**Testovací souprava k prokázání protilátek proti viru infekční rinotracheitidy skotu (BHV1) gb**

IDEXX IBR gB X3

Pouze pro veterinární užití

**Název a zamýšlené užití**

IDEXX IBR gB X3 Ab Test Kit je enzymatická immunoassay společnosti IDEXX pro stanovení protilátek BHV1 specifických pro virus způsobující infekční rinotracheitidu skotu (IBR) v individuálních vzorcích séra, plazmy a mléka za použití monoklonálních protilátek specifických pro IBR-gB.

**Všeobecné informace**

Infekční rinotracheitida skotu je vysoce nakažlivé infekční onemocnění, způsobené bovinním herpesvirem 1. Kromě vyvolání respiračního onemocnění může tento virus způsobit konjunktivitidu, vulvovaginitidu, aborty, encefalitidu a generalizované systémové infekce. I když mohou klinické nálezy výrazně odpovídat IBR, nejsou skutečné patopneumonické příznaky omezeny na IBR. Proto je pro definitivní stanovení nákazy BHV1 nezbytné laboratorní potvrzení. Potvrzení expozice BHV1 přirozenou nákazou je usnadněno měřením protilátek v séru nebo mléku. Bylo prokázáno, že metoda ELISA (enzyme-linked immuno sorbent assay) pro detekci protilátek proti BHV1 u skotu koreluje s testem neutralizace viru (VN), i když může být citlivější.

**Popisy a zásady**

IDEXX IBR gB X3 je enzymatická immunoassay pro zjišťování přítomnosti protilátek IBR/IPV v individuálních vzorcích séra, plazmy a mléka. Kromě toho tento test ELISA zjišťuje tvorbu protilátek vyvolanou vakcínami obsahujícími glykoprotein B (gB) BHV1. Imobilizací virových protilátek IBR na destičce byl vytvořen mikrotitrační formát. Během inkubace testovaného vzorku v jamce potažené antigenem tvoří protilátka specifická pro IBR komplex s imobilizovanými virovými protilátkami. Po vymytí volného materiálu z jamek se přidává konjugát - monoklonální protilátka specifická pro gB, peroxidáza křenu –, který se neváže na protilátku BHV1, jestliže již byl antigenní determinant, rozpoznaný monoklonální protilátkou, obsazen (blokován) protilátkami obsaženými v testovaném vzorku. Následně se nenavázaný konjugát vymyje a přidá se roztok substrátu. Za přítomnosti enzymu se substrát mění na produkt, který reaguje s chromogenem a generuje modrou barvu. Přidáním zastavovacího roztoku vznikne žlutá barva. Pomocí spektrofotometru se měří absorbance při jedné vlnové délce 450 nm [A(450)] nebo při dvou vlnových délkách 450 nm a 650 nm [A(450/650)]. Podíl blokování v procentech ve vzorku se vypočte na základě absorbance [A(450)] nebo [A(450/650)] zjištěné při použití testovaného vzorku a negativního kontrolního vzorku, který neobsahuje žádné specifické protilátky.

**Reagencie Objem**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | Destička potažená antigenem BHV-1 | 5 | 30 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek (PC) | 1 x 2 ml | 1 x 6,5 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek (NC) | 1 x 2 ml | 1 x 6,5 ml |
| 4 | Konjugát | 1 x 60 ml | 1 x 350 ml |
| A | TMB substrát č. 12 | 1 x 60 ml | 1 x 400 ml |
| B | Zastavovací roztok č. 3 | 1 x 60 ml | 1 x 400 ml |
| C | Promývací koncentrát (10x) | 1 x 480 ml | 3 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.

**Uchovávání**

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 vícekanálové dávkovací zařízení
* jednorázové pipetovací špičky
* odměrný válec na promývací roztok
* mikrodestička s 96 jamkami (vybavená filtrem s jednou vlnovou délkou 450 nm nebo s dvěma vlnovými délkami 450 nm a 650 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)
* vortex nebo ekvivalentní třepací zařízení
* kryt mikrodestičky (víko, hliníková fólie nebo lepicí) a/nebo vlhká komora
* centrifuga o kapacitě 2000 x g
* třepačka mikrodestiček
* inkubátor schopný udržovat 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. Používejte vždy nové pipetovací špičky pro každý vzorek a kontrolní vzorek.
* 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 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 mycí roztok připraven ve sterilních podmínkách, může se uchovávat při teplotě 2–8 °C po dobu jednoho týdne.

