispense 100 µl de control positivo NO DILUIDO en dos pocillos. Dispense 100 µl de muestra diluida en los pocillos correspondientes.
4. Incubación de las muestras	Incube durante 60 minutos (± 5 minutos) a 18–26°C.
5. Lavado de la placa	Lave cada pocillo con aproximadamente 350 µl de solución de lavado de 3 a 5 veces.
6. Distribución del conjugado	Dispense 100 µl de Conjugado en cada pocillo.
7. Incubación del conjugado	Incube durante 30 minutos (± 2 minutos) a 18–26°C.
8. Repita la etapa 5	
9. Distribución del sustrato	Dispense 100 µl de Sustrato TMB en cada pocillo.
10. Incubación del sustrato	Incube durante 15 minutos (± 1 minuto) a 18–26°C.
11. Frenado de la reacción	Dispense 100 µl de Solución de Frenado en cada pocillo para detener la reacción.
12. Medición de la placa	Calibre el lector en blanco con aire. Meda y anote los valores de la absorbencia a 650nm, A(650).
13. Interpretación	<u>Suero aviar:</u> Las muestras con valores M/N < 0,50 deberán considerarse positivas a la presencia de anticuerpos frente a la Influenza A. Las muestras con una relación M/N ≥ 0,50 se consideran negativas a la presencia de anticuerpos frente a la Influenza A. <u>Suero de otras especies:</u> Las muestras con valores M/N < 0,60 deberán considerarse positivas a la presencia de anticuerpos frente a la Influenza A. Las muestras con una relación M/N ≥ 0,60 se consideran negativas a la presencia de anticuerpos frente a la Influenza A

No. de registro: 1288-RD

Fabricado por:

IDEXX Montpellier SAS
326 rue de la Galéra – Parc Euromédecine
34090 Montpellier, France

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. en los Estados Unidos de América y/o en otros países

Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Influenza A

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

Name und Verwendungszweck

Der IDEXX Influenza A Antikörpertestkit ist ein Enzym Immunoassay zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Influenza A in Serum von Wildvögeln, Hausgeflügel (außer Wachteln und Fasane), Schweinen und Pferden.

Allgemeine Informationen

Influenza A Viren infizieren Haus- und Wildtiere. Die Erkrankung kann verschiedene Ausprägungen annehmen, wobei die Symptome von kaum feststellbar bis hin zu hoher Mortalität reichen. Hyperthermie zusammen mit Anorexie, Gewichtsverlust, Letargie und Ermüdung sind auch zu beobachten. Die Ausprägung der Infektion von Influenza A hängt von dem Virusstamm, dem Alter und immunologischen Zustand des Tieres, der Anwesenheit von zusätzlichen Infektionen, und ob die Influenza A Infektion bei sekundärer Infektionen verstärkt wird, ab.

Respiratorische Symptome sind Hustenanfälle, Ausfluss aus Nase und Augen, sowie Niesen und Dyspnoe. Aufgrund der Verschiedenheit und Schwere der klinischen Symptome bieten Bluttests entscheidende Vorteile für den Nachweis von Infektionen. Die Bestimmung von Serumantikörpern erleichtert die Überwachung eines Bestands hinsichtlich einer Infektion mit dem Influenza A Virus. Unter gegebenen Umständen ist eine zweifelsfreie Beurteilung von Wildvögeln nicht immer möglich.

Beschreibung des Testprinzips

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

Reagenzien

Alle Reagenzien bei 2–8°C lagern.

Reagenzien		Menge
1	Mit Influenza A-Antigen beschichtete Testplatte (inaktiviert)	5
2	Positive Kontrolle	2,0 ml
3	Negative Kontrolle	2,0 ml
4	Konjugat	55 ml
5	Verdünnungspuffer	235 ml
A	TMB-Substrat	60 ml
B	Stopplösung	60 ml
C	Waschkonzentrat (10X)	235 ml

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

Notwendiges Material, das nicht mitgeliefert wird

- Präzisionspipetten und Multikanalpipetten (die erforderliche Messgenauigkeit muss für sämtliche angegebenen Mengen weniger oder gleich 5% betragen)
- Einweg-Pipettenspitzen
- Photometer mit 650 nm Filter zum Ablesen der Mikrotiterstreifen
- Röhrchen für die Probenverdünnung
- Destilliertes oder entionisiertes Wasser
- Gerät zur Abgabe und Aufnahme von Waschlösung

