**IDEXX MM**

Testovací souprava k detekci protilátek proti *Mycoplasma meleagridis*

Pouze pro veterinární účely

**Název a zamýšlené užití**

IDEXX MM je enzymatický imunologický test firmy IDEXX k detekci protilátek proti *Mycoplasma meleagridis* (Mm) ve vzorcích krůtího séra.

**Obecné informace**

Hejna drůbeže jsou vnímavá vůči respiračním onemocněním způsobovaným řadou různých původců. Mezi ně patří i mykoplazmata. Běžnými typy mykoplazmových infekcí jsou chronická respirační onemocnění, zánět vzdušných vaků, zánět dutin a zánět sinoviální blanky kloubu.1,2 V mnoha případech lze tyto infekce nicméně identifikovat pouze pomocí sérologie, kultivace nebo metodami PCR. Pro usnadnění monitoringu expozice hejna mykoplazmaty lze využít měření hladiny protilátek proti mykoplazmatům v séru.

**Popis a principy**

Tento test slouží k měření relativní hladiny protilátek proti Mm v krůtím séru. Antigen Mm je nanesen na destičkách s 96 jamkami. V průběhu inkubace testovaného vzorku v potahované jamce destičky vytvoří specifické protilátky proti Mm komplex s naneseným antigenem. Po vymytí nenavázaného materiálu z jamek se přidá konjugát, který se naváže na jakékoli protilátky zachycené v jamkách. Nenavázaný konjugát se vymyje a přidá se enzymový substrát. Následné zbarvení přímo odpovídá množství protilátek proti Mm přítomných v testovaném vzorku.

**Činidla Objem**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destičky potažené antigenem Mm | 5 ks |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek – zředěné krůtí anti-Mm sérum; konzervované ProClinem150 | 1 x 1,9 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek – zředěné krůtí sérum nereagující na Mm; konzervované ProClinem150 | 1 x 1,9 ml |
| 4 | Konjugát – (Kozí) anti-krůtí; HRPO konjugát; konzervované ProClinem150 | 1 x 50 ml |
| 5 | Ředicí roztok – konzervované ProClinem150 | 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 soupravy**

* Přesné pipety nebo multikanálové pipety
* Jednorázové pipetovací špičky
* Čtečka mikrodestiček s 96 jamkami (vybavená filtrem s vlnovou délkou 650 nm)
* Mycí zařízení na mikrodestičky (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**

* S veškerým biologickým materiálem nakládejte jako s potenciálně infekčním. Antigen, užitý v této soupravě, nemusí být zcela inaktivován.
* Při manipulaci s vzorky a činidly používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí nebo obličeje.
* Další informace naleznete v bezpečnostním listu produktu. Varování a upozornění týkající se činidel jsou uvedena 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 vzorků**

Testované vzorky před použitím v testu zřeďte pětsetkrát (1:500) přiloženým ředicí roztokem (např.  1 µl vzorku a 500 µl ředicího roztoku). **POZNÁMKA: KONTROLNÍ VZORKY NEŘEĎTE.** Pro každý vzorek použijte novou pipetovací špičku. Vzorky musí být před rozmístěním do potahovaných jamek důkladně promíchány.

**Postup testu**

Všechna činidla použitá v tomto testu musí mít teplotu 18–26°C. Činidla se promíchávají jemným obracením nebo kroužením.

1. Připravte si antigenem potažené mikrodestičky a zaznamenejte umístění vzorků.

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

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

4. Dejte 100 μl ZŘEDĚNÉHO vzorku do určených jamek. Vzorky se doporučuje testovat v duplikátech, ale lze použít i jen jednu jamku.

5. Inkubujte po dobu 30 minut (±2 min.) při teplotě 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 promytí odstraňte zbývající mycí tekutinu z každé destičky poklepáním na savý materiál.

7. Přidejte do každé jamky 100 μl konjugátu.

8. Inkubujte po dobu 30 minut (±2 min.) při teplotě 18–26°C.

9. Opakujte krok č. 6.

10. Přidejte do každé jamky 100 μl TMB substrátu.

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

12. Přidejte do každé jamky 100 μl zastavovacího roztoku.

13. Změřte a zaznamenejte hodnotu absorbance při 650 nm, A (650).

**14. Výpočty**

**Kontrolní vzorky**

 

**Kritéria validity**

  

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

**Vzorky**

 

\* Vztahuje S/P při ředění 1:500 ke koncovému titru.

Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti Mm je určena vztažením hodnoty A(650) vzorku

k průměru pozitivní kontroly. Pozitivní kontrola je standardizovaná a reprezentuje významnou

hladinu protilátek proti Mm v séru. Relativní hladina protilátek ve vzorku je určena

výpočtem poměru vzorku k pozitivní kontrole (S/P). Koncové titry se vypočítají pomocí výše

uvedené rovnice.

**15. Interpretace:**

 Negativní Pozitivní

 

Pozitivní výsledek (titr vyšší než 1076) indikuje vakcinaci nebo jinou expozici Mm. Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní kritéria imunity s ohledem na titry protilátek založené na korelaci IDEXX MM

s aktuálními metodikami laboratorních testů a historickými protilátkovými odpověďmi.

**Poznámka:** Společnost IDEXX má k dispozici přístrojové a softwarové systémy pro výpočet výsledků a

poskytování souhrnů dat.

**Bibliografie**

1. S.H. Kleven. 1997. Mycoplasmosis in B.W. Calnek., ed. Diseases of Poultry, 10. vydání, str.191–193.

2. D.H. Ley a H.W. Yoder, Jr. 1997. Mycoplasma synoviae Infection in B.W. Calnek., ed. Diseases of Poultry, 10. vydání, str. 194–207.

**Technická podpora:**

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

IDEXX Evropa Tel: +800 727 43399

Kontaktujte manažera nebo distributora společnosti IDEXX pro Vaši oblast nebo navštivte naši webovou stránku: www.idexx.com/production/contactlpd

VLN/PCN: 313/5172.00

\*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.

©2022 IDEXX Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena.

**VAROVÁNÍ**

****

**Pozitivní Kontrola/Negativní Kontrola/Konjugát** – Může vyvolat alergickou kožní reakci. Škodlivý pro vodní organizmy, s dlouhodobými účinky. Zamezte vdechování mlhy/par. Používejte ochranné rukavice. PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody s mýdlem. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.



**Ředící roztok** – Může vyvolat alergickou kožní reakci. Škodlivý pro vodní organizmy, 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.

**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 příbalovou informaci |
|  | 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