**Testovací souprava k průkazu protilátek proti viru infekční rinotracheitidy skotu v individuálních vzorcích séra a plazmy**

Pouze k veterinárnímu užití

**Název a zamýšlené použití**

IDEXX IBR Individual Ab Test Kit je enzymatická imunoassay pro stanovení protilátek BHV1 specifických pro virus způsobující infekční rinotracheitidu skotu (IBR) v individuálních vzorcích bovinního séra a plazmy.

**Všeobecné informace**

Infekční rinotracheitida skotu je vysoce nakažlivé infekční onemocnění, způsobované bovinním herpesvirem 1. Nejčastěji se projevuje jako respirační syndrom zahrnující kašel, rýmu, zvýšenou tělesnou teplotu a bronchopulmonární komplikace. Vzácněji se může vyskytovat v okulární, nervové nebo genitální formě (bovinní pustulární vulvovaginitida).
Může způsobit také aborty a neonatální mortalitu. Stejně jako všechny ostatní herpesviry může BHV-1 po primární infekci zůstat v infikovaném zvířeti v latentní formě a znovu se projevit v obdobích virální reaktivace.
Vakcinace slouží k omezení šíření viru v infikovaném stádě, ale neposkytuje absolutní ochranu: byť v oblastech s výrazně rozšířenou infekcí nebo na farmách, kde se virus vyskytuje, vakcinace snižuje nebo zcela eliminuje ekonomické dopady nemoci, nezabrání jejímu vytrvalému šíření a eventuálnímu obnovenému výskytu.
Proto, stejně jako u Aujeszkyho nemoci, jsou sanitární programy založeny převážně na sérologickém screeningu a progresivní eliminaci séropozitivních zvířat (v oblastech s mírnou a střední prevalencí).
Dřívější screeningové metody založené na séroneutralizaci nebo pasivní aglutinaci séra jsou dnes převážně nahrazeny metodou ELISA. Tato metoda je snadno implementovatelná, rychlá a spolehlivá, a navíc obzvláště vhodná k analýze velkého množství vzorků.

**Popisy a principy**

Mikrotitrační destičky jsou potaženy ultra čistým lyzátem BHV-1. Testované vzorky jsou zředěny a inkubovány v jamkách destičky. Inkubací vzorku v potažených jamkách se vytvoří specifické protilátky BHV-1 vytvoří imunokomplex s BHV-1 antigenem. Po vymytí přebytečného materiálu se přidá anti-ruminant protilátkový konjugát, který se naváže na jakýkoli imunokomplex antigen-protilátka. Nenavázaný konjugát je odstraněn vymytím a je přidán enzymový substrát (TMB).
V přítomnosti enzymu je substrát oxidován a generuje modrou sloučeninu. Přidáním zastavovacího roztoku vznikne žlutá barva.

Následný vývoj zbarvení je přímo úměrný množství protilátek na BHV-1 přítomnému ve vzorku. Diagnostická relevance výsledku je dosažena srovnáním optické hustoty vzorku se střední optickou hustotou pozitivního kontrolního vzorku (viz „Výpočty“ a „Interpretace výsledků“).

**Reagencie Objem**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destička potažená antigenem BHV-1 | 10 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek | 1 x 2,0 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek | 1 x 2,0 ml |
| 4a | Koncentrovaný konjugát (100x) | 1 x 1,5 ml |
| 4b | Ředicí pufr č. 1 | 1 x 120 ml |
| 5 | Ředicí pufr č.2 | 2 x120 ml |
| A | TMB substrát č. 9 | 1 x 120 ml |
| B | Zastavovací roztok č. 3 | 1 x 120 ml |
| C | Promývací koncentrát (20x) | 2 x 100 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**

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

**Potřebné materiály, 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 450 nm)
* Promývačka mikrotitračních destiček (manuální, poloautomatický nebo automatický systém)
* Na přípravu reagencií používaných při testu používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu
* Vortex nebo ekvivalentní zařízení
* Kryty mikrotitračních destiček (víčko, hliníková fólie nebo lepicí páska)
* Centrifuga (kapacita 2000 x g)
* Mikrotitrační třepačka nebo ekvivalentní zařízení
* Inkubátor schopný vyvinout teplotu +37°C (±3°C)

**Upozornění a varování pro uživatele**

* 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 reagencií**

**Promývací roztok**

Koncentrát promývacího roztoku (20X) musí být před použitím zředěn destilovanou nebo deionizovanou vodou v poměru 1:20 (např. 15 ml koncentrátu promývacího roztoku (20X) a 285 ml destilované vody). Takto připravený roztok je dále nazýván „promývací roztok“.

Poznámka: Koncentrát promývacího roztoku (20X) je třeba temperovat na 18–26 °C a promíchat, aby se rozpustily všechny sražené soli. Promývací roztok je stabilní až 3 dny, je-li skladován při teplotách 2–8°C.

**Konjugát**

Koncentrovaný konjugát (100X) musí být zředěn ředicím pufrem 1 v poměru 1:100.

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

**Postup testu**

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

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. Dejte 180 µl ředicího pufru č. 2 do každé jamky.

3. Do dvojice jamek přidejte 20 µl neředěného negativního kontrolního vzorku (NC).

4. Do dvojice jamek přidejte 20 µl NEŘEDĚNÉHO pozitivního kontrolního vzorku (PC).

5. Do zbývajících jamek přidejte 20 µl NEŘEDĚNÉHO vzorku.

6. Promíchejte obsah v jamkách jemným kroužením nebo na mikrotitrační třepačce.

7. Zakryjte destičku lepicím krytem a inkubujte 1 hodinu (±5 min.) při teplotě +37°C (±3°C).

8. Odstraňte roztok a každou jamku třikrát vymyjte přibližně 300 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.

9. Pipetujte 100 µl zředěného konjugátu do každé jamky.

10. Zakryjte destičku a inkubujte 30 minut (±5 min.) při teplotě +37°C (±3°C).

11. Opakujte krok 8.

12. Pipetujte 100 µl TMB substrátu č.9 do každé jamky.

13. Inkubujte 20 minut (±3 min.) při teplotě 18–26°C na temném místě.

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

15. Změřte a zaznamenejte absorbanci vzorků a kontrolních vzorků při 450 nm.

Poznámka: Při použití automatiky lze inkubovat mikrotitrační destičky v inkubační komoře bez použití krytů. Využití automatiky není kompatibilní s jemným poklepáváním a otíráním destiček. Destičky mohou být před měřením absorbance uloženy až 1 hodinu ve tmě.

16. Výpočty:

Kontrolní vzorky:

 

Kritéria validity:

 

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

Vzorky:



17. Interpretace:

 Negativní Pozitivní

 

**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.

ⓒ 2019 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved.

**Upozornění:**

H317/P280/P302+P352/P333+P313

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

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

Ředící pufr č.2 – Může vyvolat alergickou kožní reakci. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Používejte ochranné rukavice. PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody. Při podráždění kůže nebo vyrážce: 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. 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 Montpellier SAS
326 rue de la Galéra
34090 Montpellier
Francie

Zástupce pro EU a držitel rozhodnutí o schválení

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

idexx.com

