IDEXX **SE Ab X2**

Souprava k testování protilátek proti *Salmonella* Enteritidis

Název a způsob použití

Pouze pro veterinární účely.

IDEXX SE Ab X2 je enzymová imunoanalýza společnosti IDEXX na průkaz protilátek proti *Salmonella* Enteritidis (SE) v kuřecím séru*.*

Obecné informace

*Salmonella* Enteritidis je významným patogenem u drůbeže a byla izolována v chovech brojlerů a plemenných i komerčních nosnic. Bakteriologická identifikace pozitivních ptáků je obtížná kvůli přerušovanému vylučování organismu. Přítomnost protilátek poukazuje na předchozí expozici při imunizaci nebo infekci. Bylo prokázáno, že tato enzymová imunoanalýza je užitečná při průkazu protilátek proti SE u drůbeže. Test IDEXX SE Ab X2 je možné použít k počátečnímu screeningu přítomnosti protilátek proti SE. Jelikož je však test IDEXX SE Ab X2 založen na g,m flagelinu, mohou být pozitivní výsledky potenciálně vyvolány i dalšími sérovary *Salmonella,* které sdílejí epitopy g,m flagelinu. Pozitivní výsledky screeningu proto musí vždy potvrdit standardní bakteriologické metody. Test IDEXX SE Ab X2 nerozlišuje mezi vakcinovanými a přirozeně infikovanými zvířaty.

Popis a principy

Test IDEXX SE Ab X2 je určen k měření relativní hladiny protilátek proti SE v kuřecím séru. Čištěným antigenem SE jsou převrstveny 96jamkové mikrotitrační destičky. Během první inkubace vytvoří protilátka proti SE specifická pro SE komplex s čištěným převrstveným antigenem na destičkách. Po vymytí nenavázaného materiálu se do jamek přidá konjugát, který se váže na přítomné protilátky kuřat. Nenavázaný konjugát se vymyje a do jamek se přidá enzymový substrát. Intenzita výsledného zabarvení je přímo úměrná množství protilátek proti SE, které se vyskytují v testovaném vzorku.

**Reagencie** **Množství**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destička převrstvená antigenem SE | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek – ředěné kuřecí anti-SE sérum, konzervované azidem sodným | 1 x 1,9 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek – ředěné kuřecí sérum nereaktivní na SE, konzervované azidem sodným | 1 x 1,9 ml |
| 4 | Konjugát – (kozí) anti-kuřecí: HRPO konjugát; konzervovaný gentamicinem a Kathonem | 1 x 50 ml |
| 5 | Ředidlo na vzorky – konzervováno azidem sodným | 1 x 235 ml |
| A | Substrát TMB | 1 x 60 ml |
| B | Stop roztok | 1 x 60 ml |
| **Další součásti:** Uzavíratelný ZIP sáček | | 1 |

**Poznámka:** Popis mezinárodních symbolů použitých na etiketách soupravy je uveden v tabulce na konci příbalového letáku.

Uchovávání

Reagencie uchovávejte při teplotách 2 – 8 °C. Pokud jsou reagencie správně uchovávány, jsou stabilní až do vypršení data exspirace.

Nezbytné pomůcky a nástroje, které nejsou součástí sady

* Přesné mikropipety a mikropipety pro hromadné dávkování
* Jednorázové pipetové špičky
* Čtečka 96jamkových mikrotitračních destiček (vybavená 650 nm filtrem)
* Promývačka mikrotitračních destiček (manuální, poloautomatická nebo automatická)
* Pro přípravu reagencií používaných při provádění testu používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu.
* Vortex nebo srovnatelné míchací zařízení

Bezpečnostní opatření a varování

* S veškerým biologickým materiálem nakládejte jako s potenciálně infekčním. Antigen použitý v reagenciích této soupravy nemusí být kompletně inaktivovaný.
* Při manipulaci se vzorky a reagenciemi používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí nebo obličeje.
* Další informace naleznete v bezpečnostních údajích o produktu na konci tohoto příbalového letáku.
* Varování a upozornění týkající se reagencií jsou uvedena na konci této příbalové informace.

