**IDEXX** **CSFV Ab**

**Testovací souprava na průkaz protilátek proti viru klasického moru prasat (CSFV)**

**Pouze k veterinárnímu užití.**

**Název a způsob použití**

IDEXX CSFV Ab je enzymatický imunologický test pro detekci antigenů CSFV ve vzorcích prasečího séra a plazmy.

**Obecné informace**

Virus klasického moru prasat (CSFV), bovinní virové diarey (BVDV) a hraniční choroby (BDV) společně patří do rodu Pestivirus z čeledi Flaviviridae. CSFV vzhledem ke své vysoké nakažlivosti, patogenitě a schopnosti způsobovat masová úmrtí odpovídá za závažné škody v chovech prasat. Prasata infikovaná CSFV mohou před objevením klinických příznaků onemocnění vylučovat velká množství viru. Zvířata, která přežijí akutní nebo subakutní infekci si vytvoří protilátky nebo se stanou chronicky infikovanými – stav, při němž vylučují virus kontinuálně nebo přerušovaně až do smrti. U březích prasnic může CSFV projít přes placentu a infikovat plody. Způsobuje pak potraty, mumifikaci plodů a narození mrtvých selat; dojde-li k infekci uprostřed gestace (~50-70 dní březosti), mohou se narodit slabá nebo perzistentně viremická selata. Tato perzistentně infikovaná selata mohou díky absenci imunitní odpovědi virus volně šířit. Příležitostně se mohou prasata nakazit také BVDV nebo BDV. Tyto infekce jsou u prasat obvykle mírné a sebeomezující, přesto je však důležité je odlišit od infekce CSFV.

**Popis a principy**

IDEXX CSFV Ab je enzymatický imunologický test firmy IDEXX, určený k detekci specifických protilátek proti CSFV v séru nebo plazmě prasat. Jedná se o blokující ELISA test, který využívá mikrotitrační destičky potažené antigenem CSFV. Protilátky přítomné v testovaném vzorku blokují navázání CSFV-specifických monoklonálních protilátek konjugovaných s křenovou peroxidázou. Navázané monoklonální protilátky jsou detekovány reaktivním substrátem s křenovou peroxidázou. Výsledek je indikován rozvojem zbarvení. Optická hustota se měří pomocí čtečky mikrodestiček při vlnové délce 450 nm nebo při duálních vlnových délkách 450 nm a 650 nm. V přítomnosti CSFV-specifických protilátek v testovaném vzorku je rozvoj zbarvení slabý (pozitivní výsledek). V nepřítomnosti specifických protilátek je rozvoj zbarvení maximální (negativní výsledek). Procento blokování vzorku se vypočítá z optické hustoty (OH 450) testovaného vzorku a OH 450 negativní kontroly.

Činidla Objem

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | Destička potažená Antigenem CSFV | 2 | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek | 1 x 1,0 ml | 1 x 1,0 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek | 1 x 1,0 ml | 1 x 1,0 ml |
| 4 | Konjugát | 1 x 25 ml | 1 x 60 ml |
| 5 | Ředicí roztok | 1 x 15 ml | 1 x 45 ml |
| A | TMB substrát č. 12 | 1 x 20 ml | 1 x 60 ml |
| B | Zastavovací roztok č. 3 | 1 x 20 ml | 1 x 60 ml |
| C | Koncentrát mycího roztoku (10 X) | 1 x 125 ml | 1 x 480 ml |
| Další komponenty: sáček se zipovým uzávěrem | 1 | 1 |

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 soupravy**

* Přesné pipety nebo multikanálové pipety
* Jednorázové pipetovací špičky
* Odměrný válec pro přípravu promývacího roztoku
* Čtečka mikrodestiček s 96 jamkami (vybavená filtrem s vlnovou délkou 450 nm nebo duálními filtry o vlnové délce 450 a 650 nm)
* Mycí zařízení na mikrodestičky (manuální, poloautomatický nebo automatický systém)
* Pro přípravu činidel používaných při testu používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu
* Kryty na mikrodestičky (víčka, hliníková nebo přilnavá fólie) a/nebo vlhká komora
* Centrifuga (přetížení 2000x g)
* Vortex nebo ekvivalentní zařízení
* Třepačka mikrodestiček

**Bezpečnostní opatření a upozornění pro uživatele**

* Se všemi biologickými materiály zacházejte jako s potenciálně infekčními.
* Při manipulaci se vzorky a činidly používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí nebo obličeje.
* Další informace najdete v materiálových bezpečnostních listech.
* 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.
* 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 nepoužitá činidla zpět do nádob.
* Nepoužívejte soupravu po datu exspirace.

