**Testovací souprava k prokázání protilátek proti Mycoplasma gallisepticum**

Pouze pro veterinární užití.

**Název a zamýšlené užití**

IDEXX MG je enzymatický imunotest firmy IDEXX pro detekci protilátek proti *Mycoplasma gallisepticum* (Mg) v séru slepic a krůt.

**Obecné informace**

Jak posouzení sérologického statusu, tak sérologická identifikace Mg vyžaduje stanovení protilátek proti Mg v séru. Enzymatické imunotesty mají ověřenou účinnost v kvantifikaci hladiny protilátek proti Mg a usnadňují tak monitoring imunitního statusu ve velkých hejnech.

**Popis a principy**

Tento test je určen ke stanovení relativní hladiny protilátek proti Mg v séru slepic a krůt. Mg antigen je nanesen na mikrotitrační destičky s 96 jamkami. Během inkubace vzorku v potažené jamce vytváří specifické protilátky proti Mg komplex s nanesenými antigeny. Po vymytí nenavázaného materiálu z jamek se přidá konjugát, který se naváže na zachycené protilátky v jamkách. Nenavázaný konjugát se vymyje a přidá se enzymový substrát. Následný rozvoj zbarvení přímo souvisí s obsahem protilátek proti Mg, přítomných v testovaném vzorku.

**Činidla** **Objem**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destička potažená antigenem Mg | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek - zředěné kuřecí anti-Mg sérum, konzervováno Proclinem™150 | 1 x 1,9 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek - zředěné kuřecí sérum nereaktivní na Mg; konzervováno Proclinem™150  | 1 x 1,9 ml |
| 4 | Konjugát — (Kozí) anti-kuřecí/anti-krůtí: HRPO konjugát; konzervováno Proclinem™150 | 1 x 50 ml |
| 5 | Roztok k ředění vzorků — pufr, konzervováno Proclinem™150 | 1 x 235 ml |
| A | TMB substrát | 1 x 60 ml |
| B | Zastavovací roztok | 1 x 60 ml |

Poznámka: Popis symbolů použitých v této příbalové informaci a popisků této testovací sady najdete v tabulce na konci informace.

**Uchovávání**

Činidla uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Činidla jsou za předpokladu řádného skladování stabilní do data exspirace.

**Potřebné materiály, které nejsou součástí sady**

* Přesné pipety nebo multikanálové pipety
* Jednorázové pipetovací špičky
* Čtečka mikrodestiček s 96 jamkami (vybavená filtrem s vlnovou délkou 650 nm)
* Mycí zařízení na mikrodestičku (manuální, poloautomatický nebo automatický systém)
* Pro přípravu činidel používaných při testu používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu
* Vortex nebo ekvivalentní třepačka

**Bezpečnostní opatření a upozornění pro uživatele**

* Se všemi biologickými materiály zacházejte jako s potenciálně infekčními. Antigeny obsažené v činidlech této sady nemusí být zcela inaktivovány.
* Při manipulaci se vzorky a činidly používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle nebo obličejový štít.
* Další informace najdete v bezpečnostních listech materiálu.
* Upozornění a bezpečnostní opatření pro použití činidel naleznete na konci této příbalové informace.

**Laboratorní praxe**

* Pro dosažení optimálních výsledků přesně dodržujte tento protokol. K zachování přesnosti a správnosti je nezbytné pečlivé pipetování, měření času a promývání během postupu. Pro každý vzorek a kontrolu použijte vždy novou pipetovací špičku.
* TMB roztok nevystavujte silnému světlu nebo jakýmkoli oxidačním činidlům. Pro manipulaci s TMB roztokem 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 nepoužitá činidla zpět do nádob.
* Nepoužívejte soupravu po datu exspirace.

**Příprava vzorků**

Testované vzorky před testem pětsetkrát zřeďte (1:500) roztokem k ředění vzorků (např. 1 μL vzorku a 500 μL ředicího roztoku). **POZNÁMKA: KONTROLNÍ VZORKY NEŘEĎTE.**
Nezapomeňte pro každý vzorek vyměnit pipetovací špičku. Vzorky musí být před umístěním na potahovanou destičku důkladně promíchány.

**Postup testu**

Všechny činidla použité v tomto testu musí mít teplotu 18–26°C. Činidla se míchají jemným obracením nebo kroužením.

1. Připravte si potažené destičky a zaznamenejte umístění vzorku.

2. Dejte 100 μl NEŘEDĚNÉHO negativního kontrolního vzorku (NK) do duplicitních jamek.

3. Dejte 100 μl NEŘEDĚNÉHO pozitivního kontrolního vzorku (PK) do duplicitních jamek.

4. Dejte 100 μl ŘEDĚNÉHO testovaného vzorku do určených jamek. Vzorky lze testovat v duplikátech, ale jen jedna jamka je také přijatelná.

5. Inkubujte 30 minut (± 2 minuty) při 18–26°C.

6. Odstraňte roztok a každou jamku 3-5x promyjte přibližně 350 µl destilované nebo deionizované vody. Destička nesmí mezi umýváním a před přidáním dalšího činidla vyschnout. Po posledním vymytí odstraňte zbývající mycí tekutinu z každé destičky poklepáváním na savý materiál.

7. Přidejte do každé jamky 100 μl konjugátu.

8. Inkubujte 30 minut (± 2 minuty) při 18–26°C.

9. Opakujte krok č. 6.

10. Přidejte do každé jamky 100 μl TMB substrátu.

11. Inkubujte 15 minut (±1 min.) při 18–26°C.

12. Přidejte 100 μl zastavovacího roztoku do každé jamky.

13. Odečtěte a zaznamenejte hodnoty absorbance při vlnové délce 650 nm, A (650).

14. **Výpočty:**

**Kontrolní vzorky**

NKx = NK1 A(650) + NK2 A(650) PKx = PK1 A(650) + PK2 A(650)
 2 2

**Kritéria validity**

PKx – NKx > 0,075 NKx ≤ 0,150

Při neplatnosti výsledků je třeba předpokládat chybu v technice provedení. Doporučuje se důkladně znovu prostudovat příbalovou informaci a test provést znovu.

**Vzorky**

S/P = Průměr vzorku – NKx Log10 Titr = 1,09 (log10 S/P) + 3,36\*

 PKx – NKx

\*Vztahuje se na S/P při ředění koncového titru 1:500.

Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti Mg je určena porovnáním hodnoty absorbance A (650) vzorku s průměrem pozitivního kontrolního vzorku. Pozitivní kontrolní vzorek je standardizovaný a reprezentuje významnou hladinu protilátek proti Mg v séru. Relativní hladina protilátek ve vzorku je určena přepočítáním vzorku na pozitivní poměr S/P. Koncový titr se vypočítá použitím výše popsané rovnice.

15. **Intepretace**

Negativní: S/P ≤ 0,50

Pozitivní: S/P > 0,50

Pozitivní výsledek (titr větší než 1076) naznačuje vakcinaci nebo jiné vystavení Mg. Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní kritéria pro imunitu s ohledem na titr protilátek založený na korelaci kitu IDEXX MG se současnými testovacími metodami a na dřívějších protilátkových odpovědích.

Poznámka: Společnost IDEXX má přístrojové a softwarové systémy, které vypočítávají výsledky a poskytují souhrny údajů.

**Technická podpora:**

IDEXX USA Tel: +1 800 548 9997 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](http://www.idexx.com/production/contactlpd)

VLN/PCN: 313/5070.00

\*IDEXX a Test With Confidence jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky

společnosti IDEXX Laboratories, Inc. nebo jejích přidružených společností ve Spojených státech amerických a/nebo v jiných zemích.

©2021 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved. (Veškerá práva vyhrazena.)

**VAROVÁNÍ**

 ****

**Pozitivní kontrola / Konjugát / Roztok k ředění vzorků**

Může vyvolat alergickou kožní reakci. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Používejte ochranné rukavice. PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody s mýdlem. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.



**Negativní kontrola -** Může vyvolat alergickou kožní reakci. Používejte ochranné rukavice. PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody s mýdlem. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

**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

*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