**Diagnostická souprava na stanovení protilátek proti viru chřipky typu A**

IDEXX Influenza A

06-53101-04

****

IDEXX **Influenza A**

**Diagnostická souprava na stanovení protilátek proti viru chřipky typu A**

**Pouze pro veterinární použití.**

**Název a určené použití**

Diagnostická souprava IDEXX Influenza A na stanovení protilátek proti viru chřipky typu A ve zvířecím séru.

**Obecné informace**

Virus chřipky typu A napadá domestikované i volně žijící druhy zvířat. Onemocnění je charakterizováno širokou škálou projevů od v podstatě žádných klinických známek až po různou míru mortality. Závažnost chřipky typu A se liší podle kmene anebo izolátu viru, věku a imunitního stavu zvířete, přítomnosti současně probíhajících virových infekcí a také podle toho, zda je chřipka typu A komplikována sekundárními infekcemi. Respirační příznaky zahrnují kašel, výtok z nosu anebo očí, kýchání a dušnost. Může být pozorována hypertermie s přidruženou anorexií, úbytek váhy, letargie a vyčerpanost. Vzhledem k různorodosti a závažnosti klinických symptomů přináší serologické testování významné výhody. Monitorování expozice hejna či stáda viru chřipky typu A usnadňuje měření protilátek proti chřipce typu A v séru.

**Popis a principy**

Tento test je určen na měření relativní hladiny protilátek proti viru chřipky typu A ve zvířecím séru. Analýza se provádí na 96jamkových destičkách, do nichž byl aplikován virový antigen chřipky typu A. Při inkubaci testovaného vzorku s vrstvou virového antigenu v jamkách se vytvoří komplex specifických protilátek proti chřipce typu A s aplikovaným antigenem. Po vymytí nenavázaného materiálu se do jamek přidá enzymem značený konjugát monoklonálních protilátek proti nukleoproteinu chřipky typu A. Při nepřítomnosti protilátek proti viru chřipky typu A v testovaném vzorku se může konjugát volně navázat na antigen chřipky typu A na destičce. Naopak, pokud jsou ve vzorku přítomny protilátky proti chřipce typu A, je navázání konjugátu nukleoproteinu chřipky typu A zablokováno. Nenavázaný konjugát se vymyje a přidá se enzymový substrát. Následná intenzita zabarvení je nepřímo úměrná množství protilátek proti chřipce typu A v testovaném vzorku.

|  |  |
| --- | --- |
| **Reagencie** | **Množství** |
| 1 | Destička s ukotveným antigenem chřipky typu A  | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek  | 1 x 2,0 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek  | 1 x 2,0 ml |
| 4 | Konjugát | 1 x 55 ml |
| 5 | Pufr na ředění | 1 x 235 ml |
| A | Substrát TMB | 1 x 60 ml |
| B | Zastavovací roztok | 1 x 60 ml |
| C | Promývací koncentrát (10X) | 1 x 235 ml |
| **Ostatní komponenty:** Sáček se zipovým uzávěrem | 1 |

**Poznámka**: Viz tabulka na poslední straně, kde je uveden popis symbolů použitých v příbalovém letáku a na štítcích v této sadě.

**Skladování**

Všechny reagencie uchovávejte při teplotě 2°C – 8°C. Reagencie jsou stabilní do data exspirace, pokud byly řádně uchovávány.

**Potřebné pomůcky, které nejsou součástí soupravy**

* Přesné pipety nebo vícekanálové dávkovací zařízení
* Jednorázové špičky na pipety
* Odměrný válec na promývací roztok
* Čtečka na 96jamkové destičky (vybavená filtrem 650 nm)
* Promývačka mikrotitračních destiček (manuální, poloautomatický nebo automatický systém)
* Na přípravu reagencií používaných při testu používejte pouze destilovanou nebo neionizovanou vodu
* Kryty mikrotitračních destiček (víčko, hliníková fólie nebo lepicí páska)
* Mikrotitrační třepačka nebo ekvivalentní zařízení
* Zkumavky na ředění vzorků

**Bezpečnostní opatření a upozornění**

* S veškerým biologickým materiálem zacházejte jako s potenciálně infekčním materiálem.
* Při manipulaci se vzorky a reagenciemi noste ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / obličejový štít.
* Další informace najdete v materiálovém bezpečnostním listu k výrobku
* Upozornění na rizika spojená s reagenciemi a bezpečnostní opatření jsou uvedena na konci tohoto příbalového letáku.

**Laboratorní zásady**

* Optimálních výsledků dosáhnete přísným dodržováním tohoto protokolu. Na udržení přesnosti je potřebné pečlivé pipetování, časování a promývání v průběhu postupu. Pro každý testovaný i kontrolní vzorek použijte novou špičku pipety.
* TMB nevystavujte silnému světlu ani žádným oxidačním činidlům. TMB používejte v čisté skleněné nebo plastové nádobě.
* Veškerý odpad je třeba před likvidací řádně dekontaminovat. Obsah zlikvidujte v souladu s lokálními, regionálními a celostátními předpisy.
* Je třeba postupovat opatrně, aby nedošlo ke kontaminaci komponentů testovací soupravy. Nenalévejte nespotřebované reagencie zpět do nádobek.
* Testovací sadu nepoužívejte po datu exspirace.

**Příprava promývacího roztoku**

Koncentrát promývacího roztoku (10X) nechte ohřát na teplotu 18°C - 26°C a promíchejte, aby se rozpustily případné vysrážené soli. Promývací koncentrát (10X) před použitím zřeďte v poměru 1 ku 10 destilovanou/deionizovanou vodou (např. 30 ml promývacího koncentrátu (10X) plus 270 ml vody na jednu analyzovanou destičku). Promývací roztok připravený za sterilních podmínek lze skladovat po dobu jednoho týdne při teplotě 2°C - 8°C.

**Příprava vzorků**

Testované vzorky před analýzou zřeďte 10krát (1/40), a to pufrem na ředění (např. 10 µl vzorku zřeďte 135 µl pufru na ředění). **Poznámka:** **Kontrolní vzorky neřeďte.** Každý vzorek důkladně promíchejte, než jej nanesete na destičky.

**Postup testu**

Všechny reagencie musí mít před použitím teplotu 18° - 26°C. Reagencie promíchejte lehkým kroužením nebo protřepáním.

1. Připravte si destičky s nánosem antigenu a zaznamenejte polohu vzorku. Jestliže používáte dělené destičky, vyjměte pouze dostatečný počet jamek pro testování vzorků. Zbývající jamky společně s desikantem vložte do přiloženého uzavíracího sáčku a uložte na místo s teplotou 2 - 8°C.
2. Do dvojice jamek přidejte 100 µl neředěného negativního kontrolního vzorku.
3. Do dvojice jamek přidejte 100 µl neředěného pozitivního kontrolního vzorku.
4. Do zbývajících jamek přidejte 100 µl zředěných vzorků.
5. Nechte inkubovat po dobu 60 minut (±5 min.) při teplotě 18° - 26°C.
6. Odstraňte roztok a každou jamku třikrát až pětkrát důkladně promyjte přibližně 350 µl promývacího roztoku. Mezi promýváním a před přidáním další reagencie nesmí destička vyschnout. Po posledním promytí z každé destičky lehce vyklepejte zbytek promývací tekutiny na absorpční materiál.
7. Do každé jamky přidejte 100 µl konjugátu.
8. Nechte inkubovat po dobu 30 minut (±2 min.) při teplotě 18° - 26°C.
9. Zopakujte krok 6.
10. Do každé jamky přidejte 100 µl TMB substrátu.
11. Nechte inkubovat po dobu 15 minut (±1 min.) při teplotě 18° - 26°C.
12. Do každé jamky přidejte 100 µl stop roztoku.
13. Změřte a zaznamenejte absorbanci testovaných vzorků a kontrolních vzorků při vlnové délce 650 nm.
14. Výpočty:

**Kontrolní vzorky**



**Kritéria validity**



U neplatných analýz bude pravděpodobnou příčinou technika; po důkladném prostudování příbalového letáku analýzu zopakujte.

**Vzorky**



Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti viru chřipky A v jednotlivých vzorcích se stanoví podle poměru vzorku k negativní kontrole (S/N).

1. Interpretace:

**Kontrola hraniční hodnoty – ptáci**

 Negativní Pozitivní



**Kontrola hraniční hodnoty – ostatní zvířecí druhy**

Negativní Pozitivní



Tepelná inaktivace séra od hus může vyvolávat slabě falešně pozitivní výsledek testu.

**Poznámka:** Společnost IDEXX má k dispozici přístrojové a programové vybavení, které počítá výsledky a generuje datové souhrny.

**Pro technickou pomoc:**

IDEXX USA Tel: +1 800 548 9997 nebo +1 207 556 4895
IDEXX Evropa Tel: +800 727 43399
Kontaktujte svého oblastního manažera či distributora IDEXX nebo navštivte naše internetové stránky: idexx.com/contactlpd

IDEXX a Test With Confidence jsou obchodní značky nebo registrované obchodní známky společnosti IDEXX Laboratories, Inc. Nebo jejích poboček v USA anebo jiných zemích.

ⓒ 2007 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved.

**Popis symbolů**

 Kód šarže

 Sériové číslo

 Katalogové číslo

 Diagnostika in vitro

 Autorizovaný zástupce v Evropském společenství

 Pozitivní kontrolní vzorek

 Negativní kontrolní vzorek

 Použijte do

 Datum výroby

 Výrobce

 Teplotní omezení

 Čtěte návod na použití

****  Větší změna v návodu na použití

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

Výrobce

IDEXX Montpellier SAS
326 rue de la Galéra
34090 Montpellier
Francie

Zástupce pro EU a držitel rozhodnutí o schválení v ČR

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

idexx.com

