



**Mycoplasma Gallisepticum Antibody Test Kit**

**Kit de détection des Anticorps anti-  
*Mycoplasma gallisepticum***

**Kit de Teste para Detecção de Anticorpos  
contra *Mycoplasma gallisepticum***

USO VETERINÁRIO

**Kit para la detección de Anticuerpos frente a  
*Mycoplasma gallisepticum***

**Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen  
*Mycoplasma gallisepticum***

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



## Mycoplasma Gallisepticum Antibody Test Kit

For veterinary use only.

### Name and Intended Use

IDEXX MG is IDEXX's enzyme immunoassay for the detection of antibody to *Mycoplasma gallisepticum* (Mg) in chicken and turkey serum.

### General Information

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

### Descriptions and Principles

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

Reagent		Volume
1	Mg Antigen Coated Plates	5
2	Positive Control — diluted chicken anti-Mg, preserved with sodium azide	1 x 1.9 mL
3	Negative Control — diluted chicken serum non-reactive to Mg, preserved with sodium azide	1 x 1.9 mL
4	Conjugate — (Goat) anti-chicken/anti-turkey: HRPO Conjugate; preserved with gentamicin and Kathon	1 x 50 mL
5	Sample Diluent — buffer, preserved with sodium azide	1 x 235 mL
A	TMB Substrate	1 x 60 mL
B	Stop Solution	1 x 60 mL

**NOTE:** see table on page 21 for the description of international symbols used on the kit labels.

## Materials Required but Not Provided

Precision pipettes and multiple delivery pipetting device with disposable pipette tips, 96-well plate reader, tubes for diluting samples, distilled or deionized water and device for the delivery and aspiration of wash solution. Reagent volumes listed in the Test Procedure require pipette precision of  $\pm 5\%$ .

## Precautions and Warnings for Users

Handle all Mg biological materials as though capable of transmitting Mg. The antigen coated plates may be a source of Mg. 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. 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. All wastes should be properly decontaminated prior to disposal. Do not use kit serials past expiration date and do not intermix components from kits with different serial numbers. Careful pipetting and washing throughout this procedure are necessary to maintain precision and accuracy. Optimal results will be obtained by strict adherence to this protocol. 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  $\mu\text{L}$  of sample with 500  $\mu\text{L}$  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.**

## Test Procedure

Allow the reagents to come to 18–26°C, then mix gently by inverting and swirling.

1. Obtain antigen-coated plate(s) and record the sample.
2. Dispense 100  $\mu\text{L}$  of UNDILUTED Negative Control into duplicate wells.
3. Dispense 100  $\mu\text{L}$  of UNDILUTED Positive Control into duplicate wells.
4. Dispense 100  $\mu\text{L}$  of diluted sample into appropriate wells. Samples may be tested in duplicate but a single well is acceptable.
5. Incubate for 30 minutes ( $\pm 2$  minutes) at 18–26°C.
6. Wash each well with approximately 350  $\mu\text{L}$  of distilled or deionized water 3–5 times. Aspirate completely.
7. Dispense 100  $\mu\text{L}$  of Conjugate into each well.
8. Incubate for 30 ( $\pm 2$  minutes) minutes at 18–26°C.
9. Repeat step 6.
10. Dispense 100  $\mu\text{L}$  of TMB Substrate Solution into each well.
11. Incubate for 15 minutes ( $\pm 1$  minute) at 18–26°C.
12. Dispense 100  $\mu\text{L}$  of Stop Solution into each well to stop the reaction.
13. Measure and record absorbance values at 650nm, 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 Mg is determined by relating the A(650) value of the unknown to the Positive Control mean. The Positive Control is standardized and represents significant antibody levels to Mg in 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.

## Calculations

1.	Negative Control mean ( $NC\bar{x}$ )	$\frac{NC1 A(650) + NC2 A(650)}{2} = NC\bar{x}$
2.	Positive Control mean ( $PC\bar{x}$ )	$\frac{PC1 A(650) + PC2 A(650)}{2} = PC\bar{x}$
3.	S/P Ratio	$\frac{\text{Sample Mean} - NC\bar{x}}{PC\bar{x} - NC\bar{x}} = S/P$
4	Titer - Relates S/P at a 1:500 dilution to an endpoint titer:	$\text{Log}_{10}\text{Titer} = 1.09 (\log_{10} S/P) + 3.36$

## Interpretation of Results

Serum samples with S/P ratios of less than or equal to 0.50 should be considered negative. S/P ratios greater than 0.50 (titers greater than 1076) should be considered positive and indicates exposure to Mg. Each laboratory should establish its own criterion for immunity with respect to antibody titer based on correlation of IDEXX MG to current laboratory test methodologies and on historical antibody responses.

**IDEXX Technical Services**

IDEXX USA Tel: 1 800 548 9997 or 1 207 556 4890

Fax: 1 800 328 5461 or 1 207 556 4826

IDEXX Europe Tel: 00800 727 43399

Fax: 00800 433 99329

U.S. Vet. License No. 313  
Product Code 5070.00

\*IDEXX and Test With Confidence are trademarks or registered trademarks of IDEXX Laboratories, Inc. or its affiliates in the United States and/or other countries.

©2011 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved.

## Kit de détection des anticorps anti- *Mycoplasma gallisepticum*

Réservé à l'usage vétérinaire.

### Définition et application

IDEXX MG est un kit IDEXX de dosage immunoenzymatique pour la détection des anticorps de l'infection à *Mycoplasma gallisepticum* (Mg) à partir du sérum de poulet et de dinde.

### Généralités

Le dosage des anticorps dans le sérum de l'animal permet d'évaluer le statut immunitaire de ce dernier au regard de l'infection à Mg. Le dosage immunoenzymatique s'est avéré être une méthode efficace pour évaluer le niveau des anticorps synthétisés par l'organisme contre la maladie et contrôler l'état immunitaire des grands troupeaux.

### Description et principe

Le principe du test est basé sur la mesure du niveau relatif d'anticorps présents dans le sérum de poulet et de dinde à tester vis à vis de l'infection à Mg. Chaque plaque est constituée de 96 cupules sensibilisées avec l'antigène de Mg. Les anticorps spécifiques de l'infection à Mg s'ils sont présents dans l'échantillon à tester se fixent sur l'antigène sensibilisé sur la microplaque et forment un complexe Ag-Ac. Les fractions non fixées sont ensuite éliminées par lavage et un conjugué marqué à la peroxydase se lie aux anticorps 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		Quantité
1	Microplaques sensibilisées avec l'antigène Mg	5
2	Contrôle positif — antiserum de poulet anti-Mg dilué; conservateur: azoture de sodium	1 x 1,9 ml
3	Contrôle négatif — sérum de poulet négatif en Ac anti-Mg dilué; conservateur: azoture de sodium	1 x 1,9 ml
4	Conjugué — anti-poulet/anti-dinde (chèvre) marqué à la peroxydase de raifort; conservateur: gentamicine et Kathon	1 x 50 ml
5	Diluant des échantillons — conservateur: azoture de sodium	1 x 235 ml
A	Substrat TMB	1 x 60 ml
B	Solution d'arrêt	1 x 60 ml

**REMARQUE:** voir le tableau à la page 21 pour la description des symboles internationaux utilisés sur les étiquettes de la trousse.

## Matériel nécessaire mais non fourni

Pipettes de précision ou pipettes multicanaux avec embouts jetables. Microtubes pour la dilution des échantillons. Eau distillée ou désionisée. Système de lavage manuel, semi-automatique ou automatique. Spectrophotomètre. Une précision de  $\pm 5\%$  est requise pour les volumes de réactifs mentionnés dans la section description du test.

## Remarques et précautions d'emploi

Manipuler toutes les substances biologiques de l'infection à Mg avec soin comme si elles pouvaient transmettre la maladie. Les plaques sont sensibilisées avec l'antigène chimiquement inactivé mais peuvent occasionnellement transmettre la maladie. Certains composants du kit sont stabilisés par de l'azide de sodium. Éliminer le contenu conformément aux réglementations locales, régionales et nationales. Ne pas exposer la solution de substrat TMB à une forte lumière ou à des agents oxydants. Conserver tous les réactifs à une température de 2–8°C. Veiller à décontaminer tous les déchets avant de les éliminer. N'utiliser en aucun cas les composants d'une trousse périmée. Ne pas utiliser les trousse après leur date de péremption et ne pas les mélanger composants avec ceux de trousse ayant un numéro de lot différent. Respecter rigoureusement la procédure prescrite pour obtenir des résultats optimaux. Usage vétérinaire uniquement.

## Préparation des échantillons

Diluer les échantillons à tester au 1:500 dans le diluant des échantillons (1  $\mu\text{L}$  de sérum + 500  $\mu\text{L}$  de diluant). **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.**

## Description du test

Amener les réactifs à 18–26°C, puis les homogénéiser par retournement ou agitation douce.

1. Réserver le nombre de plaques nécessaires à la manipulation et noter la position des échantillons.
2. Distribuer 100  $\mu\text{L}$  de contrôle négatif NON DILUÉ dans deux cupules.
3. Distribuer 100  $\mu\text{L}$  de contrôle positif NON DILUÉ dans deux cupules.
4. Distribuer 100  $\mu\text{L}$  chaque échantillon pré-dilué à tester dans les cupules appropriées. Les échantillons peuvent être testés en double mais un test en simple est acceptable.
5. Incuber pendant 30 minutes ( $\pm 2$  minutes) à 18–26°C.
6. Laver chacune des cupules 3 à 5 fois en utilisant environ 350  $\mu\text{L}$  d'eau distillée ou désionisée. Aspirer complètement.
7. Distribuer 100  $\mu\text{L}$  de conjugué dans chaque cupule.
8. Incuber pendant 30 minutes ( $\pm 2$  minutes) à 18–26°C.
9. Reprenez la procédure décrite au point 6.
10. Distribuer 100  $\mu\text{L}$  de solution de substrat TMB dans chaque cupule.
11. Incuber pendant 15 minutes ( $\pm 1$  minute) à 18–26°C.
12. Distribuer 100  $\mu\text{L}$  de solution d'arrêt dans chaque cupule.
13. Mesurer les valeurs de densité optique des échantillons et des contrôles à l'aide d'un spectrophotomètre en monochromatisme à 650 nm.



## Résultats

Le test est validé si la différence entre la valeur moyenne du contrôle positif et la valeur moyenne du contrôle négatif ( $CP\bar{x} - CN\bar{x}$ ) est supérieure à 0,075. De plus, la valeur moyenne du contrôle négatif doit être inférieure ou égale à 0,150. La présence ou l'absence d'anticorps anti-Mg est déterminée par la valeur du rapport E/P, pour chaque échantillon. Le contrôle positif est calibré et représente un niveau significatif d'anticorps anti-Mg dans le sérum. Les titres finals sont calculés en utilisant l'équation décrite dans la section "calculs".

### Calculs

1.	Moyenne du contrôle négatif ( $CN\bar{x}$ )	$\frac{CN1 A(650) + CN2 A(650)}{2} = CN\bar{x}$
2.	Moyenne du contrôle positif ( $CP\bar{x}$ )	$\frac{CP1 A(650) + CP2 A(650)}{2} = CP\bar{x}$
3.	Calcul de la valeur du rapport E/P	$\frac{\text{Moyenne d'échantillon} - CN\bar{x}}{(CP\bar{x} - CN\bar{x})} = E/P$
4.	Titre. Etablit le rapport entre E/P (dilution 1:500) et une limite de titre:	$\text{Titre}_{\log_{10}} = 1,09 (\log_{10} E/P) + 3,36$

### Interprétation des résultats

Les échantillons de sérum dont la valeur du rapport E/P est égal ou inférieure à 0,50 doivent être considérés comme négatifs. Lorsque la valeur du rapport E/P est supérieure à 0,50 (titres supérieurs à 1076), les échantillons sont considérés comme positifs et indiquent que les sujets ont été exposés à Mg. Chaque laboratoire doit arrêter ses propres critères d'immunisation concernant le titre des anticorps en fonction de la corrélation établie entre IDEXX MG et les méthodes d'analyses utilisées en laboratoire ainsi que des réponses habituelles des anticorps.

**Services techniques d'IDEXX:**

IDEXX USA Tél. 1 800 548 9997 ou 1 207 556 4890

Télec.: 1 800 328 5461 ou 1 207 556 4826

IDEXX Europe Tél. 00800 727 43399

Télec.: 00800 433 99329

\*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.

©2011 IDEXX Laboratories, Inc. Tous droits réservés.

## Kit de Teste para Detecção de Anticorpos contra *Mycoplasma gallisepticum*

Para uso exclusivamente veterinário.

### Nome e Indicações

IDEXX MG é um ensaio imunoenzimático da IDEXX para detecção de anticorpos contra *Mycoplasma gallisepticum* (Mg) em soro de galinha e peru.

### Informações Gerais

Uma avaliação da condição imunológica, assim como a identificação sorológica de Mg, requer uma mensuração de anticorpo contra Mg em soro. Sistemas de imunoensaio enzimático provaram ser eficazes na quantificação de níveis de anticorpos contra Mg e facilitam o monitoramento da condição imunológica em lotes grandes.

