**Testovací souprava k prokázání protilátek proti viru Actinobacillus pleuropneumoniae**

Pouze pro veterinární užití

**Název a zamýšlené použití**

Souprava IDEXX APP-ApxIV ELISA nabízí rychlou, jednoduchou a specifickou metodu stanovení protilátek proti *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP), patogenu způsobujícímu prasečí pleuropneumonii, v séru a plazmě prasat nezávisle na sérotypu APP. Umožňuje odlišit očkovaná (negativní výsledek testu) od infikovaných (pozitivní výsledek testu) zvířat.

**Popis a principy**

Mikrotitrační destičky jsou dodávány potažené rekombinantním bakteriálním antigenem ApxIV. Zředěné vzorky k testování jsou inkubovány v jamkách těchto destiček. Protilátky specifické pro ApxIV se zde navážou na antigen a vytvoří komplex antigen/protilátka na povrchu jamek destičky. Nenavázaný materiál se odstraní vymytím. Následně je přidán peroxidázou značený konjugát anti-prasečí-IgG, který se váže na prasečí protilátky komplexované antigenem ApxIV. Po vymytí nenavázaného konjugátu se přidává do jamek TMB substrát. Následně vyvinuté zabarvení (optická hustota měřena při 450 nm) je přímo úměrné množství ApxIV specifických protilátek ve vzorku. Výsledek je získán srovnáním optické hustoty (OH) vzorků s OH pozitivního kontrolního vzorku.

**Reagencie Objem**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destička potažená antigenem APP ApxIV | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek | 1 x 0,9 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek | 1 x 0,9 ml |
| 4 | Konjugát | 1 x 60 ml |
| 5 | Roztok na ředění vzorků | 1 x 100 ml |
| A | TMB substrát č. 12 | 1 x 60 ml |
| B | Zastavovací roztok č. 3 | 1 x 60 ml |
| C | Promývací koncentrát (10x) | 1 x 480 ml |
|  | **Ostatní komponenty**: sáček se zipovým uzávěrem | 1 |

Poznámka: Popis mezinárodních symbolů používaných na štítcích této soupravy najdete v tabulce na konci příbalové informace.

**Skladování**

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 přístroje na současné pipetování více dávek

• jednorázové pipetovací špičky

• odměrný válec na promývací roztok opatřený stupnicí

• mikrodestička s 96 jamkami (vybavená filtrem s vlnovou délkou 450 nm)

• mycí zařízení na mikrodestičku (manuální, poloautomatický nebo automatický systém)

• destilovaná nebo deionizovaná voda pro přípravu reagencií používaných při testu (vždy používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu)

• kryt mikrodestičky (víko, hliníková fólie nebo lepicí)

• vortex nebo ekvivalentní třepací zařízení

• třepačka mikrodestiček

• vlhká komora nebo inkubátor, schopný udržet teplotu +37°C (±3°C)

**Upozornění a varování pro uživatele**

• S veškerým biologickým materiálem nakládejte jako s potenciálně infekčním materiálem.

• Při manipulaci se vzorky a reagenciemi používejte ochranné rukavice / ochranné oblečení / ochranné prostředky na oči nebo obličej.

• Další informace najdete v bezpečnostním listu výrobku.

• 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 mytí během postupu. Pro každý vzorek a každý kontrolní vzorek používejte novou špičku pipety.

• 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**

**Promývací roztok**

Promývací koncentrát (10X) je třeba temperovat na 18–26 °C a promíchat, aby se rozpustily všechny sražené soli. Promývací koncentrát (10X) je třeba před použitím zředit v poměru 1 ku 10 destilovanou/deionizovanou vodou (např. 30 ml koncentrátu plus 270 ml vody na destičku, která se má použít). Je-li promývací roztok připraven ve sterilních podmínkách, může se uchovávat při teplotě 2–8 °C po dobu jednoho týdne.

**Příprava vzorků a kontrolních vzorků**

Předřeďte vzorky a kontrolní vzorky ve zkumavkách ředicím roztokem v poměru 1:10 (např. 15 μL vzorku nebo kontrolního vzorku + 135 μL ředicího roztoku).

**Postup testu**

Všechny reagencie je třeba před použitím nechat temperovat na 18–26 °C. Reagencie se míchají mírným obracením a kroužením.

1. Připravte potažené destičky a zapište polohu vzorku na pracovním listu. Používáte-li části destiček, vezměte pouze jamky dostatečné pro testované vzorky. Zbývající destičky spolu s vysoušecím prostředkem uložte do sáčku se zipovým uzávěrem obsaženým v soupravě a vraťte do prostředí s teplotou 2–8 °C.

2. Do dvou jamek dejte 100 µl ZŘEDĚNÉHO negativního kontrolního vzorku (NC).

3. Do dvou jamek dejte 100 µl ZŘEDĚNÉHO pozitivního kontrolního vzorku (PC).

4. Do příslušných jamek dejte 100 µl ZŘEDĚNÝCH vzorků.

5. Zakryjte destičku a inkubujte po dobu 60 minut (±5 minut) při 37 °C. Destičky musí být těsně uzavřeny nebo inkubovány ve vlhké komoře chráněny kryty destiček, aby se zabránilo jakémukoli odpařování.

6. Vylijte tekutinu z jamek a každou jamku pětkrát vymyjte přibližně 300 µl mycího roztoku. Destička nesmí mezi umýváním a před přidáním příští reagencie vyschnout. Po posledním odstranění tekutiny odstraňte zbývající mycí tekutinu z každé destičky poklepáváním na savý materiál.

**Důležité – Doporučené nastavení pro automatické mytí destiček:**

* **Dávkujte mycí roztok v přepadové pozici (doporučený průtok 200 μL/s).**
* **Zvolte nízkou rychlost aspirace (doporučeno 5 mm/s) a vysoký stupeň aspirace (3 až 5).**
* **Finální pozice aspiračních trnů by měla být zhruba 1 mm nade dnem jamky.**
* **Nepoužívejte spodní mytí ani podobné režimy.**

7. Do každé jamky dejte 100 µl konjugátu.

**Důležité – Doporučené nakládání s konjugátem:**

* **Udržujte konjugát chlazený.**
* **Vyjměte pouze požadované množství potřebné k použití.**
* **Temperujte požadované množství na 18 – 26°C před použitím.**
* **Abyste zabránili možné kontaminaci, nenalévejte zbylý konjugát zpět do lahvičky.**
* **Konjugát je možné alikvotně rozdělit do čistých nádob s jednotlivými proužky nebo destičkami. Skladujte je a zacházejte s nimi tak, jak bylo zmíněno výše.**

8. Zakryjte destičku a inkubujte po dobu 1 hodiny (±5 minut) při +37°C (± 3°C). Destičky musí být těsně uzavřeny nebo inkubovány ve vlhké komoře chráněny kryty destiček, aby se zabránilo jakémukoli odpařování.

9. Opakujte krok 6.

10. Do každé jamky dejte 100 µl TMB substrátu č. 12.

11. Inkubujte mimo dosah přímého světla po dobu 15 minut (±1 minuta) při +37°C (± 3°C).

12. Do každé jamky dejte 100 µl zastavovacího roztoku č. 3.

13. Změřte a zaznamenejte optickou hustotu vzorků a kontrolních vzorků při 450 nm.

14. Výpočty:

Kontrolní vzorky:
 

Kritéria validity:
  

U neplatných analýz bude pravděpodobnou příčinou technika; po důkladném prostudování příbalové informace analýzu zopakujte.

Vzorek

~~~~

15. Interpretace:

 Negativní Suspektní Pozitivní

  

Zůstává-li vzorek podezřelý i po druhém opakování testu, doporučuje se analyzovat nový vzorek odebraný tomuto zvířeti. Pokud je nový vzorek také podezřelý, měla by být zvážena epidemiologická situace. Je-li to možné, znovu analyzujte vzorek jinou metodou.

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

**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.

ⓒ 2019 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved.

**Varování:**

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. NEVYVOLÁVEJTE 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**

 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 Switzerland GmbH
Stationstrasse 12
CH-3097 Liebefeld-Bern
Švýcarsko

Zástupce pro EU a držitel rozhodnutí o schválení

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

idexx.com