**Příprava mycího roztoku**

Koncentrát mycího roztoku (10x) je nutno zahřát na teplotu 18–26°C a dobře promíchat, aby se rozpustily veškeré sražené soli. Koncentrát mycího roztoku (10X) musí být před užitím zředěn v poměru 1:10 ultračistou vodou (Milli Q nebo dvojitě destilovaná).

Rekonstituovaný mycí roztok připravený za sterilních podmínek lze při teplotě 2–8°C uchovávat po dobu jednoho týdne.

Příklad ředění: Na přípravu 300 ml mycího roztoku zřeďte 30 ml koncentrátu mycího roztoku (10X) 270 ml ultračisté vody (Milli Q nebo dvojitě destilované) a dobře promíchejte.

**Příprava vzorků**

Testovat lze čerstvé, zchlazené (max. 8 dní při teplotě 2–8°C ) nebo zmražené vzorky séra a plazmy.

**Postup testu**

Všechna činidla použitá 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. Používáte-li pouze část destičky, oddělte počet jamek odpovídající počtu testovaných vzorků. Zbylé jamky uložte spolu s desikantem do přiloženého sáčku se zipovým uzávěrem a vraťte do chladna (2–8°C).

2. Do každé jamky určené pro testované i kontrolní vzorky dejte 50 μl ředicího roztoku.

3. Do duplicitních jamek dejte 50 μl pozitivního kontrolního vzorku (PK).

4. Do duplicitních jamek dejte 50 μl negativního kontrolního vzorku (NK).

5. Do zbývajících jamek dejte 50 μl testovaného vzorku séra nebo plazmy.

6. Promíchejte obsah mikrojamek jemným poklepáním na destičku, nebo použijte třepačku.

7. Inkubujte vzorky po 2 hodiny (±5 min.) nebo přes noc (12 - 18 hodin) při 18-26°C. Při použití kteréhokoli postupu by měly být destičky dobře utěsněny nebo inkubovány ve vlhké komoře s kryty, aby se zabránilo vypařování.

8. Odstraňte roztok a každou jamku 3x vymyjte asi 300 μl mycího roztoku. Mezi vymýváním a před přidáním další reagencie nenechte destičku vyschnout. Pro odstranění zbylého mycího roztoku po posledním vymytí destičkou poklepejte na savý materiál.

9. Do každé jamky dejte 100 μl konjugátu.

10. Inkubujte po dobu 30 minut (±2 min.) při teplotě 18–26°C. Destičky by měly být dobře utěsněny nebo inkubovány ve vlhké komoře s kryty, aby se zabránilo vypařování.

11. Opakujte krok č. 8.

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

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

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

15. Změřte a zaznamenejte absorbanci vzorků a kontrolních vzorků při 450 nm nebo použijte duální vlnovou délku 450 nm a 650 nm.

16. Výpočty:

**Kontroly**

NKx = NK1 A(450) + NK2 A(450) PKx = PK1 A(450) + PK2 A(450)
 2 2

**Kritéria validity:**

NKx > 0,500 % blokování PKx > 50

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

**Vzorky:**

% blokování = 100 x NKx A(450) –A(450) vzorku

 NKx A(450)

17. Interpretace:

Negativní: % blokování ≤ 30

Suspektní: 30 < % blokování < 40

Pozitivní: % blokování ≥ 40

**Poznámka**: Společnost IDEXX má k dispozici přístrojové a softwarové systémy pro výpočet výsledků a poskytování souhrnů dat.

**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

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.

©2022 IDEXX Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena.

**VAROVÁNÍ**

****

**Pozitivní kontrola/Negativní kontrola/Konjugát/Promývací roztok** **–** Může vyvolat alergickou kožní reakci. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Zamezte vdechování mlhy/par. Používejte ochranné rukavice. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

****

**Ředící roztok -** Může vyvolat alergickou kožní reakci. Způsobuje vážné podráždění. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Zamezte vdechování mlhy/par. Používejte ochranné rukavice/ochranné brýle/obličejový štít. 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.

****

**Zastavovací roztok –** Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Může vyvolat alergickou kožní reakci. Způsobuje vážné poškození očí. Nevdechujte mlhu/páry. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO /lékaře/. 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 |

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive

Westbrook, Maine 04092

USA

*Výrobce*

IDEXX Switzerland AG

Stationsstrasse 12

CH-3097 Liebefeld-Bern

Švýcarsko

*Zástupce pro EU*

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko