**Testovací souprava k prokázání protilátek proti viru leukózy skotu (BLV)**

Pouze pro veterinární užití

**Název a zamýšlené užití**

Testovací souprava IDEXX Leukosis Serum X2 nabízí rychlou, jednoduchou, citlivou a specifickou metodu pro detekci protilátek proti viru leukózy skotu (BLV) ve vzorcích séra a plazmy skotu (individuálních nebo směsných až do 10 jedinců).

**Popis a principy**

Mikrotitrační destičky jsou dodávány potažené inaktivovaným antigenem. Zředěné vzorky určené k testování se inkubují v jamkách těchto destiček. Jakákoli protilátka specifická pro BLV se naváže na antigen v jamkách a utvoří komplex antigen-protilátka na vnitřním povrchu jamek. Nenavázaný materiál se z jamek odstraní vymytím.
Následně se přidá peroxidázou značený anti-ruminantní IgG konjugát, který se váže na protilátky komplexované antigenem BLV. Nenavázaný konjugát se odstraní vymytím a do jamek se přidá substrát. Stupeň vznikajícího zabarvení (optická hustota se měří při 450 nm) je přímo úměrný množství protilátek ve vzorku, specifických pro BLV. Výsledek se získá porovnáním optické hustoty (OD) vzorků s OD pozitivní kontroly.

Reagencie Objem

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destička potažená antigenem BLV | 10 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek | 1 x 1,5 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek | 1 x 1,5 ml |
| 4 | Konjugát | 1 x 110 ml |
| 5 | Roztok k ředění vzorků | 1 x 110 ml |
| A | TMB substrát č. 12 | 1 x 100 ml |
| B | Zastavovací roztok č. 3 | 1 x 100 ml |
| C | Promývací koncentrát (10x) | 1 x 480 ml |
| Ostatní komponenty: Sáček se zipovým uzávěrem | 1 |

**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 mikropipety nebo multikanálové mikropipety
* Jednorázové pipetovací špičky
* Válec na promývací roztok opatřený stupnicí
* Čtečka 96jamkových mikrotitračních destiček (vybavená filtrem s vlnovou délkou 450 nm)
* Promývací zařízení na mikrodestičky (manuální, poloautomatický nebo automatický systém)
* Pro přípravu reagencií používaných při testu používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu
* Vortex nebo ekvivalentní třepačka
* Kryt mikrodestičky (víko, hliníková fólie nebo lepicí) a/nebo vlhká komora
* Inkubátor schopný uchovávat teplotu +37°C (±3°C)

**Bezpečnostní opatření a upozornění pro uživatele**

* Se všemi biologickými materiály zacházejte jako s potenciálně infekčními.
* Při manipulaci se vzorky a reagencii používejte ochranné rukavice / ochranné oblečení / ochranné prostředky na oči nebo obličej.
* Další informace najdete v materiálových bezpečnostních listech.
* 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 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 nepoužité reagencie zpět do nádob.
* Nepoužívejte soupravu po datu exspirace.

**Příprava promývacího roztoku**

Koncentrát mycího roztoku (10X) je třeba temperovat na 18–26 °C a promíchat, aby se rozpustily všechny sražené soli. Koncentrát mycího roztoku (10X) musí být před použitím zředěn destilovanou nebo deionizovanou vodou v poměru 1:10 (1 díl koncentrátu a 9 dílů destilované vody, např. 100 ml koncentrátu mycího roztoku (10 X) + 900 ml destilované vody). Pokud byl připraven ve sterilních podmínkách, lze promývací roztok uchovávat jeden týden při teplotě 2–8°C.

**Postup testu**

Všechny reagenční roztoky použité v tomto testu musí mít teplotu 18–26°C. Reagencie se míchají jemným kroužením.

1. Vyjměte potažené destičky ze sáčku a označte pozice vzorků. Pokud použijete jen část destičky,

vezměte jen takové množství jamek, jaké je potřebné pro daný počet testovaných vzorků. Ostatní jamky uložte spolu s desikantem do přiloženého uzavíratelného sáčku a uložte při teplotě 2–8°C.

2. Dejte 90 μl ředicího roztoku do každé jamky.

3. Dejte 10 μl NEŘEDĚNÉHO pozitivního kontrolního vzorku (PK) do duplicitních jamek.

4. Dejte 10 μl NEŘEDĚNÉHO negativního kontrolního vzorku (NK) do duplicitních jamek.

5. Použijte 10 μl NEŘEDĚNÉHO testovaného vzorku (individuálního nebo směsného) na jamku.

6. Smíchejte obsah jamek jemným poklepáváním nebo použijte třepačku.

7. Zakryjte destičku a inkubujte 60 minut (±5 min.) při +37°C (± 3°C) nebo 14 - 18 hodin při 18–26°C. Při obou z těchto možností by měly být destičky těsně uzavřeny nebo inkubovány ve vlhké komoře s kryty, aby se zabránilo vypařování.

8. Odstraňte roztok a každou jamku třikrát promyjte 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. Přidejte 100 μl konjugátu do každé jamky.

10. Zakryjte destičku a inkubujte 60 minut (±5 min.) při +37°C (± 3°C). Destičky by měly být těsně uzavřeny nebo inkubovány ve vlhké komoře s kryty, aby se zabránilo vypařování.

11. Opakujte krok č. 8.

12. Přidejte 100 μl TMB substrátu č. 12 do každé jamky.

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

14. Přidejte 100 μl zastavovacího roztoku č. 3 do každé jamky.

15. Odečtěte výsledky při vlnové délce 450 nm.

Poznámka: Zajistěte vyhodnocení destiček do dvou hodin od přidání zastavovacího roztoku.

16. **Výpočty:**

**Kontrolní vzorky**

NK~~x~~ = NK1 A(450) + NK2 A(450) PK~~x~~ = PK1 A(450) + PK2 A(450)
 2 2

**Kritéria validity**

NKx ≤ 0,500 PKx ≤ 2,000 PKx – NKx ≥ 0,300

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

**Vzorky**

S/P % = 100 x A(450) vzorku – NK~~x~~

 PK~~x~~ – NK~~x~~

17. **Intepretace**

**Individuální vzorky**

Negativní: S/P % < 30

Suspektní: 30 ≤ S/P % < 40

Pozitivní: S/P % ≥ 40

Pokud zůstává vzorek suspektní (podezřelý) i po opakování testu, měl by být od tohoto zvířete získán a vyhodnocen nový vzorek. Pokud je i nový vzorek podezřelý, měla by být zvážena epidemiologická (epizootologická) situace.

Směsné vzorky (až do 10 jedinců)

Negativní: S/P % < 20

Pozitivní: S/P % ≥ 20

Pokud směsný vzorek vykazuje pozitivní výsledek, měly by být vzorky použité k přípravě směsného vzorku otestovány individuálně.

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

**Potřebujete-li technickou podporu:**

IDEXX USA Tel: +1 800 548 9997 or +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 zapsané ochranné známky

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

©2015 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved. (Všechna práva vyhrazena.)

**Varování**

 **H318 / P280 / P305+P351+P338 / P310**

**Ředicí roztok**

Způsobuje vážné poškození očí. Používejte ochranné brýle / obličejový štít.

V PŘÍPADĚ ZASAŽENÍ OČÍ: Důkladně vyplachujte vodou po několik minut. Odstraňte kontaktní čočky, pokud jsou používány a pokud to lze snadno. Pokračujte ve vyplachování. Okamžitě kontaktujte toxikologické centrum nebo lékaře.

**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/P363**

**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.

Kontaminované oblečení před opětovným použitím vyperte.

**Popis symbolů:**

|  |  |
| --- | --- |
|  | Číslo šarže  |
|  | Sériové číslo  |
|  | Katalogové číslo  |
|  | Diagnostika *in vitro*  |
|  | Autorizovaný zástupce v Evropském společenství  |
|  | Pozitivní kontrola  |
|  | Negativní kontrola  |
|  | Použijte do |
|  | Datum výroby  |
|  | Výrobce  |
|  | Teplotní limity  |
|  | Viz návod k použití  |
|  | Důležitá změna v pokynech pro uživatele  |

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