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

- Die Testplatten sind mit inaktiviertem Influenza Virusantigen beschichtet aber es wird als gute Laborpraxis empfohlen, alle biologische Material als potentiell infektiös zu betrachten. Sämtliche Abfälle müssen vor der Entsorgung gründlich dekontaminiert werden..
- Einige Reagenzien des Kits enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Bei der Entsorgung ist darauf zu achten, dass die Abflussleitungen mit reichlich Wasser durchgespült werden müssen, um das Entstehen von Kupfer- oder Bleisäure-Komplexen zu verhindern, die bei Erschütterungen explodieren könnten. Das Testmaterial ist nach Abschluß des Tests als infektiös zu betrachten und darf nur inaktiviert entsorgt werden. Die Entsorgung infektiöser Materialien sollte nach den regionalen und nationalen Bestimmungen erfolgen.
- TMB-Lösungen nicht grellem Licht aussetzen oder mit Oxidationsmitteln in Berührung bringen. Reagenzien bei 2–8°C lagern.

- Testkit-Bestandteile nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwenden. Keine Bestandteile aus Kits mit unterschiedlichen Chargennummern mischen.
- Optimale Ergebnisse erhalten Sie nur bei strenger Einhaltung der Testanweisung. Präzision und Genauigkeit werden durch sorgfältiges Pipettieren und Waschen erzielt.
- Nur zum tierärztlichen Gebrauch.
- Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

Vorbereitung der Reagenzien

Waschlösung

Das Waschkonzentrat (10X) auf 18–26°C bringen und mischen, damit sich etwaige Salzkristalle auflösen können. Das Waschkonzentrat (10X) muss vor Gebrauch im Verhältnis 1/10 mit destilliertem/entionisiertem Wasser verdünnt werden (z. B. 30 ml Waschkonzentrat (10X) mit 270 ml Wasser / Untersuchungsplatte). Bei steriler Behandlung kann die Waschlösung eine Woche bei 2–8°C aufbewahrt werden.

Vorbereitung der Proben

Die Testproben werden vorab mit dem Verdünnungspuffer zehnfach (1/10) verdünnt (indem z. B. 15 µl Probe mit 135 µl Verdünnungspuffer verdünnt werden).

HINWEIS: KONTROLLEN NICHT VERDÜNNEN. Darauf achten, dass für jede Probe die Pipettenspitzen gewechselt werden. Die Proben vor dem Pipettieren gründlich mischen.

Testanweisung

Alle Reagenzien müssen vor Gebrauch bei 18–26°C gebracht werden. Die Reagenzien sollten durch leichtes Schütteln gemischt werden.

1. Nehmen Sie die mit Antigen beschichtete(n) Platte(n) und registrieren Sie die Position der Proben auf einem Arbeitsblatt.
2. Geben Sie 100 µl der UNVERDÜNNTEN negative Kontrolle in zwei Vertiefungen.
3. Geben Sie 100 µl der UNVERDÜNNTEN positive Kontrolle in zwei Vertiefungen.
4. Geben Sie 100 µl der verdünnten Probe in entsprechende Vertiefungen.
5. 60 Minuten (± 5 Min.) bei 18–26°C inkubieren.
6. Waschen Sie jede Vertiefung 3–5 mal mit etwa 350 µl Waschlösung.
7. Geben Sie 100 µl Konjugat in jede Vertiefung.
8. 30 Minuten (± 2 Min.) bei 18–26°C inkubieren.
9. Wiederholen Sie den Schritt 6.
10. Geben Sie 100 µl TMB-Substrat in jede Vertiefung.
11. Inkubieren Sie die Platte(n) 15 Minuten (± 1 min.) bei 18–26°C.
12. Geben Sie 100 µl Stopplösung in jede Vertiefung.
13. Kalibrieren Sie das Photometer mit Luft als Leerwert.
14. Messen und notieren Sie die Extinktionswerte bei 650 nm.
15. Berechnen Sie die Ergebnisse.

Ergebnisse

Der Test ist gültig, wenn die mittlere Absorption A(650) der negativen Kontrolle größer oder gleich 0.600 und das mittlere P/NK-Verhältnis der positiven Kontrolle kleiner als 0.50 ist. Bei ungültigen Tests gilt das Verfahren als fehlerverdächtig und der Test muss wiederholt werden. Das Vorhandensein oder das Nichtvorhandensein von Antikörpern gegen die Influenza A wird für jede Probe durch das Verhältnis der Absorption der Probe zur Absorption der negativen Kontrolle (P/NK-Verhältnis) bestimmt.

Hinweis: IDEXX hält für Sie Instrumente und Software zur Berechnung der Mittel- und Hemmwerte bereit.

Berechnungen

Berechnung des Mittelwertes der negativen Kontrolle (NK \bar{x})

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

Berechnung des Mittelwertes der positiven Kontrolle (PK \bar{x})

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

Berechnung des P/NK Verhältnisses

$$P/NK = \frac{\text{Mittelwert Probe A650}}{NK\bar{x}}$$

Interpretation der Ergebnisse

Aviären Seren:

- Proben mit P/NK-Werten < 0,50 gelten als Influenza A-Antikörper-positiv.
- Proben mit einem P/NK-Verhältnis \geq 0,50 gelten als negativ, ein Vorhandensein von Influenza A-Antikörpern ist nicht nachweisbar.

Seren von anderen Tierarten:

- Proben mit P/NK-Werten < 0,60 gelten als Influenza A-Antikörper-positiv.
- Proben mit einem P/NK-Verhältnis \geq 0,60 gelten als negativ, ein Vorhandensein von Influenza A-Antikörpern ist nicht nachweisbar.

Die Inaktivierung von Gänse-Proben durch Hitzeeinwirkung kann falsche schwach- positive Ergebnisse verursachen.

☞ = *Veränderung der Gebrauchsanweisung*

Kurzbeschreibung

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

Schritt	Handlung
1. Vorbereitung der Reagenzien	Das Waschkonzentrat (10X) muss vor Gebrauch im Verhältnis 1/10 mit destilliertem/entionisiertem Wasser verdünnt werden.
2. Vorbereitung der Proben	Die Testproben werden vorab mit dem Verdünnungspuffer zehnfach (1/10) verdünnt.
3. Verteilung der Proben	Geben Sie 100 µl der UNVERDÜNNTEN negative Kontrolle in zwei Vertiefungen. Geben Sie 100 µl der UNVERDÜNNTEN positive Kontrolle in zwei Vertiefungen. Geben Sie 100 µl der verdünnten Probe in entsprechende Vertiefungen.
4. Probeninkubation	60 Minuten (± 5 Min.) bei 18–26°C inkubieren.
5. Waschen der Platte	Waschen Sie jede Vertiefung 3–5 mal mit etwa 350 µl Waschlösung.
6. Konjugatverteilung	Geben Sie 100 µl Konjugat in jede Vertiefung.
7. Konjugatinkubation	30 Minuten (± 2 Min.) bei 18–26°C inkubieren.
8. Wiederholen Sie den Schritt 5	
9. Substratverteilung	Geben Sie 100 µl TMB-Substrat in jede Vertiefung.
10. Substratinkubation	Inkubieren Sie die Platte(n) 15 Minuten (± 1 min.) bei 18–26°C.
11. Stoppen der Reaktion	Geben Sie 100 µl Stopplösung in jede Vertiefung.
12. Messen der Platte	Kalibrieren Sie das Photometer mit Luft als Leerwert. Messen und notieren Sie die Extinktionswerte bei 650 nm. Berechnen Sie die Ergebnisse.
13. Interpretation	<u>Aviären Seren:</u> Proben mit P/NK-Werten < 0,50 gelten als Influenza A-Antikörper-positiv. Proben mit einem P/NK-Verhältnis ≥ 0,50 gelten als negativ, ein Vorhandensein von Influenza A-Antikörpern ist nicht nachweisbar. <u>Seren von anderen Tierarten:</u> Proben mit P/NK-Werten < 0,60 gelten als Influenza A-Antikörper-positiv. Proben mit einem P/NK-Verhältnis ≥ 0,60 gelten als negativ, ein Vorhandensein von Influenza A-Antikörpern ist nicht nachweisbar.

Zul.-Nr.: FLI-B 444

Produziert durch:

IDEXX Montpellier SAS
326 rue de la Galéra – Parc Euromédecine
34090 Montpellier - France

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> 



Manufacturer

IDEXX Montpellier SAS
326 rue de la Galéra
Parc Euromédecine
34090 Montpellier
France

EU-Representative

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