**IDEXX IBR gE Ab** česká verze

**Testovací sada k prokázání protilátek proti viru infekční bovinní rinotracheitidy (BHV-1)**

**Pouze k veterinárnímu užití.**

**Název a zamýšlené užití**

Idexx IBR gE je enzymatický imunologický test sloužící k detekci protilátek proti gE antigenu bovinního herpesviru typu 1 (BHV-1) v individuálních vzorcích bovinního séra a plasmy a v individuálních, hromadných a koncentrovaných hromadných vzorcích mléka. Přítomnost protilátek proti gE indikuje vystavení terénním kmenům BHV-1 a/nebo vakcínám obsahujícím antigen gE. Test je určen pro využití při managementu a programech kontroly a vymýcení bovinního herpesviru BHV-1. Používá-li se současně s vakcínami neobsahujícími gE, lze ho využít jako efektivní rozlišovací test pro odlišení přirozeně infikovaných zvířat od vakcinovaných.

**Obecné informace**Tradiční prostředky na ochranu dobytka před účinky infekcí BHV-1 zahrnují podávání konvenčních vakcín. Standardní sérologické procedury užívané ke stanovení expozice BHV-1 po vakcinaci mají pouze omezenou výpovědní hodnotu, neboť nedokážou rozlišovat mezi přirozeně infikovanými a vakcinovanými zvířaty. Byly však vyvinuty vakcíny, které umožňují jasné sérologické rozlišení1. Tyto vakcíny neobsahují virový protein gE. gE je virový glykoprotein nepodstatný pro ochranu před infekcí, ale přítomný u všech známých virulentních terénních kmenů BHV-1. Jelikož test IDEXX IBR gE specificky detekuje protilátky proti gE, nereaguje na protilátky zvířat vakcinovaných gE negativními vakcínami, identifikuje však zvířata, která byla přirozeně infikována nebo vakcinována konvenčními vakcínami. Ještě před očkováním gE-negativní vakcínou by měl být imunitní status zvířete ověřen použitím testu IDEXX IBRgB Ab nebo IDEXX IBR pro celkové protilátky. Po vakcinaci by měla být zvířata pravidelně testována na přirozenou infekci kmeny IBR testem IDEXX IBR gE.

**Popis a principy**

Sada IDEXX IBR gE obsahuje mikrotitrační destičky potažené antigenem BHV-1. Během první inkubace protilátky proti IBR v testovaném vzorku, včetně těch proti gE, reagují s antigenem naneseným na plastu. Po promývacím kroku se do mikrojamky přidá anti-BHV-1-gE konjugát monoklonální protilátky, který během druhé inkubace soutěží o virový antigen gE. Pokud nejsou ve vzorku přítomny žádné vlastní protilátky proti gE, konjugované gE protilátky mohou volně reagovat s antigenem gE. Naopak, pokud jsou ve vzorku přítomny vlastní protilátky proti gE, monoklonální protilátky konjugované s enzymem nemohou reagovat s antigenem. Po tomto inkubačním období se nezreagovaný konjugát vymyje a přidá se roztok substrátu/chromogenu. V přítomnosti enzymu je substrát konvertován na produkt, který reaguje s chromoforem za vzniku modrého zbarvení. Absorbance při vlnové délce 650 nm se měří pomocí spektrofotometru. Výsledky se vypočítají dělením A(650) vzorku průměrem A(650) negativní kontroly, výsledkem je hodnota S/N. Množství protilátek proti gE je nepřímo úměrné A(650) a tedy i hodnotě S/N. Přítomnost anti-gE BHV-1 protilátek indikuje dřívější vystavení terénnímu viru BHV-1 nebo aplikaci konvenční gE-pozitivní vakcíny s modifikovaným živým nebo usmrceným virem. Přítomnost BHV-1 protilátek detekovaných sadou IDEXX IBRgB Ab nebo IDEXX IBR na celkové protilátky s absencí protilátek proti antigenu gE stanovenou testem IDEXX IBR gE, indikuje odpověď na vakcínu neobsahující gE v

poměru k množství protilátek proti IBV přítomným v testovaném vzorku.

 Činidla Objem

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | Destička potažená antigenem BHV-1 | 5 | 30 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek  | 1 x 5,0 ml | 1 x 6,5 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek  | 1 x 5,0 ml | 1 x 6,5 ml |
| 4 | Konjugát  | 1 x 60 ml | 1 x 350 ml |
| 5 | Roztok k ředění vzorků  | 1 x 140 ml | 1 x 480 ml |
| A | TMB substrát | 1 x 60 ml | 1 x 400 ml |
| B | Zastavovací roztok | 1 x 60 ml | 1 x 400 ml |
| C | Mycí koncentrát (10X) | 1 x 235 ml | 3 x 480 ml |
|  | **Další součásti sady:** Sáček se zipovým uzávěrem | 1 | 0 |

**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
* Odměrný válec na mycí roztok
* 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 pouze používejte destilovanou nebo deionizovanou vodu
* Vortex nebo ekvivalentní třepačka
* Zkumavky na ředění vzorků

**Bezpečnostní opatření a upozornění pro uživatele**

* Se všemi biologickými materiály zacházejte jako s potenciálně infekčními. Antigen, který je součástí této sady, nemusí být zcela inaktivovaný.
* Při manipulaci se vzorky a činidly používejte ochranné rukavice / ochranný oděv/ ochranné brýle nebo obličejový štít.
* Další informace naleznete v materiálových bezpečnostních listech.
* Upozornění a bezpečnostní opatření pro použití činidel najdete na konci této příbalové informace.

**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.
* 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 a nezaměňujte součásti ze souprav s různými sériovými čísly.

**Příprava mycího 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.

**Typy vzorků a jejich inkubace**

**A. Vzorky séra a plasmy**

Vzorky séra a kontroly zřeďte dvakrát (1:2) ředicím roztokem. Příklad: 75 μl ředicího roztoku a 75 μl vzorku nebo kontroly, promíchejte a přeneste 100 μl na destičku. Alternativně můžete být ředění provedeno přímo na destičce (50 μl ředícího roztoku vzorků a 50 μl vzorku nebo kontroly, jemně promíchat). Vzorky séra testujte přes noc (18-24 hodin) při teplotě 18–26°C s destičkami těsně uzavřenými pro zamezení vypařování.

**B. Individuální a hromadné (cisternové) vzorky mléka**

Vzorky testujte neředěné přes noc (12-18 hodin) při teplotě 18–26°C s destičkami těsně uzavřenými pro zamezení vypařování.

**POZNÁMKA: Před testováním je důležité oddělit od mléka smetanu. Jakýkoli zbytek smetany v jamkách může negativně ovlivnit výsledky testu. Pozitivní a negativní kontrolní vzorky se testují neředěné.**

**C. Hromadné cisternové vzorky - koncentrované**

Zkoncentrujte hromadné vzorky mléka2 a rekonstituujte peletu v 0,5 ml mycího roztoku. Peletu nechte zcela rozpustit. Koncentrované vzorky mléka testujte po dobu dvou hodin (± 5 minut) při teplotě 18–26°C. U stád s více než 50 zvířaty by měly být odebrány dva vzorky.
**POZNÁMKA: Před testováním je důležité oddělit od mléka smetanu. Jakýkoli zbytek smetany v jamkách může negativně ovlivnit výsledky testu. Pozitivní a negativní kontrolní vzorky se testují neředěné.**

**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. Používáte-li pouze část destičky, oddělte pouze tolik jamek, kolik potřebujete pro testované vzorky. Zbývající jamky uložte spolu s desikantem do uzavíratelného sáčku ze sady a vraťte do chladna (2–8°C).

2. Dejte negativní kontrolní vzorek (NK) do jamek A1 a A2 (celkem 100 μl) podle pokynů v části A, B a C.

3. Dejte pozitivní kontrolní vzorek (PK) do jamek A3 a A4 (celkem 100 μl) podle pokynů v části A, B a C.

4. Dejte 100 μl testovaného vzorku do příslušných jamek.

5. Inkubujte vzorky dle pokynů v části A, B a C.

6. Odstraňte roztok a každou jamku 5x promyjte přibližně 300 µl mycího roztoku. Destička nesmí mezi umýváním a před přidáním dalšího činidla vyschnout. Po posledním vymytí odstraňte zbývající mycí tekutinu z každé destičky poklepáváním na savý materiál.

7. Přidejte 100 μl konjugátu do každé jamky.

8. Inkubujte 30 minut (± 2 minuty) při 18–26°C.

9. Opakujte krok č. 6.

10. Přidejte 100 μl TMB substrátu do každé jamky.

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

12. Přidejte 100 μl zastavovacího roztoku do každé jamky.

13. Odečtěte a zaznamenejte výsledky při vlnové délce 650 nm, A (650).

14. **Výpočty:**

**Kontrolní vzorky**

NKx = A1 A(650) + A2 A(650) PKx = A3 A(650) + A4 A(650)
 2 2

**Kritéria validity**

NKx – PKx > ≥ 0,300

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

**Vzorky**

S/N = A(650) vzorku

 NKx

Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti antigenu gE se určuje výpočtem hodnoty S/N pro jednotlivé vzorky.

**15. Interpretace:**

**A. Sérum a plazma**

Negativní: S/N > 0,70

Suspektní: 0,70 ≥ S/N > 0,60

Pozitivní: S/N ≤ 0,60

**B. Vzorky mléka**

Negativní: S/N > 0,80

Pozitivní: S/N ≤ 0,80

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

**Bibliografie**

1. van Oirschot, J.T., et al.: A conventionally attenuated glycoprotein E-negative strain of Bovine Herpes Virus Type-1 is an efficacious and safe vaccine. Vaccine 1994; 12 (5): pp 439-444.

2. Forschner, E., Bunger, I., Nachweis von IBR/IPV, Leukose, und Brucellose antikorpern in Bestandsmilchproben mit ELISA nach einer einfachen Konzentrierungsmethode. Dtsch. tierartztl. Wochenschr. 93, 112-115, 1986.

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](http://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. Veškerá práva vyhrazena.

**VAROVÁNÍ**



**Pozitivní kontrolní vzorek / Negativní kontrolní vzorek / Konjugát / Mycí roztok (10x)** – Může vyvolat alergickou kožní reakci. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Zamezte vdechování mlhy/par. Používejte ochranné rukavice. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.



**Roztok k ředění vzorků** - Může vyvolat alergickou kožní reakci. Způsobuje vážné podráždění očí. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Zamezte vdechování mlhy/par. Používejte ochranné rukavice, ochranné brýle a obličejový štít. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. 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 Švýcarsko GmbH

Stationsstrasse 12

CH-3097 Liebefeld-Bern

Švýcarsko

*Zástupce pro EU*

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko