Sada k testování protilátek proti organismům Salmonella u prasat

IDEXX **Swine *Salmonella*** ******

06-44100-06

IDEXX **Swine *Salmonella***

Česká verze

Sada k testování protilátek proti organismům Salmonella u prasat

**Název a způsob použití**

Pouze pro veterinární účely.

IDEXX Swine *Salmonella* je enzymový imunologický test společnosti IDEXX k detekci protilátek proti organismům *Salmonella sp*. v séru, plazmě a masové šťávě prasat.

**Obecné informace**

Test IDEXX Swine *Salmonella* umožňuje rychlý screening přítomnosti protilátek proti širokému spektru séroskupin Salmonella, které poukazují na vystavení chovu prasat patogenním bakteriím.1 Monitoring imunitního stavu chovu může být důležitým nástrojem regulace onemocnění.

**Popis a zásady testování**

96jamkové mikrotitrační destičky jsou potaženy antigenem LPS (séroskupiny B, C1 a D). Specifické protilátky proti organismům Salmonella vytváří při inkubaci testovaného vzorku v jamkách destiček komplex s antigenem, jímž jsou jamky potaženy. Po vymytí nenavázaného materiálu z destičky je přidán konjugát, který se váže s protilátkami prasat přichycenými na antigen v jamkách. Nenavázaný konjugát je odstraněn promytím a přidá se enzymový substrát. Intenzita výsledného zabarvení je přímo úměrná množství protilátek (proti organismům Salmonella), které se vyskytují v testovaném vzorku.

**Činidla**  **Objem**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | Destička potažená antigenem Salmonella | 5 | 30 |
| 2 | Pozitivní kontrola | 1 x 4,0 ml | 1 x 12 ml |
| 3 | Negativní kontrola | 1 x 4,0 ml | 1 x 12 ml |
| 4 | Konjugát | 1 x 60 ml | 1 x 350 ml |
| 5 | Ředidlo vzorků | 1 x 150 ml | 2 x 450 ml |
| A | TMB substrát | 1 x 60 ml | 1 x 400 ml |
| B | Roztok k zastavení reakce (Stop solution) | 1 x 60 ml | 1 x 400 ml |
| C | Promývací koncentrát (10X) | 1 x 250 ml | 3 x 480 ml |
| **Další součásti:** Uzavíratelný sáček | 1 | – |

**Poznámka:** V tabulce na konci tohoto dokumentu je uveden popis symbolů používaných v příbalové informaci a na etiketě této testovací sady.

**Uchovávání**

Činidla uchovávejte při teplotách 2-8 °C. Pokud jsou činidla správně uchovávána, jsou stabilní až do vypršení data exspirace.

**Nezbytné pomůcky a nástroje, které nejsou součástí sady**

* Přesné mikropipety nebo mikropipety pro hromadné dávkování
* Jednorázové špičky pipet
* Odměrný válec pro přípravu promývacího roztoku
* Čtečka 96jamkových mikrotitračních destiček (vybavená 650 nm filtrem)
* Promývačka mikrotitračních destiček (ruční, poloautomatický nebo automatický systém)
* Při přípravě činidel pro testování používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu
* Kryty mikrotitračních destiček (víko, hliníková nebo adhezivní fólie) a/nebo vlhká komora
* Vortex nebo srovnatelné míchací zařízení

**Bezpečnostní opatření a varování**

* S každým biologickým materiálem manipulujte tak, jako by byl infekční.
* Při práci se vzorky a činidly používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle a obličejový štít.
* Další informace jsou uvedeny v materiálovém bezpečnostním listu.
* Varování a upozornění týkající se činidel jsou uvedena na konci této příbalové informace.

**Laboratorní postupy**

* Optimálních výsledků dosáhnete díky striktnímu dodržování tohoto protokolu. K zajištění maximální přesnosti během celého postupu je nutné pečlivé pipetování, dodržování časových intervalů a promývání. Pro každý vzorek a kontrolu používejte novou špičku pipety.
* TMB roztok nevystavujte silnému světlu nebo oxidačním činidlům. Při práci s TMB roztokem používejte skleněné nebo plastové vybavení.
* Všechny odpadní materiály je nutné před likvidací řádně dekontaminovat. Jednotlivé materiály likvidujte v souladu s místními, regionálními nebo národními předpisy.
* Je třeba také dbát na to, aby nedošlo ke kontaminaci součástí sady. Použitá činidla nenalévejte zpět do nádobek.
* Sadu nepoužívejte po vypršení data exspirace.

**Přípravy promývacího roztoku**

Promývací koncentrát (10X) musí mít před použitím teplotu 18-26 °C a je třeba jej promíchat, aby se rozpustily všechny vysrážené soli. Promývací koncentrát musí být před použitím naředěn destilovanou/deionizovanou vodou v poměru 1:10 (příklad: na 1 testovanou destičku 30 ml koncentrátu + 270 ml vody). Pokud je roztok připravován ve sterilních podmínkách, je možné jej při teplotě 2-8 °C uchovávat jeden týden.

**Příprava vzorků**

**Vzorky séra a plazmy**

Vzorky séra a plazmy před testováním nařeďte dvacetinásobně (1:20) ředidlem vzorků (příklad: 15 µl vzorku nařeďte 285 µl ředidla vzorků). Pro každý vzorek je nutné použít novou špičku pipety. Před přenesením na potaženou destičku musí být naředěné vzorky řádně promíchány.

**Vzorky masové šťávy**

Vzorky masové šťávy nařeďte dvojnásobně (1:2) stejným množstvím ředidla vzorku. Pro každý vzorek je nutné použít novou špičku pipety. Naředěný vzorek promíchejte. Masovou šťávu lze získat zmražením/rozmražením přibližně 10gramového kousku svaloviny a odebráním exsudátu.

**Poznámky: KONTROLNÍ ROZTOKY NEŘEĎTE.**

**Postup testování**

Všechna činidla musí mít před použitím teplotu 18-26 °C. Činidla promíchejte pomalým obracením nádobky nebo jejím kroužením.

1. Vyjměte potaženou destičku (nebo potažené destičky) a zaznamenejte pozici vzorku. Pokud používáte dělitelné destičky, vyjměte pouze tolik jamek, kolik vzorků budete testovat. Zbývající jamky umístěte společně s vysoušecím činidlem do uzavíratelného sáčku, který je součástí sady, a vložte opět do chladničky (2-8 °C).
2. Přeneste 100 µl **NE**ŘEDĚNÉ negativní kontroly (NC) do duplicitních jamek.
3. Přeneste 100 µl **NE**ŘEDĚNÉ pozitivní kontroly (PC) do duplicitních jamek.
4. Přeneste 100 µl **NA**ŘEDĚNÝCH vzorků do příslušných jamek.
5. Inkubujte po dobu 30 minut (±2 min) při teplotě 18-26 °C nebo "přes noc" (12-18 h) při teplotě 2-8 °C. Pokud zvolíte postup inkubace přes noc, destičky musí být těsně uzavřeny nebo inkubovány ve vlhké komoře s kryty destiček s cílem zabránit vypařování.
6. Roztok odstraňte a každou jamku 3-5x promyjte přibližně 300 µl promývacího roztoku. Destičky nesmí mezi jednotlivými promýváními oschnout, dokud není přidáno další činidlo. Po posledním promytí každou destičku jemně přitiskněte na savý materiál, aby se osušily zbytky promývacího roztoku.
7. Do každé jamky přeneste 100 µl konjugátu.
8. Inkubujte po dobu 30 minut (± 2 min) při teplotě 18-26 °C.
9. Opakujte krok 6.
10. Do každé jamky přeneste 100 µl TMB substrátu.
11. Inkubujte při teplotě 18-26 °C po dobu 15 minut (±1 min) bez přístupu přímého světla.
12. Do každé jamky přeneste 100 µl roztoku k zastavení reakce (Stop Solution).
13. Změřte a zaznamenejte hodnoty absorbance při 650 nm [A(650].
14. Výpočty:

**Kontroly**



**Kritéria validity**



 (Krátký protokol) (Protokol "přes noc")

Při neplatných testech může být na vině postup testování. Ještě jednou si pečlivě prostudujte tuto příbalovou informaci a test zopakujte podle pokynů zde uvedených.

**Vzorky**



Standardizovaná pozitivní kontrola reprezentuje významnou hladinu protilátek proti organismům Salmonella.

Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti organismům Salmonella ve vzorku vyplývá z poměru hodnoty A(650) vzorku a průměru pozitivní kontroly (poměr S/P). V řadě zemí a/nebo laboratořích se výsledky počítají jako OD%, což odkazuje k souboru standardních sér definovanému podle systému "Danish Mix-ELISA". Pro získání výsledku srovnatelného s výsledky odečtenými podle škály OD% byl experimentálně stanoven korelační faktor (2,5). Základem výpočtu tohoto faktoru jsou německé a nizozemské referenční vzorky a tzv. Dutch Ring Test.2 Hodnotu S/P tímto faktorem dělíme a získáme přibližnou hodnotu “OD%”.

1. Interpretace:

**Sérum, plazma nebo masová šťáva: krátký protokol**

Negativní Pozitivní

OD% < 10 (S/P < 0,25) OD% ≥ 10 (S/P ≥ 0,25)

**Sérum, plazma nebo masová šťáva: protokol "přes noc"**

Negativní Pozitivní

OD% < 15 (S/P < 0,375) OD% ≥ 15 (S/P ≥ 0,375)

Použití v praxi: Programy regulace organismů Salmonella mohou pracovat s jinými faktory než jsou vědecké mezní hodnoty (cut-off). Může se jednat např. o hladinu protilátek a/nebo prevalenci pozitivních zvířat. Pro velkokapacitní screening je za všeobecně přijatelnou považována mezní hodnota 40% (S/P = 1,00), i když v některých zemích byl tento limit snížen na 20% (S/P = 0,50), který umožňuje striktnější screening.3 Škálu uvedenou níže proto považujte za volitelnou – je možné ji přizpůsobit místním pokynům a předpisům. Použité mezní hodnoty pro terénní screening (pro oba protokoly):

* Vzorky s “OD%”, která je rovna nebo vyšší než 20% (S/P = 0,50), jsou pozitivní (striktnější screening); nebo
* Vzorky s “OD%”, která je rovna nebo než vyšší 40% (S/P = 1,00), jsou pozitivní (obecný screening).

**Poznámka:** Společnost IDEXX nabízí nástroje a softwarové systémy, které provádí kalkulaci výsledků a vytvářejí souhrnné přehledy dat.

**Odkazy**



**Odbornou pomoc získáte zde:**

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

IDEXX Europe Tel.: +800 727 43399

Obraťte se na oblastního manažera nebo distributora IDEXX nebo navštivte naši webovou stránku idexx.com/contactlpd

IDEXX a Test With Confidence jsou známky nebo registrované známky společnosti IDEXX Laboratories, Inc. nebo jejích přidružených společnosti v USA a/nebo dalších zemích

© 2019 IDEXX Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena.

**VAROVÁNÍ**

H317 / P280 / P302+P352 / P333+P313

**Konjugát / Promývací koncentrát (10X)** − 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 příbalovou informaci

 Větší změna v příbalové informaci

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive

Westbrook, Maine 04092

USA

*Výrobce*

IDEXX Switzerland AG

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

 idexx.com

Číslo schválení: 098-16/C