**Příprava vzorků**

Je možné testovat čerstvé, zchlazené nebo předem zmrazené sérum nebo plazmu. Vzorky plnotučného mléka se mohou použít po odstřeďování po dobu 15 minut při 2 000 xg nebo ponechat v klidu přes noc, jsou-li zchlazené (2–8 °C).

Mléko zbavené tuku není třeba předem nijak upravovat.

**Postup testu**

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

**Vzorky séra/plazmy**

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 každé jamky dejte 50 µl rekonstituovaného mycího roztoku.

3. Do dvou jamek dejte 50 µl negativního kontrolního vzorku (NC).

4. Do dvou jamek dejte 50 µl pozitivního kontrolního vzorku (PC).

5. Do zbývajících jamek dejte 50 µl vzorků.

6. Smíchejte obsah mikrojamek mírným poťukáváním na destičku nebo použijte třepačku destiček.

7. Zakryjte jamky a inkubujte po dobu 2 hodin (±5 minut) při 37 °C (±3°C) nebo přes noc (12–18 hodin) při 2–8 °C. Při obou možnostech musejí být destičky těsně uzavřeny nebo ve vlhké komoře a chráněny kryty destiček.

Pokračujte krokem 8.

**Vzorky mléka**

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 negativního kontrolního vzorku (NC).

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

4. Dejte 100 µl vzorků mléka bez tuku (z mléka pod tukovou vrstvou) do jednotlivých nebo zdvojených jamek na zbytku destičky.

5. Zakryjte destičku a inkubujte přes noc (12–18 hodin) při 2–8 °C. Destičky musejí být těsně uzavřeny nebo chráněny kryty destiček a inkubovány ve vlhké komoře.

Pokračujte níže uvedeným krokem 8.

**Společný postup pro vzorky séra, plazmy a mléka**

8. Vylijte nebo odsajte tekutinu z mikrotitrových 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.

9. Do každé jamky dejte 100 µl konjugátu.

10. Inkubujte po dobu 1 hodiny (±5 minut) při 18–26 °C.

11. Opakujte krok 8.

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

13. Inkubujte mimo dosah přímého světla po dobu 10 minut (±1 minuta) při 18–26 °C.

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

15. Změřte a zaznamenejte absorbanci vzorků a kontrolních vzorků při 450 nm nebo pomocí dvojí vlnové délky 450 nm a 650 nm.

16. Vypočítejte výsledky.

**Výpočet**

Kontrolní vzorky:
 

Kritéria validity:

|  |  |
| --- | --- |
|   |  |

U neplatných rozborů mohlo dojít k chybě v technice testu a rozbor je třeba opakovat s přesným dodržením návodu.

Vzorky:


Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek IBR-gB se stanoví na základě procentuálního podílu blokování pro každý vzorek.

17. Interpretace výsledků

 Negativní Suspektní Pozitivní

  

**Poznámka**: Společnost IDEXX má přístrojové a softwarové systémy, které vypočítávají průměry a podíly blokování a poskytují souhrny údajů.

**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.

ⓒ 2018 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved.

**Varování:**

H316 / P332+P313 / EUH208

Konjugát - Způsobuje mírné podráždění kůže. Dojde-li k podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření. Obsahuje Proclin. Může vyvolat alergickou reakci.

H315 / H319 / P280 / P332+P313 / P337+P313

TMB substrát - Dráždí kůži. Způsobuje vážné podráždění očí. Používejte ochranné rukavice / ochranné brýle / obličejový štít.

Dojde-li k podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření. Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření.

H302/H315/H317/H319/H335/P280/P333+P313/P337+P313

Zastavovací roztok: Zdraví škodlivý při požití. Může způsobit podráždění kůže. Může vyvolat alergickou kožní reakci. Způsobuje vážné podráždění očí. Může způsobit podráždění dýchacích cest. Používejte ochranné rukavice / ochranné brýle / obličejový štít.

Dojde-li k podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření.

Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření.

EUH208

Promývací koncentrát / Pozitivní kontrolní vzorek / Negativní kontrolní vzorek - Obsahuje Proclin. Může vyvolat alergickou reakci.

**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 AG

Stationsstrasse 12

CH-3097 Liebefeld-Bern

Švýcarsko

Obchodní zástupce pro EU a držitel rozhodnutí o schválení

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemí