IDEXX **ALV-J Ab**

Testovací souprava k detekci protilátek
proti viru aviární leukózy, podskupina J

Název a způsob použití

Pouze pro veterinární účely.

IDEXX ALV-J Ab je testovací souprava společnosti IDEXX založená na principu enzymového imunotestu pro detekci protilátek proti viru aviární leukózy, podskupina J, v kuřecím séru.

Obecné informace

ALV-J je aviární retrovirus, který byl poprvé izolován u kuřat masného typu na konci osmdesátých let dvacátého století. Označení unikátní podskupiny tohoto viru je částečně motivováno přítomností obalového glykoproteinu (gp85).1 Z klinického hlediska ALV-J vyvolává zejména myeloidní leukózu s proměnlivým výskytem nádorů napříč liniemi kuřat.1,2 Stejně jako jiné viry aviární leukózy se i ALV-J přenáší vertikálně (vrozená infekce vaječného bílku a embrya kuřete) i horizontálně (těsným kontaktem infikovaných kuřat).2,3

Popis a zásady testování

Testovací souprava IDEXX ALV-J Ab detekuje protilátky vytvořené po horizontálním přenosu viru ALV-J. Tento test byl upraven pro mikrotitrační formát, který je založen na potažení destiček s 96 jamkami antigenem ALV-J gp85. Specifické protilátky proti ALV-J gp85 vytváří při inkubaci testovaného vzorku v jamkách destiček komplex s antigenem, jímž jsou jamky potaženy. Poté následuje vymytí přebytečného materiálu z jamek a přidá se konjugát (kozí) proti-kuřecí imunoglobulin: křenová peroxidáza (HRPO), který se váže na jakoukoliv navázanou kuřecí protilátku v jamce. V poslední fázi testu se nenavázaný konjugát vymyje a do jamek se přidá enzymový substrát, peroxid vodíku a chromogen. Následná barevná změna přímo souvisí s množstvím protilátek proti ALV-J přítomných v testovaném vzorku.

**Reagencie** **Objem**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destička potažená antigenem ALV-J gp85 | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrola – ředěné anti-ALV-J sérum konzervované azidem sodným | 1 x 1,9 ml |
| 3 | Negativní kontrola – ředěné kuřecí sérum nereaktivní na ALV-J, konzervované azidem sodným | 1 x 1,9 ml |
| 4 | Konjugát – (kozí) proti-kuřecí:HRPO konjugát, konzervovaný gentamicinem a Proclinem | 1 x 50 ml |
| 5 | Ředící roztok vzorku – konzervováno azidem sodným | 1 x 235 ml |
| A | TMB substrát | 1 x 60 ml |
| B | Zastavovací roztok | 1 x 60 ml |
| C | Promývací koncentrát (10X) konzervovaný gentamicinem | 1 x 235 ml |

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

Uchovávání

Reagencie uchovávejte při teplotě 2 – 8 °C. Pokud jsou reagencie správně uchovávány, jsou stabilní až do vypršení data exspirace.

Nezbytné pomůcky a nástroje, které nejsou součástí sady

* Přesné mikropipety nebo mikropipety pro hromadné dávkování
* Jednorázové hroty pipet
* Odměrný válec pro přípravu promývacího roztoku
* Čtečka 96jamkových mikrotitračních destiček (vybavená 650 nm filtrem)
* Promývačka mikrotitračních destiček (manuální, poloautomatická nebo automatická)
* Při přípravě činidel pro testování používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu
* Vortex nebo srovnatelné míchací zařízení

Bezpečnostní opatření a varování

* S veškerým biologickým materiálem nakládejte jako s potenciálně infekčním.
* Při manipulaci s vzorky a reagencii používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí nebo obličeje.
* Další informace naleznete v bezpečnostních údajích o produktu na konci tohoto příbalového letáku.
* Varování a upozornění týkající se reagencií jsou uvedena na konci této příbalové informace.

Laboratorní postupy

* Optimálního výsledku dosáhnete přesným dodržením tohoto postupu. Pro zachování konzistentnosti výsledků a přesnosti měření je nutné zajistit pečlivé pipetování, správné načasování a promývání v průběhu pracovního postupu. Pro každý vzorek a kontrolu použijte samostatný hrot pipety.
* TMB roztok nevystavujte silnému světlu nebo oxidačním činidlům. Na TMB roztok používejte čisté skleněné nebo plastové vybavení.
* Všechny odpady by měly být před likvidací řádně dekontaminovány. S odpadem je třeba nakládat v souladu s místními, regionálními nebo státními nařízeními.
* Je třeba zabránit možné kontaminaci součástí soupravy. Nespotřebované reagencie nenalévejte zpět do nádobek.
* Nepoužívejte soupravu po datu exspirace.

Příprava promývacího roztoku

Promývací koncentrát (10X) musí mít před použitím 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).

Příprava vzorků

Testované vzorky se před analýzou naředí ředícím roztokem v poměru 1:500 (např. 1 μl vzorku se naředí 500 μl ředícího roztoku vzorku). **POZNÁMKA: KONTROLNÍ ROZTOKY SE NEŘEDÍ.** Pro každý vzorek použijte nový hrot pipety. Vzorky musí být před nanesením do potažené mikrotitrační destičky řádně promíseny.

Postup testování

Všechny reagencie musí mít před použitím teplotu 18 – 26 °C. Reagencie promíchejte pomalým otočením dnem vzhůru nebo kroužením.

|  |  |
| --- | --- |
| **1** | Vyjměte destičku (nebo destičky) potažené antigenem a označte umístění vzorku. |
| **2** | Přeneste 100 µl NEŘEDĚNÉ negativní kontroly (NC) do dvou jamek současně. |
| **3** | Přeneste 100 µl NEŘEDĚNÉ pozitivní kontroly (PC) do dvou jamek současně. |
| **4** | Přeneste 100 µl NAŘEDĚNÉHO vzorku do příslušných jamek. Vzorek může být také testován ve dvou jamkách, ale i jedna jamka je dostatečná. |
| **5** | Inkubujte po dobu 30 minut (± 2 minuty) při teplotě 18 – 26 °C. |
| **6** | Odstraňte roztok a každou jamku 3 – 5x promyjte přibližně 350 µl promývacího roztoku. Destička nesmí před promýváním, během promývání a před aplikací dalších reagencií vyschnout. Přebytečnou tekutinu po posledním propláchnutí odstraňte poklepáním destičky na savý materiál. |
| **7** | Do každé jamky přeneste 100 µl konjugátu. |  |
| **8** | Inkubujte po dobu 30 minut (± 2 minuty) při teplotě 18 – 26 °C. |
| **9** | Opakujte krok 6. |  |
| **10** | Do každé jamky přeneste 100 µl TMB substrátu. |
| **11** | Inkubujte po dobu 15 minut (± 1 minuta) při teplotě 18 – 26 °C. |
| **12** | Do každé jamky přeneste 100 µl zastavovacího roztoku. |
| **13** | Změřte a zaznamenejte hodnoty absorbance při 650 nm, A(650). |
| **14** | Výpočty: |  |
|  | **Kontroly** |  |
|  | NCx = NC1 A(650) + NC2 A(650)2 | PCx = PC1 A(650) + PC2 A(650)2 |
|  |  |  |
|  | **Kritéria validity** |  |
|  |  |
|  | V případě chybného výsledku testu se může jednat o použití nesprávné techniky a test by se měl opakovat po důkladném přezkoumání příbalové informace. |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **Vzorky** |  |
|  | S/P = Výběrový průměr vzorku –NC$\overline{x}$PC$\overline{x}$ – NC$\overline{x}$ |  |
| Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti ALV-J se určí tak, že se porovná hodnota A (650) neznámého vzorku s průměrem pozitivní kontroly. Pozitivní kontrola je standardizována a reprezentuje významnou hladinu protilátek proti ALV-J v kuřecím séru. Relativní hladinu protilátek ve vzorku získáme výpočtem poměru vzorku vůči pozitivní kontrole (sample to positive (S/P) ratio). |
| **15** | Interpretace: |  |
|  | Negativní | Pozitivní |
|  | S/P ≤ 0,60 | S/P > 0,60 |
|  | * Testovací souprava pro detekci protilátek proti ALV-J byla vyvinuta jako nástroj screeningu v hejnech za účelem sledování horizontálního přenosu viru. ALV-J status jednotlivých ptáků není možné hodnotit.
* Sérokonverze ALV-J je napříč liniemi proměnlivá a může záviset na endogenní expresi viru leukózy.4 Testování kuřat masného typu mladších 12 – 14 týdnů se nedoporučuje.
* Pozitivní výsledek testovací soupravy pro detekci protilátek proti ALV-J poukazuje na vystavení ptáků působení viru ALV-J. Titr protilátek nevypovídá nic o tom, zda je virus aktivně vylučován. Při určování ALV-J statutu hejna by mělo být provedeno testování na přítomnost tohoto viru.
* Výsledkem vertikálního přenosu ALV-J je séronegativní imunitně tolerantní potomstvo.

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

Literatura



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

Číslo veterinární licence v USA: 313

Kód produktu: 5007.02

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

© 2016 IDEXX Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena.

VAROVÁNÍ

|  |
| --- |
| H316/P332+P313/EUH208 |
| **Konjugát**− Vyvolává mírné podráždění kůže. V případě podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření. Obsahuje Proclin. Může způsobit alergickou reakci. |

|  |
| --- |
| H315/H319/P280/P332+P313/P337+P313 |
| **TMB substrát** – Dráždí kůži. Způsobuje vážné podráždění očí. Používejte ochranné rukavice / ochranu očí / ochranu obličeje. V případě podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření. Pokud podráždění očí přetrvává: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření. |

**Popis symbolů**

Číslo šarže

Sériové číslo

Katalogové číslo

Diagnostika in vitro



|  |
| --- |
| Autorizovaný zástupce v Evropském společenství |
|  |
| CONTROL + Pozitivní kontrola |
|  |
|  |
| CONTROL - Negativní kontrola |
|  |
|  Použijte do |
| Datum výroby |
| Výrobce |
| Teplotní limity |
| Viz návod k použití |
| Důležitá změna v pokynech pro uživatele |
|  |

*Výrobce*

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive

Westbrook, Maine 04092

USA

*Zástupce pro EU*

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko

idexx.com

