# Obecná informace

Tato diagnostická souprava je určena k detekci protilátek

proti evropským (EU-PRRSV, typ 1 včetně kmene LENA podtyp 3) a americkým (US-PRRSV, typ 2) kmenům viru reprodukčního a respiračního syndromu prasat (PRRSV).

Soupravu je možné použit se vzorky prasečího séra nebo plazmy.

# Popis a princip

Mikrodestičky jsou potaženy rekombinantními proteiny PRRSV ORF7.

Vzorky a kontroly, které mají být otestovány, přidejte do jamek mikrodestičky. Pokud jsou přítomny protilátky Anti-PRRSV, vytvoří komplex antigen-protilátka.

Po promytí se do jamek přidá konjugát Anti-IgG s křenovou peroxidázou (HRP). Ta se specificky naváže na detekované protilátky a vytváří komplex konjugát antigen-protilátka-HRP.

Po vymytí přebytečného konjugátu přidejte roztok substrátu (TMB).

Výsledné zbarvení jamky závisí na množství specifických protilátek přítomných v testovaném vzorku.

* v přítomnosti protilátek se objeví **modré zbarvení,** které po přidání stop roztoku zežloutne.
* v nepřítomnosti protilátek se zbarvení neobjeví.

Mikrodestička se odečítá při 450 nm.

# Součásti soupravy

|  |
| --- |
| **Činidla\*** |
| Mikrodestičky potažené rekombinantním antigenem viru reprodukčního a respiračního syndromu prasat (PRRSV) |
| Koncentrovaný konjugát (10x) |
| Pozitivní kontrola |
| Negativní kontrola |
| Ředící pufr 14 |
| Ředící pufr 3 |
| Promývací koncentrovaný pufr (20x) |
| Roztok substrátu (TMB) |
| Stop roztok (0,5 M) |

\* *Dodávaná množství jsou uvedena na štítku sady.*

1. Konjugát, kontroly a roztok substrátu musí být skladovány při teplotě 5 °C (± 3 °C).

2. Ostatní reagencie lze skladovat mezi +2 °C až +26 °C.

3. Přesný popis skladovacích podmínek otevřených i neotevřených činidel naleznete na htts://www.id vet.com/fr/support/faq.

1. Promývací a stop roztoky lze použít pro celou skupinu produktů ID.Vet. Substrátové roztoky a ředící pufry se stejnými čísly šarží je možné používat i mezi soupravami.

# Požadované materiály, které nejsou součástí balení

1. Jedno nebo vícekanálové pipety pro dávkování 5 µl, 10 µl, 100 µl a 500 µl.
2. Jednorázové špičky.
3. Destilovaná nebo deionizovaná voda.
4. 96 jamková mikrodestička.
5. Manuální nebo automatický systém promývání mikrodestiček.
6. 96jamková čtečka mikrodestiček.

# Bezpečnostní opatření

1. Nepipetujte ústy.

2. Obsahuje složky, které mohou být škodlivé pro pokožku i oči a při kontaktu mohou způsobit podráždění. Pracujte tak, aby nedocházelo ke kontaktu s pokožkou a očima. Používejte ochranný laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Stop roztok (0,5 M) může být při požití škodlivý.

3. Nevystavujte roztok substrátu přímému světlu ani oxidačním činidlům.

4. Veškerý odpad by měl být před likvidací řádně dekontaminován. Odpad likvidujte podle místních právních předpisů. Podrobnější informace naleznete v bezpečnostním listu, který je k dispozici na vyžádání nebo na adrese info@innovativediagnostics.com.

5. Uchovávejte mimo dohled a dosah dětí.

# Příprava promývacího roztoku

Před použitím nechejte ohřát koncentrovaný promývací roztok (20x) na pokojovou teplotu. Důkladně protřepejte, abyste zajistili, že promývající roztok bude homogenní.

Připravte si promývací roztok (1x) tak, že destilovanou nebo deionizovanou vodou naředíte promývací koncentrovaný pufr (20x) v poměru 1:20.

Kvalita promývacího roztoku může ovlivnit výsledky. Mezi promývacími kroky se ujistěte, že jsou jamky zcela prázdné. Používáte-li automatickou promývačku, je důležité správně nastavit parametry přístroje (režim, typ a výkon).

Pro další informace nahlédněte do příručky ID.Vet, která je k dispozici na vyžádání u dodavatele nebo na adrese: info@innovative-diagnostics.com.

# Postup testování

Dodržujte pracovní postup stanovený výrobcem.

