IDEXX APV AVIAN PNEUMOVIRUS ANTIBODY TEST KIT

**Testovací sada na průkaz protilátek proti aviárnímu pneumoviru**

**Pouze pro veterinární užití.**

**Název a zamýšlené užití**

IDEXX APV je enzymatický imunologický test firmy IDEXX určený k detekci protilátek proti aviárnímu pneumoviru (APV) v séru slepic a krůt.

**Obecné informace**

Aviární pneumovirus (APV) je primární patogen slepic a krůt, který způsobuje respirační příznaky a reprodukční selhání, případně se podílí na tzv. Syndromu oteklé hlavy (SHS). Jelikož je izolace viru APV obtížná, zůstává jako nejdůležitější nástroj pro kontrolu tohoto onemocnění sérologická diagnostika. Tento test je určen ke kvantitativnímu monitoringu slepičích a krůtích hejn vakcinovaných živými a/nebo inaktivovanými produkty obsahujícími antigeny A, B nebo C a také pro detekci ptáků infikovaných A, B nebo C sérotypem APV v SPF (specific pathogen free) hejnech.

**Popis a principy**

Tento test je určen ke stanovení relativní hladiny protilátek proti APV v séru slepic a krůt. Virový antigen je nanesen na mikrotitrační destičky o 96 jamkách. Během inkubace testovaného vzorku v potažené jamce vytváří specifické protilátky proti APV komplex s nanesenými virovými antigeny. Po vymytí nenavázaného materiálu z jamek se přidá konjugát, který se naváže na slepičí nebo krůtí protilátky zachycené v jamkách. Nenavázaný konjugát se vymyje a přidá se enzymový substrát. Následný rozvoj zbarvení je přímo úměrný množství protilátek proti APV přítomným v testovaném vzorku.

**Činidla** **Objem**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destičky potažené antigenem APV | 5 ks |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek | 1 x 1,9 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek | 1 x 1,9 ml |
| 4 | Konjugát | 1 x 50 ml |
| 5 | Ředicí roztok | 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 příbalové 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 mikropipety nebo multikanálové mikropipety
* 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
* Kryty na mikrodestičky (víčka, hliníková nebo přilnavá fólie)
* Vortex nebo ekvivalentní zařízení
* Zkumavky na ředění vzorků

**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.
* Varování a upozornění týkající se činidel jsou uvedena na konci této příbalové informace.
* Uchovávejte mimo dohled a dosah dětí. Veterinární přípravek. Pouze pro zvířata.

**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 právními předpisy.
* Snažte se zabránit kontaminaci složek soupravy. Nenalévejte nepoužitá činidla zpět do nádob.
* Nepoužívejte soupravu po datu exspirace a nezaměňujte součásti ze souprav s různými čísly šarže.

**Příprava vzorků**

Před testováním zřeďte vzorky pětsetkrát (1:500) přiloženým ředicím roztokem (ředění např. 1 μl vzorku na 500 μl ředicího roztoku). **POZNÁMKA: KONTROLNÍ VZORKY NEŘEĎTE.** Pro každý vzorek použijte novou pipetovací špičku. Vzorky musí být před umístěním na potahovanou destičku důkladně promíseny.

**Postup testu**

Všechna činidla, použitá v tomto testu musí mít před použitím teplotu

18–26°C. Činidla se míchají jemným obracením nebo kroužením.

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

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 ZŘEDĚNÉHO vzorku do určených jamek.

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

12. Přidejte do každé jamky 100 μl zastavovacího roztoku.

13. Změřte a zaznamenejte hodnoty absorbance při 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

PKx – NKx

Log10 titru = 1,09 (log10 S/P) + 3,36\*

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

Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti APV je určena vztažením hodnoty A(650) vzorku k průměru pozitivní kontroly. Pozitivní kontrola je standardizovaná a reprezentuje významnou hladinu protilátek proti APV v séru slepic a krůt. Relativní hladina protilátek ve vzorku je určena výpočtem poměru vzorku k pozitivní kontrole (S/P). Koncové titry se vypočítají s využitím výše uvedené rovnice.

15. Interpretace:

Negativní: S/P ≤ 0,20

Pozitivní: S/P > 0,20

Pozitivní výsledek (titr vyšší než 396) indikuje vakcinaci nebo jinou expozici APV. Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní kritéria imunity s ohledem na titry protilátek založené na korelaci IDEXX APV s aktuálními metodikami laboratorních testů a historickými protilátkovými odpověďmi na konkrétní vakcíny a vakcinační protokoly. Imunologický status hejna se nejlépe určuje pomocí monitoringu a zaznamenávání titrů protilátek v reprezentativních vzorcích v závislosti na čase. Výsledné profily hejn umožňují stanovení distribuce titrů protilátek a analýzu změn v průběhu času.

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.

**Upozornění:**

****

**Pozitivní kontrolní vzorek/Negativní kontrolní vzorek/Konjugát/Ředicí roztok** –Může vyvolat alergickou kožní reakci. Používejte ochranné rukavice. **PŘI STYKU S KŮŽÍ**: Omyjte velkým množstvím vody. 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 k použití

****  Větší změna v návodu k použití

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive

Westbrook, Maine 04092

USA

**Výrobce:**

IDEXX Switzerland GmbH

Stationsstrasse 12

CH-3097 Liebefeld-Bern

Švýcarsko

**Zástupce pro EU a držitel rozhodnutí o schválení:**

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko