Testovací sada na průkaz protilátek proti brucelóze

Pouze k veterinárnímu užití.

**Název a zamýšlené užití**

IDEXX Brucellosis Serum je enzymatický imunologický test firmy IDEXX pro detekci protilátek proti brucelóze v individuálních nebo směsných (max. 10) vzorcích séra skotu.

**Obecné informace**

Brucelóza je zoonóza vyskytující se po celém světě, s významnými dopady v oblasti veřejného zdraví i ekonomiky farem. Nejčastěji bývá způsobena bakteriemi *Brucella abortus* nebo *Brucella melitensis*. Vyvolává potraty a bakterie se vylučují do mléka. Ke kontaminaci člověka dochází pozřením infikovaných produktů nebo kontaktem s nimi (mléko, sýr a především materiály vznikající při potratu). Hlavním příznakem infekce je undulující horečka se závažnými a častými komplikacemi při chronickém rozvoji onemocnění. Závažnost tohoto onemocnění přiměla zdravotnické orgány zavést screeningové programy pro detekci infikovaných zvířat a vymýcení choroby. Screening brucelózy se provádí převážně pomocí sérologických testů (test barvení bengálskou červení, séroaglutinační test, komplement fixační test, test mléčným kroužkem a ELISA), které lze jako jediné využít v masových screeningových programech.

**Popis a principy**

Mikrodestičky testu jsou potaženy brucelovým lipopolysacharidem (LPS). Testované vzorky se zředí a inkubují v jamkách destičky. Během inkubace testovaného vzorku v potažených jamkách vytvoří specifické protilátky proti bakterii *Brucella* imunikomplexy s brucelovým LPS. Po vymytí nenavázaného materiálu se přidá anti-ruminantní IgG konjugát enzymu a protilátky, který se naváže na jakýkoli přítomný imunokomplex brucelového LPS a protilátky. Nenavázaný konjugát se vymyje a přidá se enzymový substrát (TMB). V přítomnosti enzymu je substrát oxidován a vzniká modrá sloučenina, která po blokování zežloutne. Následný rozvoj zbarvení přímo odpovídá množství protilátek proti bakterii *Brucella* přítomných v testovaném vzorku. Výsledek je získán porovnáním optické hustoty vzorku s průměrnou optickou hustotou pozitivní kontroly.

Reagencie Objem

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | Destičky potažené brucelovým LPS | 2 | 10 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek  | 1 x 1,0 ml | 1 x 1,0 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek  | 1 x 1,0 ml | 1 x 1,0 ml |
| 4a | Koncentrovaný konjugát (100x) | 1 x 1,5 ml | 1 x 1,5 ml |
| 4b | Ředicí pufr č. 1 | 1 x 120 ml | 1 x 120 ml |
| 5 | Ředicí pufr č. 2 | 1 x 120 ml | 2 x 120 ml |
| A | TMB substrát č. 13 | 1 x 60 ml | 1 x 120 ml |
| B | Zastavovací roztok č. 3 | 1 x 60 ml | 1 x 120 ml |
| C | Mycí koncentrát (20x) | 1 x 100 ml | 2 x 100 ml |
| Další součásti sady: Sáček se zipovým uzávěrem | 1 | 1 |

Poznámka: Popis symbolů použitých v návodu a popiscích této soupravy naleznete 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
* Odměrný válec pro přípravu promývacího roztoku
* Čtečka mikrodestiček s 96 jamkami (vybavená filtrem s vlnovou délkou 450 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
* Kryty na mikrodestičky (víčka, hliníková nebo přilnavá fólie)
* Třepačka mikrodestiček

**Bezpečnostní opatření a upozornění pro uživatele**

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

**Laboratorní praxe**

* 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.

**Příprava reagencií**

**Mycí roztok**

Koncentrát mycího roztoku (20x) musí být před užitím zředěn destilovanou/deionizovanou vodou v poměru 1:20 (např. 15 ml koncentrátu (20x) na 285 ml destilované vody). Tento roztok bude dále nazýván „mycí roztok“.

Poznámka: Koncentrát mycího roztoku (20x) by měl být zahřát na teplotu 18–26°C a dobře promíchán, aby se rozpustily veškeré sražené soli. Mycí roztok je při teplotě 2–8°C stabilní po dobu 3 dnů.

**Konjugát**

Koncentrovaný konjugát (100x) musí být:

* V protokolu krátké inkubace vzorků zředěn ředicím pufrem č. 1 v poměru 1:100.
* V protokolu inkubace vzorků přes noc zředěn ředicím pufrem č. 1 v poměru 1:200.

Poznámka: Zředěný roztok konjugátu je při teplotě 18–26°C stabilní po dobu 8 hodin.

**Postup testu**

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

1. Připravte si potažené mikrodestičky a zaznamenejte umístění vzorků. Pokud používáte pouze část destičky, oddělte jen takový počet destiček, který odpovídá počtu testovaných vzorků. Zbývající jamky umístěte spolu s desikantem do přiloženého sáčku se zipovým uzávěrem a uložte zpět do teploty 2-8°C.

2. Dejte 190 μl ředicího pufru č. 2 do každé jamky.

3. Dejte 10 μl NEŘEDĚNÉHO negativního kontrolního vzorku (NK) do duplicitních jamek.

4. Dejte 10 μl NEŘEDĚNÉHO pozitivního kontrolního vzorku (PK) do duplicitních jamek.

5. Do zbývajících jamek dejte vždy 10 μl NEŘEDĚNÉHO testovaného vzorku na jamku.

6. Promíchejte obsah jamek jemným poklepáváním nebo pomocí třepačky destiček.

7. Zakryjte destičku a inkubujte:

- individuální vzorky: po dobu 1 hodiny (±5 min.) při teplotě 18–26°C (krátký protokol) nebo 16-24 hodin při 18–26°C (protokol inkubace přes noc).

- směsné vzorky: po dobu 1 hodiny (±5 min.) při teplotě 18–26°C (krátký protokol).

8. Odstraňte roztok a každou jamku 3x promyjte přibližně 300 µl mycího roztoku. Destička nesmí mezi umýváním a před přidáním příští reagencie vyschnout. Po posledním promytí odstraňte zbývající mycí tekutinu z každé destičky poklepáváním na savý materiál.

9. Přidejte 100 μl ZŘEDĚNÉHO konjugátu do každé jamky.

10. Inkubujte po dobu 30 minut (±3 min.) při teplotě 18–26°C.

11. Opakujte krok č. 8.

12. Přidejte 100 μl TMB substrátu č. 13 do každé jamky.

13. Inkubujte 20 minut (±3 min.) při 18–26°C mimo dosah přímého světla.

14. Přidejte 100 μl zastavovacího roztoku č. 3 do každé jamky.

15. Změřte a zaznamenejte hodnoty optické hustoty vzorků a kontrol při vlnové délce 450 nm.

Poznámka: Při použití robotických systémů umožňuje inkubace mikrodestiček v inkubačních komůrkách pracovat bez krytů destiček. Využívání robotických systémů zároveň není kompatibilní s jemným poklepáváním nebo otíráním mikrotitračních destiček. Před odečítáním výsledků lze destičky uchovávat ve tmě až 1 hodinu.

16. **Výpočty:**

**Kontrolní vzorky**

NK~~x~~ = NK1 A(450) + NK2 A(450) PK~~x~~ = PK1 A(450) + PK2 A(450)
 2 2

**Kritéria validity**

PKx ≥ 0,350 PKx / NKx ≥ 3,00

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

**Vzorky**

S/P % = 100 x A(450) vzorku – NK A(450)

 PK~~x~~ – NK~~x~~

17. **Intepretace**

**Individuální vzorky:**

Negativní: S/P % ≤ 110

Suspektní: 110 < S/P % < 120

Pozitivní: S/P % ≥ 120

**Směsné vzorky:**

Negativní: S/P % < 20

Pozitivní: S/P % ≥ 20

Poznámka: Společnost IDEXX má k dispozici přístrojové a softwarové systémy pro výpočet výsledků a poskytování souhrnů dat.

**Technická podpora:**

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

\*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.

©2019 IDEXX Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena.

**Nebezpečí**

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

**Pozitivní kontrola/Negativní kontrola –** Může vyvolat alergickou kožní reakci. Používejte ochranné rukavice. PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody s mýdlem. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

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

**Ředicí pufr č. 2/Koncentrovaný konjugát –** Může vyvolat alergickou kožní reakci. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Používejte ochranné rukavice. PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody s mýdlem. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

**H315/H319/P280/P332+P313/P337+P313**

**TMB substrát** - **–** Způsobuje podráždění pokožky. Způsobuje závažné podráždění očí. Používejte ochranné rukavice/ochranné brýle/obličejový štít. Dojde-li k podráždění pokožky: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

**H314/H317/H318/H412/P280/P301+P330+P331/P303+P361+P353/P304+P340/P305+P351+P338**

**Zastavovací roztok –** Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Může vyvolat alergickou kožní reakci. Způsobuje vážné poškození očí. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. PŘI POŽITÍ: Vypláchněte ústa. NEVYVOLÁVAJTE zvracení. PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou. PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

**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

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive

Westbrook, Maine 04092

USA

Výrobce

IDEXX Montpellier SAS

326 rue de la Galéra

34090 Montpellier

Francie

Držitel rozhodnutí o schválení a zástupce pro EU

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko

Číslo schválení: 006-06/C