### Descrição e Princípios

Este ensaio é designado a medir o nível relativo de anticorpo contra Mg em soro de galinha e peru. Antígeno de Mg é impregnado em placas de 96 cavidades. Após incubação do soro na cavidade impregnada, anticorpos específicos contra Mg formam complexos com os antígenos impregnados. Após a lavagem do material não reagente da cavidade, um conjugado é adicionado, o qual se aglomera à qualquer anticorpo aderido às cavidades. O conjugado não reagente é lavado e um substrato enzimático é adicionado. O subsequente desenvolvimento de cor é diretamente relacionado à quantidade de anticorpo contra Mg presente no soro.

Reagentes		Volume
1	Placas Impregnadas com Antígeno de Mg	5
2	Controle Positivo — soro diluído Anti-Mg de galinha; conservado com azida sódica	1 x 1,9 ml
3	Controle Negativo — soro de galinha diluído não reativo para Mg, conservado com azida sódica	1 x 1,9 ml
4	Conjugado — conjugado HRPO: Anti-galinha/Anti-peru (cabra); conservado com gentamicina e Kathon	1 x 50 ml
5	Diluyente de Amostra — tamponado, conservado com azida sódica	1 x 235 ml
A	Substrato TMB	1 x 60 ml
B	Solução de Interrupção	1 x 60 ml

**NOTA:** veja a tabela na página 21 para descrição dos símbolos internacionais usados nos rótulos dos kits.

## Materiais Necessários, mas Não Fornecidos

Pipetas de precisão e pipetas multicanais com ponteiros de pipeta descartáveis, leitora para placas de 96 cavidades, tubos para diluição das amostras, água destilada ou deionizada e dispositivo para a distribuição e aspiração da solução de lavagem. Os volumes de reagentes indicados no Procedimento de Teste requerem uma precisão de pipetagem de  $\pm 5\%$

## Precauções e Advertências aos Usuários

Manusear todos os materiais biológicos de Mg como sendo capazes de transmitir Mg. As placas impregnadas com antígeno podem ser uma fonte de Mg. Antes da impregnação na fase sólida, o antígeno foi inativado por tratamento químico. Todavia, não assuma inatividade completa. Alguns componentes do kit contém azida sódica como conservante. Descartar o conteúdo de acordo com as normas locais, regionais e nacionais. Não expor soluções TMB à luz forte ou à quaisquer agentes oxidantes. Armazenar todos os reagentes à temperatura de 2–8°C. Todos os resíduos devem ser adequadamente descontaminados antes de serem eliminados. Não usar componentes com prazo de validade vencido e não misturar componentes de kits com número de lote diferente. Pipetagens e lavagens cuidadosas durante todo o procedimento são necessárias para manter a precisão e acurácia. Ótimos resultados serão obtidos seguindo-se rigorosamente o protocolo. Para uso exclusivamente veterinário.

## Preparo das Amostras

Diluir as amostras de teste em proporção 1:500 com Diluente de Amostra antes de ser efetuada a análise (por exemplo, diluindo-se 1  $\mu\text{l}$  de amostra com 500  $\mu\text{l}$  de Diluente de Amostra). **NOTA: NÃO DILUIR OS CONTROLES. Certifique-se de trocar as ponteiros para cada amostra. As amostras devem ser totalmente homogêneas antes de distribuídas nas placas impregnadas.**

## Procedimento de Teste

Permita que os reagentes atinjam 18–26°C, então mescle gentilmente através de inversão e movimentos circulares leves.

1. Obter a(s) placa(s) impregnada(s) com antígeno e registrar a posição da amostra.
2. Distribuir 100  $\mu\text{l}$  de Controle Negativo NÃO DILUÍDO em duplicata.
3. Distribuir 100  $\mu\text{l}$  de Controle Positivo NÃO DILUÍDO em duplicata.
4. Distribuir 100  $\mu\text{l}$  de amostra diluída nas cavidades apropriadas. As amostras podem ser testadas em duplicata, mas uma única cavidade por amostra é aceitável.
5. Incubar por 30 minutos ( $\pm 2$  minutos) à 18–26°C.
6. Lavar cada cavidade com aproximadamente 350  $\mu\text{l}$  de água destilada ou deionizada por 3–5 vezes. Aspirar completamente.
7. Distribuir 100  $\mu\text{l}$  de Conjugado em cada cavidade.
8. Incubar por 30 minutos ( $\pm 2$  minutos) à 18–26°C.
9. Repetir passo 6.
10. Distribuir 100  $\mu\text{l}$  de Solução de Substrato TMB em cada cavidade.
11. Incubar por 15 minutos ( $\pm 1$  minuto) à 18–26°C.
12. Distribuir 100  $\mu\text{l}$  de Solução de Interrupção em cada cavidade para parar a reação.
13. Medir e registrar os valores de absorvância a 650 nm, A(650).

## Resultados

Para o ensaio 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 absorbância média do Controle Negativo deve ser menor ou igual a 0,150. A presença ou ausência de anticorpo contra Mg é determinada relacionando-se o valor A(650) da amostra não conhecida com a média do Controle Positivo. O Controle Positivo é padronizado e representa níveis significativos de anticorpo contra Mg em soro. O nível de anticorpo da amostra é determinado calculando-se a razão amostra/positivo (A/P). Os títulos finais são calculados usando a equação descrita na seção de cálculos.

### Cálculos

1	Média do Controle Negativo (CN $\bar{x}$ )	$\frac{CN1 A(650) + CN2 A(650)}{2} = CN\bar{x}$
2	Média do Controle Positivo (CP $\bar{x}$ )	$\frac{CP1 A(650) + CP2 A(650)}{2} = CP\bar{x}$
3	Coefficiente A/P	$\frac{\text{Média da Amostra} - CN\bar{x}}{CP\bar{x} - CN\bar{x}} = A/P$
4	Título—Relaciona A/P em uma diluição 1:500 com um título final:	$\text{Log}_{10} \text{ Título} = 1,09 \times (\log_{10} A/P) + 3,36$

### Interpretação de Resultados

Amostras de soro com coeficiente A/P menores ou iguais a 0,50 devem ser consideradas negativas. Coeficientes maiores que 0,50 (títulos maiores que 1076) devem ser considerados positivos e indicam vacinação ou outra exposição a Mg. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios critérios para imunidade com respeito aos títulos de anticorpo baseado em correlação de IDEXX MG com metodologias atuais de teste de laboratório e em históricos de respostas de anticorpo.

## **Serviços de Assistência Técnica da IDEXX:**

IDEXX EUA Tel: 1 800 548 9997 ou 1 207 556 4890

Fax: 1 800 328 5461 ou 1 207 556 4826

IDEXX Europa Tel: 00800 727 43399

Fax: 00800 433 99329

PRODUTO IMPORTADO. USO VETERINÁRIO.  
REPRESENTANTE, IMPORTADOR E DISTRIBUIDOR EXCLUSIVO NO  
BRASIL: 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

\*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.

Licenciado no Ministério da Agricultura  
sob o nº 5.741 em 04/12/96.

© 2011 IDEXX Laboratories, Inc. Todos os direitos reservados.

PROPRIETÁRIO E FABRICANTE

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive,

Westbrook, Maine 04092, EUA

Tel.: 207 556 4890 • idexx.com

## Kit para la detección de Anticuerpos frente a *Mycoplasma gallisepticum*

Para uso veterinario exclusivo.

### Nombre y uso propuesto

IDEXX MG es un inmunoanálisis enzimático de IDEXX diseñado para la detección de anticuerpos frente a *Mycoplasma gallisepticum* (Mg) en suero de pollo y pavo.

### Información general

La evaluación del estatus inmunitario y la identificación serológica requieren la medición de anticuerpos frente a Mg del suero. Los inmunoanálisis enzimáticos han demostrado ser un método eficaz en la cuantificación de las concentraciones de anticuerpos frente a Mg, y facilitan el control del estatus inmunitario en grupos grandes de aves.

### Descripción y principios

Este análisis está diseñado para medir la concentración relativa de anticuerpos frente a Mg en suero de pollo y pavo. Cada placa dispone de 96 pocillos tapizados con el antígeno Mg. Tras un periodo de incubación de la muestra en el pocillo tapizado, los anticuerpos específicos frente a Mg presentes en la muestra formarán un complejo con los antígenos de la placa. Después de eliminar por lavado el material no unido, se añade en los pocillos un conjugado que se une a los anticuerpos presentes en la placa. El conjugado no unido se elimina tras el lavado de la placa, y se agrega a los pocillos un sustrato enzimático. El cambio de color resultante está directamente relacionado con la cantidad de anticuerpos anti-Mg presentes en la muestra.

Reactivos		Volumen
1	Placas tapizadas con Antígeno Mg	5
2	Control Positivo — suero de pollo anti-Mg diluido, conservado con azida de sodio	1 x 1,9 ml
3	Control Negativo — suero de pollo diluido; no reactivo en Mg, conservado con azida de sodio	1 x 1,9 ml
4	Conjugado — conjugado (de cabra) anti-pollo/anti-pavo: peroxidasa de rábano, conservado con gentamicina y Kathon	1 x 50 ml
5	Diluyente de la Muestra — solución tampón, conservado con azida de sodio	1 x 235 ml
A	Substrato TMB	1 x 60 ml
B	Solución de Frenado	1 x 60 ml

**NOTA:** Ver tabla en la página 21 para las explicaciones de los símbolos internacionales utilizados en las etiquetas del kit.

## Materiales necesarios que no se suministran

Pipetas de precisión o dispositivos para pipeteado múltiple con puntas de pipeta desechables. Lector de placas de 96 pocillos. Tubos para diluir las muestras. Agua destilada o desionizada. Dispositivo para el surtido y la aspiración de la solución de lavado. Los volúmenes de los reactivos listados en el apartado Procedimiento de la Prueba requieren una pipeta de precisión de  $\pm 5\%$ .

## Precauciones y advertencias para los usuarios

Trate todos los materiales biológicos relacionados con Mg como si fueran capaces de transmitir Mg. Las placas tapizadas con antígeno pueden ser una fuente de transmisión de Mg. Aunque el antígeno haya sido inactivado mediante un tratamiento químico antes de recubrir la fase sólida, no debe suponerse que la inactivación haya sido completa. Algunos de los componentes del kit contienen azida de sodio como conservante. El desecho de los contenidos debe de hacerse de acuerdo con la regulación local, regional y nacional. No exponga las soluciones TMB a la luz fuerte ni a agentes oxidantes. Almacene todos los reactivos entre 2–8°C. Todos los desechos deben desinfectarse adecuadamente antes de eliminarse. No utilice los componentes después de la fecha de caducidad, y no mezcle componentes con números de serie diferentes. Se obtendrán resultados óptimos si se sigue este protocolo de manera estricta. Sólo para uso veterinario.

## Preparación de las muestras

Diluya las muestras 1:500 con el Diluyente de la Muestra antes de realizar el análisis (es decir, diluya 1  $\mu\text{l}$  de la muestra con 500  $\mu\text{l}$  de diluyente). **NOTA: NO DILUYA LOS CONTROLES.**

**Asegúrese de cambiar las puntas de las pipetas cada vez que tome una muestra. Mezcle bien las muestras antes de agregar la muestra a la placa tapizada con antígeno Mg.**

## Procedimiento de la Prueba

Deje que los reactivos alcancen 18–26°C y luego agítelos suavemente por inversión y con un movimiento circular.

1. Obtenga la placa (o placas) tapizada con antígeno y anote la posición de las muestras.
2. Vierta 100  $\mu\text{l}$  de Control Negativo NO DILUIDO en pocillos por duplicado.
3. Vierta 100  $\mu\text{l}$  de Control Positivo NO DILUIDO en pocillos por duplicado.
4. Vierta 100  $\mu\text{l}$  de muestra diluida en los pocillos correspondientes. Las muestras pueden analizarse por duplicado pero el análisis en un solo pocillo es también aceptable.
5. Incube durante 30 minutos ( $\pm 2$  minutos) a 18–26°C.
6. Lave cada pocillo de tres a cinco veces con unos 350  $\mu\text{l}$  de agua destilado o desionizada. Aspire completamente.
7. Vierta 100  $\mu\text{l}$  de Conjugado a cada pocillo.
8. Incube durante 30 minutos ( $\pm 2$  minutos) a 18–25°C.
9. Repita el paso 6.
10. Vierta 100  $\mu\text{l}$  de la Solución Substrato TMB en cada pocillo.
11. Incube durante 15 minutos ( $\pm 1$  minuto) a 18–26°C.
12. Vierta 100  $\mu\text{l}$  de la Solución de Frenado en cada pocillo para frenar la reacción.
13. Mida y anote los valores de absorbancia a 650 nm, A(650).



## Resultados

Para que el ensayo sea válido, la diferencia entre la absorbancia media del Control Positivo y del Control Negativo (CP $\bar{x}$ -CN $\bar{x}$ ) debe ser mayor que 0,075. La absorbancia media del Control Negativo debe ser menor o igual que 0,150. La presencia o ausencia de anticuerpos frente a Mg se determina por medio de una relación entre el valor de A(650) de la muestra con la media del Control Positivo. El Control Positivo está normalizado y representa concentraciones significativas de anticuerpos anti-Mg en el suero. 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.

### Cálculos

1	Media del Control Negativo (CN $\bar{x}$ )	$\frac{A(650) \text{ CN1} + A(650) \text{ CN2}}{2} = \text{CN}\bar{x}$
2	Media del Control Positivo (CP $\bar{x}$ )	$\frac{A(650) \text{ CP1} + A(650) \text{ CP2}}{2} = \text{CP}\bar{x}$
3	Cociente M/P	$\frac{\text{Media de la muestra} - \text{CN}\bar{x}}{\text{CP}\bar{x} - \text{CN}\bar{x}} = \text{M/P}$
4	Título. Relaciona el cociente M/P en una dilución de 1:500 con un título final:	$\text{Log}_{10} \text{ del título} = 1,09 (\log_{10} \text{ M/P}) + 3,36$

### Interpretación de los resultados

Las muestras de suero que tengan cocientes M/P inferiores o iguales a 0,50 deben considerarse negativas. Las muestras con cocientes M/P superiores a 0,50 (títulos superiores a1076) deben considerarse positivas e indican que ha habido inmunización u otro tipo de exposición al Mg. Cada laboratorio debe establecer su propio criterio inmunidad con respecto al título de anticuerpos, de acuerdo con la correlación de IDEXX MG con los métodos laboratoriales actuales, y las respuestas del anticuerpo observadas en el pasado.

**Servicio técnico de IDEXX:**

IDEXX EE.UU. Tel: 1 800 548 9997 o 1 207 556 4890

Fax: 1 800 328 5461 o 1 207 556 4826

IDEXX Europa Tel: 00800 727 43399

Fax: 00800 433 99329

Licencia veterinaria de los EE.UU. N° 313

Código de producto: 5070.00

\*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.

©2011 IDEXX Laboratories, Inc. Todos los derechos reservados.

## Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen *Mycoplasma gallisepticum*

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

### Name und Verwendungszweck

IDEXX MG ist ein Enzymimmunoassay von IDEXX zum Nachweis von Antikörpern gegen *Mycoplasma gallisepticum* (Mg) in Serumproben von Hühnern und Puten.

### Allgemeine Informationen

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

### Beschreibung des Testprinzips

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

Reagenzien	Menge	
1	Mit Mg-Antigen beschichtete Testplatten (inaktiviert)	5
2	Positive Kontrolle — von hyperimmunisierten Hühnern gewonnenes Serum in Puffer mit Proteinstabilisatoren. Konservierungsstoff: Natriumazid	1 x 1,9 ml
3	Negative Kontrolle — von spezifisch pathogenfreien Hühnern gewonnenes Serum in Puffer mit Proteinstabilisatoren. Konservierungsstoff: Natriumazid	1 x 1,9 ml
4	Konjugat — (Ziege) Anti-Huhn/Anti-Pute: HRPO Konjugat; Konservierungsstoff: Gentamicin und Kathon	1 x 50 ml
5	Probenverdünnungspuffer — Konservierungsstoff: Natriumazid	1 x 235 ml
A	TMB-Substrat	1 x 60 ml
B	Stopplösung	1 x 60 ml

**Bemerkung:** Sie finden auf Seite 21 die Tabelle mit den Beschreibungen der auf den Testkit-Etiketten gebrauchten Symbole.

## Notwendiges Material, das nicht mitgeliefert wird

Präzisionspipetten, Multikanalpipetten, Einwegpipettenspitzen, Photometer zum Lesen von Mikrotiterplatten, Röhrchen für die Verdünnung der Proben, destilliertes oder deionisiertes Wasser, Vorrichtung zum Aufbringen und Absaugen der Waschlösung. Die im Abschnitt „Testanweisung“ aufgeführten Reagenzienvolumina erfordern eine Präzision der Pipetten von  $\pm 5\%$ .

## Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

Obwohl das Antigen vor der Beschichtung chemisch inaktiviert wurde, sollten die damit beschichteten Platten als potentiell infektiös betrachtet werden. Einige Bestandteile des Testkits enthalten Natriumazid zur Konservierung. Abfall muss entsprechend den lokalen, regionalen und nationalen Bestimmungen entsorgt werden. Setzen Sie das TMB-Substrat nicht starkem Licht oder oxidierenden Mitteln aus. Lagern Sie alle Reagenzien bei 2–8°C. Alle Abfälle müssen vor der Beseitigung sorgfältig dekontaminiert werden. Eine Verunreinigung der Bestandteile des Testkits muß sorgfältig vermieden werden. Die Kit-Bestandteile nicht nach dem Verfallsdatum verwenden, und Bestandteile aus Testkits mit verschiedenen Chargennummern nicht untereinander austauschen. Bei strikter Einhaltung dieser Anweisungen werden optimale Ergebnisse erzielt. Sorgfältiges Pipettieren und Waschen während der Testdurchführung sind notwendig, um die Genauigkeit der Werte zu gewährleisten. Nur für den tierärztlichen Gebrauch.