Laboratorní postupy

* Optimálních výsledků lze dosáhnout při přísném dodržení tohoto protokolu. Nezbytným předpokladem zachování přesnosti je pečlivé pipetování, časování a promývání v průběhu postupu. Pro každý vzorek a kontrolní vzorek použijte samostatnou špičku pipety.
* Nevystavujte roztok TMB silnému světlu ani oxidačním prostředkům. Při práci s roztokem TMB používejte čisté skleněné nebo plastové pomůcky.
* Veškerý odpad je třeba před likvidací řádně dekontaminovat. Obsah zlikvidujte v souladu s místními, regionálními a národními předpisy.
* Je třeba dbát na to, aby nedošlo ke kontaminaci součástí soupravy. Nespotřebované reagencie nenalévejte zpět do nádobek.
* Nepoužívejte soupravu po uplynutí expirační doby a nemíchejte její součásti se součástmi souprav jiných výrobních šarží.

Příprava vzorků

Testované vzorky se před analýzou naředí ředidlem na vzorky v poměru 1:500 (např. 1 μl vzorku se naředí 500 μl ředidlem na vzorky). **POZNÁMKA: KONTROLNÍ ROZTOKY SE NEŘEDÍ.**

Pro každý vzorek použijte novou špičku pipety. Vzorky musí být před nanesením do převrstvené mikrotitrační destičky řádně promíseny.

Postup testování

Všechny reagencie se musí před použitím zahřát na teplotu 18ºC – 26ºC. Reagencie promíchejte pomalým otočením dnem vzhůru nebo kroužením.

|  |  |
| --- | --- |
| **1** | Připravte si destičku/destičky s převrstveným antigenem a zaznamenejte polohu vzorku. Pokud používáte dělitelné destičky, použijte pouze tolik mikrotitračních proužků, kolik je pro analýzu třeba. Nepoužité proužky uložte spolu s desikantem do uzavřeného sáčku a uchovávejte je při teplotě 2ºC – 8ºC. |
| **2** | Do dvou jamek testovací destičky pipetujte 100 µl NEŘEDĚNÉHO negativního kontrolního vzorku (NC). |
| **3** | Do dvou jamek testovací destičky pipetujte 100 µl NEŘEDĚNÉHO pozitivního kontrolního vzorku (PC). |
| **4** | Do příslušných jamek pipetujte 100 µl ŘEDĚNÉHO vzorků. Vzorek může být také testován ve dvou jamkách, ale i jedna jamka je dostačující. |
| **5** | Zakryjte jamky a nechte inkubovat po dobu 30 minut (± 2 minuty) při teplotě 18–26 °C. |
| **6** | Odstraňte tekutý obsah z mikrotitračních jamek a každou jamku třikrát až pětkrát promyjte pomocí přibližně 350 µl destilované nebo deionizované vody. Je třeba zabránit tomu, aby destička v době mezi promýváním a před přidáním další reagencie vyschla. Po posledním odstranění tekutiny důkladně vyklepejte z každé mikrotitrační destičky zbytky promývací tekutiny na savý materiál. |
| **7** | Do každé jamky pipetujte 100 µl konjugátu. |
| **8** | Zakryjte jamky a nechte inkubovat po dobu 30 minut (± 2 minuty) při teplotě 18–26 °C. |
| **9** | Opakujte krok 6. |
| **10** | Do každé jamky pipetujte 100 µl substrátu TMB. |
| **11** | Zakryjte jamky a nechte inkubovat po dobu 15 minut (± 1 minuta) při teplotě 18 – 26 °C. |
| **12** | Do každé jamky pipetujte 100 µl stop roztoku. |
| **13** | Změřte a zaznamenejte hodnoty absorbance při 650 nm, A(650). |

