**Testovací souprava pro detekci protilátek proti viru retikuloendoteliózy**

Pouze pro veterinární použití.

**Název a zamýšlené použití**

IDEXX REV je enzymový imunologický test od firmy IDEXX určený k detekci protilátek proti viru retikuloendoteliózy (REV) v kuřecím séru.

**Obecné informace**

Určení imunologického statusu i sérologická identifikace REV vyžaduje stanovení protilátek proti REV ze séra. Enzymové imunologické testy se osvědčily jako účinná metoda kvantifikace hladiny protilátek proti REV a usnadňují monitoring imunologického statusu ve velkých hejnech.

**Popis a principy**

Tento test je navržen ke stanovení relativní hladiny protilátek proti REV v kuřecím séru. Virový antigen je nanesen na destičkách s 96 jamkami. Během inkubace testu se v potažené jamce destičky vytvoří komplex specifických protilátek proti REV s nanesenými antigeny viru. Po vymytí nenavázaného materiálu z jamek se přidá konjugát, který se naváže na kuřecí protilátky zachycené v jamkách. Nenavázaný konjugát se vymyje a přidá se enzymový substrát. Následující rozvoj zbarvení přímo souvisí s množstvím protilátek proti REV přítomným v testovaném vzorku.

Reagencie Obsah

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destička potažená antigenem REV | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek - ředěné kuřecí anti-REV sérum konzervované azidem sodným | 1 x 1,9 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek - ředěné kuřecí sérum nereagující na REV; konzervováno azidem sodným | 1 x 1,9 ml |
| 4 | Konjugát - (kozí) anti-kuřecí: HRPO konjugát; konzervováno gentamicinem a Kathonem | 1 x 50 ml |
| 5 | Roztok k ředění vzorků - konzervovaný azidem sodným | 1 x 235 ml |
| A | TMB substrát  | 1 x 60 ml |
| B | Zastavovací roztok  | 1 x 60 ml |

Poznámka: Popis symbolů použitých v tomto letáku a popisků této testovací sady najdete v tabulce na konci letáku.

**Uchovávání**

Reagencie uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Reagencie jsou za předpokladu řádného skladování stabilní do data exspirace.

**Potřebné materiály, které nejsou součástí soupravy**

* Přesné pipety nebo multikanálové pipety
* Jednorázové pipetovací špičky
* Čtečka mikrodestiček s 96 jamkami (vybavená filtrem s vlnovou délkou 650 nm)
* Mycí zařízení na mikrodestičky (manuální, poloautomatický nebo automatický systém)
* Pro přípravu reagencií používaných při testu používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu
* Vortex nebo ekvivalentní třepačka

**Bezpečnostní opatření a upozornění pro uživatele**

* Se všemi biologickými materiály zacházejte jako s potenciálně infekčními.
* Při manipulaci se vzorky a reagencii používejte ochranné rukavice / ochranné oblečení / ochranné prostředky na oči nebo obličej.
* Další informace najdete v materiálových bezpečnostních listech.
* Upozornění a bezpečnostní opatření pro použití reagencií najdete na konci tohoto letáku.

**Laboratorní postupy**

* Pro dosažení optimálních výsledků přesně dodržujte tento protokol. K zachování přesnosti a správnosti je nezbytné pečlivé pipetování, měření času a promývání během postupu. Pro každý vzorek a kontrolu použijte vždy novou pipetovací špičku.
* Roztok TMB nevystavujte silnému světlu nebo jakýmkoli oxidačním činidlům. Pro manipulaci s roztokem TMB používejte čisté skleněné nebo plastové nádoby.
* Všechny odpady je třeba před likvidací řádně dekontaminovat. Obsah likvidujte v souladu s místními, regionálními a státními předpisy.
* Snažte se zabránit kontaminaci složek soupravy. Nenalévejte nepoužité reagencie zpět do nádob.
* Nepoužívejte soupravu po datu exspirace a nezaměňujte součásti ze souprav s různými sériovými čísly.

**Příprava vzorků**

Testovací vzorky před zahájením testu zřeďte přiloženým ředicím roztokem v poměru 1:500 (např. 1 μL vzorku na 500 μL ředicího roztoku).
POZNÁMKA: NEŘEĎTE KONTROLNÍ VZORKY.
Ujistěte se, že pro každý vzorek používáte čistou pipetovací špičku. Vzorky musí být před rozdělením do jamek potažené destičky důkladně promíchány.

**Postup testu**

Všechny reagenční roztoky použité v tomto testu musí mít teplotu 18–26°C. Reagencie se míchají jemným obracením nebo kroužením.