## Vorbereitung der Proben

Verdünnen Sie die Testproben 1:500 mit dem Probenverdünnungspuffer, bevor sie getestet werden (z.B. indem Sie 1  $\mu\text{l}$  der Probe mit 500  $\mu\text{l}$  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 Mg beschichtete Platte geben.**

## Testanweisung

Alle Reagenzien sollten vor der Benutzung auf 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 Probe.
2. Geben Sie 100  $\mu\text{l}$  unverdünnte negative Kontrolle in die Doppelvertiefungen.
3. Geben Sie 100  $\mu\text{l}$  unverdünnte positive Kontrolle in die Doppelvertiefungen.
4. Geben Sie 100  $\mu\text{l}$  verdünnte Serumprobe in die entsprechenden Vertiefungen. Die Proben können im Einfachansatz getestet werden, empfehlenswert ist jedoch, sie im Doppelansatz zu testen.
5. 30 Minuten ( $\pm 2$  Minuten) bei 18–26°C inkubieren.
6. Jede Vertiefung drei bis fünfmal mit etwa 350  $\mu\text{l}$  destilliertem oder entionisiertem Wasser waschen. Nach jedem Waschvorgang den flüssigen Inhalt aller Vertiefungen absaugen.
7. Geben Sie 100  $\mu\text{l}$  Konjugat in jede Vertiefung.
8. 30 Minuten ( $\pm 2$  Minuten) bei 18–26°C inkubieren.
9. Wiederholen Sie den Schritt 6.
10. Geben Sie 100  $\mu\text{l}$  TMB-Substrat in jede Vertiefung.

11. 15 Minuten ( $\pm$  1 Minute) bei 18–26°C inkubieren.
12. Geben Sie 100  $\mu$ l Stopplösung in jede Vertiefung, um die Reaktion zu stoppen.
13. Messen und notieren Sie die Extinktionswerte bei 650 nm, A(650).

## Ergebnisse

Damit der Test gültig ist, muss 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 Mg 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 Mg-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 im Kalkulationsteil angegeben ist.

## Berechnungen

1	Mittelwert der Negativen Kontrolle ( $NK\bar{x}$ )	$\frac{NK1 A(650) + NK2 A(650)}{2} = NK\bar{x}$
2	Mittelwert der Positiven Kontrolle ( $PK\bar{x}$ )	$\frac{NK1 A(650) + NK2 A(650)}{2} = PK\bar{x}$
3	P/PK-Verhältnis	$\frac{\text{Mittelwert der Probe} - NK\bar{x}}{PK\bar{x} - NK\bar{x}} = P/PK$
4	Titer: Nachstehende Gleichung verbindet den P/PK-Wert bei einer Verdünnung von 1:500 mit einem Endpunkt-Titer:	$\text{Log}_{10}\text{Titer} = 1,09 (\log_{10} P/PK) + 3,36$

## Interpretation der Ergebnisse

Serumproben mit einem P/PK-Verhältnis kleiner oder gleich 0,50 sollten als negativ angesehen werden. P/PK-Verhältnisse größer als 0,50 (Titer größer als 1076) sollten als positiv angesehen werden und indizieren einen Kontakt mit Mg. Jedes Labor sollte seine eigenen Erfahrungswerte für die Interpretation der IDEXX MG-Ergebnisse sammeln. Dazu sollten die Ergebnisse früher angewandter serologischer Testsysteme mit den IDEXX-Ergebnissen verglichen werden.

**Technischer Kundendienst von IDEXX:**

IDEXX USA Tel: 1 800 548 9997 oder 1 207 556 4890

Fax: 1 800 328 5461 oder 1 207 556 4826

IDEXX Europa Tel: 00800 727 43399

Fax: 00800 433 99329

Zul.-Nr.: BGWV-B 217

U.S.-Tierarztlizenznummer 313

Produktcode: 5070.00

\*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.

© 2011 IDEXX Laboratories, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

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

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

**IDEXX**

*Manufacturer*

IDEXX Laboratories, Inc.  
One IDEXX Drive  
Westbrook, Maine  
04092 USA

*EU-Representative*

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

[idexx.com](http://idexx.com)