**Testovací souprava k prokázání protilátek proti *Ornithobacterium rhinotracheale***

Pouze k veterinárnímu užití

**Název a zamýšlené užití**

IDEXX ORT je enzymatický imunotest určený k detekci protilátek proti *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) v séru slepic a krůt.

**Obecné informace**

Ornithobacterium rhinotracheale se po celém světě spojuje s respiračním onemocněním, zvýšenou mortalitou, zpomalením růstu a sníženou snůškou vajec u ptáků. Infekci ORT mohou spustit virové nebo bakteriální infekce, např. IBV, TRT a NDV. Posouzení imunitního statusu a sérologická identifikace ORT vyžadují stanovení protilátek proti ORT v séru. Enzymatické imunotesty mají osvědčenou účinnost v kvantifikaci hladiny protilátek proti ORT a usnadňují monitoring imunitního statusu velkých hejn. IDEXX ORT zachycuje sérologickou odpověď na ORT sérotypy A-M.

**Popis a principy**

Bakteriální antigen je nanesen na mikrodestičkách s 96 jamkami. Při inkubaci testovaného vzorku v potažených jamkách vytvoří ORT specifické protilátky komplex s naneseným bakteriálním antigenem. Po vymytí nenavázaného materiálu z jamek se přidá konjugát, který se naváže na jakékoli slepičí nebo krůtí protilátky zachycené v jamkách. Nenavázaný konjugát se vymyje a přidá se enzymový substrát. Následný rozvoj zbarvení přímo souvisí s obsahem protilátek proti ORT v testovaném vzorku.

**Činidla** **Objem**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destička potažená ORT antigenem | 5 |
| 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 informace.

**Uchovávání**

Činidla uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Činidla jsou za předpokladu řádného skladování stabilní do data exspirace.

**Potřebné materiály, které nejsou součástí sady**

* Přesné pipety nebo multikanálové pipety
* Jednorázové pipetovací špičky
* Čtečka mikrodestiček s 96 jamkami (vybavená filtrem s vlnovou délkou 650 nm)
* Mycí zařízení na mikrodestičku (manuální, poloautomatický nebo automatický systém)
* Pro přípravu činidel používaných při testu používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu
* Vortex nebo ekvivalentní třepačka
* Zkumavky pro 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 / ochranné brýle nebo obličejový štít.
* Další informace najdete v bezpečnostních listech materiálu.
* 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.
* TMB roztok nevystavujte silnému světlu nebo jakýmkoli oxidačním činidlům. Pro manipulaci s TMB roztokem 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**

Před zahájením testu zřeďte testované vzorky pětsetkrát (1:500) ředicím roztokem (např. 1 μL vzorku a 500 μL ředicího roztoku). **POZNÁMKA: KONTROLNÍ VZORKY NEŘEĎTE.**

**Postup testu**

Všechny činidla použité 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.

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. Do určených jamek dejte 100 μl ZŘEDĚNÉHO testovaného vzorku.

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

6. Odstraňte roztok a každou jamku 3-5x propláchněte asi 350 μl destilované nebo deionizované vody. Mezi vymýváním a před přidáním dalšího činidla nenechte destičku vyschnout. Pro odstranění zbylé tekutiny, po posledním vymytí destičkou, poklepejte na savý materiál.

7. Do každé jamky dejte 100 μl konjugátu.

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

9. Opakujte krok č. 6.

10. Do každé jamky přidejte 100 μl TMB substrátu.

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

12. Do každé jamky přidejte 100 μl zastavovacího roztoku.

13. Změřte a zaznamenejte hodnoty absorbance při 650 nm.

14. Výpočty:

**Kontrolní vzorky**

NKx = NK1 A(650) + NK2 A(650)

 2

PKx = PK1 A(650) + PK2 A(650)

 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 A(650) vzorku – NKx

 PKx – NKx

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

\* S/P při ředění koncového titru 1:500.

Pozitivní kontrolní vzorek je standardizovaný a reprezentuje významnou hladinu protilátek proti ORT v séru slepic a krůt. Relativní hladina protilátek ve vzorku je určena přepočítáním vzorku na pozitivní poměr S/P. Koncový titr se vypočítá použitím výše popsané rovnice.

15. Interpretace:

Negativní: S/P ≤ 0,40

Pozitivní: S/P > 0,40

Pozitivní výsledek (titr větší než 844) naznačuje vakcinaci nebo jiné vystavení viru ORT. Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní kritéria pro imunitu s ohledem na titr protilátek založený na korelaci kitu IDEXX ORT se současnými testovacími metodami a na dřívějších reakcích protilátek.
Imunitní status hejna lze nejlépe stanovit pomocí monitoringu a zaznamenávání titrů protilátek v reprezentativních vzorcích jako funkci času. Výsledné profily hejna umožňují stanovení distribuce titrů protilátek a analýzu jejich změn v čase.

Poznámka: Společnost IDEXX má k dispozici přístrojové a softwarové systémy, které vypočítávají výsledky a poskytují souhrny údajů.

Reference

1. P.C.M van Empel & H.M. Hafez 1999. Ornithobacterium rhinotracheale, a Review. Avian Pathology, sv. 28 str. 217-227.

**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.

©2019 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved. (Veškerá práva vyhrazena.)

**VAROVÁNÍ**

 ****

**Pozitivní kontrola / Negativní kontrola / Konjugát / Roztok k ředění vzorků**

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 návod na použití

****  Větší změna v návodu na 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*

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko

idexx.com