1. Připravte si potažené destičky a zaznamenejte umístění vzorku.

2. Dejte 100 μl NEŘEDĚNÉHO negativního kontrolního vzorku (NK) do duplicitních jamek.
3. Dejte 100 μl NEŘEDĚNÉHO pozitivního kontrolního vzorku (PK) do duplicitních jamek.

4. Dejte 100 μl ŘEDĚNÉHO testovaného vzorku do určené jamky. Vzorky je vhodné testovat v duplikátech, ale lze použít i jen jednu jamku.

5. Inkubujte 30 minut (± 2 minuty) při 18–26°C.

6. Odstraňte roztok a každou jamku 3-5x promyjte přibližně 350 µl destilované nebo deionizované vody. Destička nesmí mezi umýváním a před přidáním příští reagencie vyschnout. Po posledním vymytí odstraňte zbývající mycí tekutinu z každé destičky poklepáváním na savý materiál.

7. Přidejte 100 μl konjugátu do každé jamky.

8. Inkubujte 30 minut (± 2 minuty) při 18–26°C.

9. Opakujte krok č. 6.

10. Přidejte 100 μl TMB substrátu do každé jamky.

11. Inkubujte 15 minut (±1 min.) při 18–26°C.

12. Přidejte 100 μl zastavovacího roztoku do každé jamky.

13. Odečtěte a zaznamenejte výsledky při vlnové délce 650 nm, A (650).

14. **Výpočty:**

**Kontrolní vzorky**

NK~~x~~ = NK1 A(650) + NK2 A(650) PK~~x~~ = PK1 A(650) + PK2 A(650)
 2 2

**Kritéria validity**

PKx – NKx > 0,075 NKx ≤ 0,150

Při neplatnosti výsledků je třeba předpokládat chybu v technice provedení. Doporučuje se důkladně znovu prostudovat přiložený leták a test provést znovu.

**Vzorky**

S/P = Průměr vzorku – NK~~x~~  Log10 Titr = 1.09 (log10 S/P) + 3.36\*

 PK~~x~~ – NK~~x~~

\*Vztahuje se na S/P při ředění koncového titru 1:500.

Přítomnost nebo nepřítomnost REV je určena porovnáním hodnoty absorbance A (650) vzorku s průměrem pozitivního kontrolního vzorku. Pozitivní kontrolní vzorek je standardizovaný a reprezentuje významnou hladinu protilátek proti REV v kuřecím séru. Relativní hladina protilátek ve vzorku je určena přepočítáním vzorku na pozitivní poměr S/P. Koncový titr se vypočítá použitím výše popsané rovnice.

15. **Intepretace**

Negativní: S/P ≤ 0,50

Pozitivní: S/P > 0,50

Pozitivní výsledek (titr větší než 1076) naznačuje vakcinaci nebo jiné vystavení viru REV (podskupinám A a B). Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní kritéria pro imunitu s ohledem na titr protilátek založený na korelaci kitu IDEXX REV se současnými testovacími metodami a na dřívějších reakcích protilátek.

Poznámka: Společnost IDEXX má přístrojové a softwarové systémy, které vypočítávají výsledky a poskytují souhrny údajů.

**Kontakty pro technickou podporu:**

IDEXX USA Tel: +1 800 548 9997 nebo +1 207 556 4895

IDEXX Evropa Tel: +800 727 43399

Obraťte se na manažera nebo distributora společnosti IDEXX pro Vaši oblast nebo navštivte naši webovou stránku: [www.idexx.com/production/contactlpd](http://www.idexx.com/production/contactlpd)

U.S. vet. licence č. 313

Kód produktu: 5265.00

\*IDEXX a Test With Confidence jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky

společnosti IDEXX Laboratories, Inc. nebo jejích přidružených společností ve Spojených státech amerických a/nebo v jiných zemích.

©2014 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved. (Všechna práva vyhrazena.)

**Upozornění**

 **H315 / H316/ H319**

**Konjugát**

Způsobuje mírné podráždění pokožky. Pokud se vyskytne podráždění pokožky: Poraďte se s lékařem / obraťte se na lékaře. Obsahuje Kathon. Může vyvolat alergickou reakci.

**Popis symbolů:**

Číslo šarže

Sériové číslo

Katalogové číslo

Diagnostika in vitro

Autorizovaný obchodní zástupce pro Evropu

Pozitivní kontrola

Negativní kontrola

Datum spotřeby

Datum výroby

Výrobce

Teplotní omezení

Viz návod k použití

Zásadní změna v návodu k použití

*Výrobce*

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive

Westbrook, Maine 04092

USA

*Zástupce pro EU*

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko