**Testovací souprava k průkazu protilátek proti viru Schmallenberg**

Pouze k veterinárnímu použití.

**Název a zamýšlené použití**

IDEXX Schmallenberg Ab Test Kit poskytuje rychlou, senzitivní a specifickou metodu na detekci protilátek proti viru Schmallenberg (SBV) a ostatním virům sérologické skupiny Simbu v individuálních vzorcích séra a plazmy skotu, ovcí a koz.

**Popis a princip testu**

Mikrotitrační destičky jsou potažené purifikovaným nukleoproteinem viru Schmallenberg. Ředění a inkubace testovaných vzorků probíhá v jamkách destičky. Protilátky specifické pro virus Schmallenberg nebo ostatní viry ze sérologické skupiny Simbu se navážou a vytvoří na povrchu destičky imunokomplex antigen/protilátka.
Nenavázaný materiál se z jamek odstraní promýváním. Dále se přidá anti-ruminant konjugát, který se váže na protilátkový komplex s rekombinantním antigenem. Nenavázaný konjugát se odstraní promývacím roztokem a do jamek se přidá substrát obsahující TMB.
Stupeň vytvořeného zabarvení (optická hustota měřená při 450 nm) je přímo úměrný množství specifických protilátek proti viru Schmallenberg nebo ostatním virům ze sérologické skupiny Simbu přítomných v testovaném vzorku. Výsledek testu získáme porovnáním optické hustoty vzorku s optickou hustotou pozitivní kontroly.

|  |  |
| --- | --- |
| **Reagencie** | **Objem**  |
| 1  | Mikrotitrační destička potažená SBV antigenem | 2  |
| 2  | Pozitivní kontrola  | 1 x 0.6 mL  |
| 3  | Negativní kontrola  | 1 x 0.6 mL  |
| 4  | Konjugát  | 1 x 24 mL  |
| 5  | D Ředicí roztok | 1 x 35 mL  |
| A  | TMB Substrát č.12  | 1 x 20 mL  |
| B  | Zastavovací roztok č.3  | 1 x 20 mL  |
| C  |  Koncentrát promývacího roztoku (10X)  | 1 x 125 mL  |
| **Další složky:** sáček se zipovým uzávěrem | 1 |

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

**Skladování**

Všechny reagencie skladujte při teplotě 2-8 °C. Pokud byly dodrženy podmínky správného skladování, jsou reagencie stabilní až do data exspirace.

**Potřebné materiály, které nejsou součástí soupravy**

• Přesné pipety a multikanálové pipety

• Jednorázové pipetovací špičky

•Odměrný válec na promývací roztok, opatřený stupnicí

• Spektrofotometr snímající mikrodestičky s 96 jamkami, vybavený filtrem s vlnovou délkou 450 nm

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

• Destilovaná nebo deionizovaná voda – na přípravu reagencií používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu

• Kryty na mikrotitrační destičky – víčka, aluminiová fólie nebo lepicí kryty

• Vortex nebo ekvivalentní zařízení

**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 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 (promývací) roztok**

Zřeďte promývací koncentrát (10x) přidáním vody (1 díl koncentrátu a 9 dílů vody, tj. 100 ml promývacího koncentrátu (10x) + 900 ml destilované vody).

**Postup testu**

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

1. Připravte potažené destičky a označte pozice vzorků. Pokud použijete jen část destičky, vezměte jen takové množství jamek, jaké je potřebné pro daný počet testovaných vzorků. Ostatní jamky uložte spolu s desikantem do uzavíratelného sáčku a uložte při teplotě 2–8°C.

2. Dejte 90 μl ředicího roztoku do každé jamky.

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

4. Dejte 10 μl negativního kontrolního vzorku (nK) do duplicitních jamek.

5. Použijte 10 μl testovaného vzorku do zbývajících jamek.

6. Smíchejte obsah jamek jemným poklepáváním nebo použijte mikrotitrační třepačku.

7. Zakryjte destičku a inkubujte 60 minut (±5 min.) při 18–26°C.

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

9. Přidejte 100 μl konjugátu do každé jamky.

10. Zakryjte destičku a inkubujte 60 minut (±5 min.) při 18–26°C.

11. Opakujte krok 8.

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

13. Inkubujte 10 minut (±1 min.) při 18–26°C.

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

15. Změřte a zapište hodnotu absorbance vzorků a kontrol při 450 nm.

Poznámka: Zajistěte odečítání výsledků do 2 hodin od přidání zastavovacího roztoku.

16. Výpočty

NK = negativní kontrola, PK = pozitivní kontrola, V = vzorek

|  |
| --- |
| **Kontroly** |
| NKx = NK1 A(450) + NK2 A(450)2 | PCx = PK1 A(450) + PK2 A(450)2 |
| **Kritéria validity** |
| NKx ≤ 0.300 | PKx ≤ 2.000 | PKx – NKx ≥ 0.300 |
| Neplatnost výsledků může být způsobena chybnou technikou provedení. Je třeba opakovat test podle přiloženého návodu.  |
| **Vzorky** |
| V/P % = 100 X Vzorek A(450) – NKx PKx – NKx |
| **17** | Interpretace: |
| Negativní | Podezřelý | Pozitivní |
| S/P % < 30 | 30 ≤ S/P % < 40  | S/P % ≥ 40 |

|  |
| --- |
| Pokud zůstává vzorek podezřelý i po opakování testu, je třeba od tohoto zvířete odebrat a otestovat další vzorek. Je-li i nový vzorek podezřelý, musí být zvážena epidemiologická situace.Poznámka: Společnost IDEXX má přístrojové a softwarové systémy, které vypočítávají výsledky a poskytují souhrny údajů.  |

**Potřebujete-li technickou podporu:**

IDEXX USA Tel: +1 800 5489997 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 zapsané ochranné známky společnosti IDEXX Laboratories, Inc. nebo jejích přidružených společností ve Spojených státech amerických a/nebo v jiných zemích.

©2019 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved. (Všechna práva vyhrazena.)

**Nebezpečí**

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

**Pozitivní/Negativní kontrola:** – 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/H318/P280/ P302+P352/P305+P351+P338/P333+P313**

**Ředící roztok -** Může vyvolat alergickou kožní reakci. Způsobuje vážné poškození očí. Používejte ochranné brýle/obličejový štít. Používejte ochranné rukavice. PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. 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 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
Stationsstrasse 12
CH-3097 Libefeld-Bern
Švýcarsko

Zástupce pro EU a držitel rozhodnutí o schválení

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

idexx.com