Před použitím nechejte všechna činidla ohřát na pokojovou teplotu (21 °C ± 5 °C). Homogenizujte všechna činidla převrácením nebo kroužením.

* Negativní a pozitivní kontroly jsou dodávány v soupravě připravené k použití. NEPŘIDÁVEJTE ředící pufr do kontrolních jamek A1, B1, C1 a D1 – kontroly je třeba otestovat neředěné.

Vzorky se naopak testují ředěné v poměru 1:40.

1. **V 96 jamkové mikrodestičce s předem naředěnými jamkami**

Jamky A1, B1, C1 a D1 ponechte prázdné a přidejte, pokud možno v tomto pořadí\*

* 5 µl testovaného vzorku
* 195 µl ředícího pufru 14 do všech jamek, kam byl přidán vzorek (KROMĚ kontrolních jamek A1, B1, C1 a D1).

*\* Dodržování předepsaného pořadí (nejprve vzorky, poté ředící pufr) zajišťuje lepší reprodukovatelnost výsledků a umožňuje vizuálně kontrolovat přidávání vzorku (vzorků).*

2. **Do potažené mikrotitrační destičky** ELISA přidejte:

* 100 µl NEŘEDĚNÉ negativní kontroly do jamek A1 a B1.
* 100 µl NEŘEDĚNÉ pozitivní kontroly do jamek C1 a D1.
* 100 µl předem naředěných vzorků připravených výše do zbývajících jamek.

3. Pečlivě utěsněte destičku a inkubujte **30 minut ± 3 minuty** při teplotě **21 °C** (± 5 °C).

4. Vyprázdněte jamky. Každou jamku 5krát promyjte minimálně 300 µl promývacího roztoku. Dbejte na to, aby se jamky mezi jednotlivými promývacími kroky nevysušily.

5. Připravte pracovní roztok konjugátu zředěním koncentrovaného roztoku konjugátu (10x) v poměru 1:10 v ředícím pufru 3.

6. Přidejte 100 µl naředěného konjugátu 1x do každé jamky.

7. Pečlivě utěsněte destičku a inkubujte **30 minut ± 3 minuty** při teplotě **21 °C** (± 5 °C).

8. Vyprázdněte jamky. Každou jamku 5krát promyjte minimálně 300 µl promývacího roztoku. Dbejte na to, aby se jamky mezi jednotlivými promývacími kroky nevysušily.

9. Do každé jamky přidejte 100 µl roztoku substrátu.

10. Pečlivě utěsněte destičku a inkubujte **15 minut ± 2 minuty** při teplotě **21 °C** (± 5 °C) v temnu.

11. Přidejte 100 µl stop roztoku do každé jamky ve stejném pořadí jako v kroku č. 9, abyste zastavili reakci.

12. Odečtěte a zaznamenejte OD při 450 nm.

# Kontrola:

Test je platný, pokud:

* střední hodnota OD negativní kontroly (ODNC) je menší nebo rovna 0,150.



Innovative Diagnostics, 310, rue Louis Pasteur – Grabels – FRANCIE

www.innovative-diagnostics.com - e-mail: info@innovative-diagnostics.com

Tel: + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: + 33 (0)4 67 45 36 95

* rozdíl středních hodnot pozitivní a negativní kontroly (ODPC a ODNC) je větší nebo roven 0,150.



# Vyhodnocení:

Pro každý vzorek vypočítejte poměr S/P následovně

s použitím korigovaných hodnot vzorku a kontroly:



Vzorky představující poměr S/P

* méně než 0,4 jsou považovány za negativní.
* rovný nebo větší než 0,4 jsou považovány za pozitivní.

|  |  |
| --- | --- |
| **Výsledek** | **Interpretace** |
| S/P < 0,4 | NEGATIVNÍ |
| S/P ≥ 0,4 | POZITIVNÍ |

*Poznámka: Program pro analýzu dat IDSoft je k dispozici zdarma. Pro více informací prosím kontaktujte support.software@innovativediagnostics.com*

Tento softwarový program dokáže vypočítat mnoho parametrů (kritéria validace, hodnoty S/P nebo S/N, titry) a nabízí grafické znázornění sérologických profilů testovaných zvířat.

# ID Screen

# PRRS Indirect



**Nepřímá ELISA pro detekci protilátek proti Evropským a americkým kmenům PRRSV v prasečím séru nebo plazmě**

**192 testů, 480 testů**

Pouze pro použití *in vitro*

Veterinární přípravek. Pouze pro zvířata.