**14** Výpočet:

**Kontrolní vzorky**

****

**Kritéria validity**

****

Je-li test neplatný, může být pravděpodobnou příčinou chybný pracovní postup. V takovém případě je test třeba po pečlivém prostudování příbalového letáku zopakovat.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **Vzorky** |  |
|  |  | |
| \*Týká se S/P při ředění 1:500 až do konečného titru. (sample mean = střední hodnota vzorku, pozn. překl.)  Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti SE se určí tak, že se porovná hodnota A(650) neznámého vzorku s průměrem PC. PC vzorek je standardizován a reprezentuje významnou hladinu protilátek proti SE v kuřecím séru. Výpočet poměru vzorku vůči pozitivnímu kontrolnímu vzorku ("sample to positive ratio", S/P) odlišuje pozitivní vzorky od negativních a vyjadřuje koncentraci protilátek ve vzorku. Konečné titry jsou vypočítány podle rovnice uvedené výše. | | |
| **15** | Interpretace: |  |
|  | Negativní | Pozitivní |
|  | S/P ≤ 0,20 | S/P > 0,20 |
|  | Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní kritérium pro imunitu vzhledem k titru protilátek na základě korelace IDEXX SE Ab X2 vůči aktuálním metodologiím laboratorních testů a na základě historie protilátkových odpovědí na specifické vakcíny a vakcinační protokoly.  Vztah mezi imunitou a buď S/P, nebo titrem, nebyl pro tento produkt stanoven. Imunitní status hejna lze nejlépe posoudit sledováním a zaznamenáváním titrů protilátek v reprezentativních vzorcích v závislosti na čase. Výsledné profily hejna umožňují posouzení distribuce titrů protilátek a analýzu změn titrů v čase. Vzorky séra s poměry S/P 0,2 a méně je třeba považovat za negativní.  Vzorky s poměry S/P nad 0,2 je třeba považovat za pozitivní. Pozitivní výsledek (titr > 264) naznačuje vakcinaci nebo infekci SE.  **Poznámka:** Společnost IDEXX má k dispozici přístrojové a programové vybavení, které počítá výsledky a generuje datové souhrny. | |

Odbornou pomoc získáte zde:

IDEXX USA Tel: +1 800 548 9997 nebo +1 207 556 4895

IDEXX Europe Tel.: +800 727 43399

Obraťte se na oblastního manažera nebo distributora IDEXX nebo navštivte naši webovou stránku idexx.com/contactlpd

IDEXX a Test With Confidence jsou známky nebo registrované známky společnosti IDEXX Laboratories, Inc. nebo jejích přidružených společností v USA a/nebo dalších zemích

© 2018 IDEXX Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena.

VAROVÁNÍ

|  |
| --- |
| H316 / P332+P313 / EUH208 |
| **Konjugát** − Vyvolává mírné podráždění kůže. V případě podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření. Obsahuje Kathon. Může způsobit alergickou reakci. |

|  |
| --- |
| H315 / H319 / P280 / P332+P313 / P337+P313 |
| **Substrát TMB** – Dráždí kůži. Způsobuje vážné podráždění očí. Používejte ochranné rukavice / ochranu očí / ochranu obličeje. V případě podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření. Pokud podráždění očí přetrvává: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření. |

**Popis symbolů**

|  |  |
| --- | --- |
|  | Číslo šarže |
|  | Sériové číslo |
|  | Katalogové číslo |
|  | Diagnostika *in vitro* |
|  | Autorizovaný zástupce v Evropském společenství |
|  | Kontrolní pozitivní vzorek |
|  | Kontrolní negativní vzorek |
|  | Použijte do |
|  | Datum výroby |
|  | Výrobce |
|  | Teplota uchovávání |
|  | Viz návod k použití |
|  | Důležitá změna v pokynech pro uživatele |

*Výrobce*

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive Westbrook,

Maine 04092

USA

*Zástupce pro EU*

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334 2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko

idexx.com

