**Testovací sada na průkaz protilátek proti viru reprodukčního a respiračního syndromu prasat**

Pouze k veterinárnímu užití.

**Název a zamýšlené užití**

HERDCHEK PRRS X3 je enzymatický imunologický test určený k detekci protilátek proti viru reprodukčního a respiračního syndromu prasat (PRRSV) ve vzorcích séra a plazmy prasat.

**Obecné informace**

Virus reprodukčního a respiračního syndrom prasat (PRRSV) je arterivirus zaznamenaný poprvé v Evropě a USA koncem 80. let jako jednotlivé kmeny s různou antigenicitou.1 Virus způsobuje reprodukční problémy (potraty, slabá selata, neschopnost slehnout a úmrtí prasnic), respirační onemocnění (pneumonie, dušnost, nedostatečné prospívání a smrt) a mírné neurologické příznaky. PRRSV se pokládá za jednu z hospodářsky nejzávažnějších nemocí zasahujících chov prasat. Určení vystavení PRRSV jakožto výsledku přirozené infekce nebo vakcinace usnadňuje měření protilátek v séru nebo plazmě. Je přitom důležité, aby imunodiagnostický test zvolený k detekci protilátek byl citlivý vůči různým kmenům viru.
Tato sada je určena pouze pro in-vitro diagnostiku.

**Popis a principy**

Mikrotitrační formát byl vytvořen nanesením rekombinantních antigenů PRRSV na mikrotitrační destičku. Během inkubace testovaného vzorku v potažené jamce vytváří specifické protilátky proti PRRSV komplex s nanesenými antigeny. Po vymytí nenavázaného materiálu z jamek se přidá anti-porcinní konjugát s křenovou peroxidázou, který se naváže na jakékoli porcinní protilátky navázané v jamkách. Nenavázaný konjugát se vymyje a do jamek se přidá TMB substrát. Intenzita zbarvení odpovídá množství navázaných specifických protilátek proti PRRSV přítomných ve vzorku.

Reagencie Objem

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | Destičky potažené antigenem PRRSV | 2 | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek  | 1 x 3,0 ml | 1 x 4,0 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek  | 1 x 3,0 ml | 1 x 4,0 ml |
| 4 | Konjugát  | 1 x 25 ml | 1 x 60 ml |
| 5 | Ředicí roztok | 1 x 50 ml | 1 x 120 ml |
| A | TMB substrát  | 1 x 20 ml | 1 x 60 ml |
| B | Zastavovací roztok | 1 x 20 ml | 1 x 60 ml |
| C | Mycí koncentrát (10x) | 1 x 125 ml | 1 x 235 ml |
| Další součásti sady: Sáček se zipovým uzávěrem | 1 | 1 |

Poznámka: Popis symbolů použitých v návodu a popiscích této soupravy naleznete na konci letáku.

**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 pipety nebo multikanálové pipety
* Jednorázové pipetovací špičky
* Odměrný válec pro přípravu mycího roztoku
* Čtečka mikrodestiček s 96 jamkami (vybavená filtrem s vlnovou délkou 650 nm)
* Mycí zařízení na mikrodestičky (manuální, poloautomatický nebo automatický systém)
* Pro přípravu reagencií používaných při testu používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu
* Vortex nebo ekvivalentní zařízení
* Kryty na mikrodestičky (víčka, hliníková nebo přilnavá fólie)
* Zkumavky na ředění vzorků

**Bezpečnostní opatření a upozornění pro uživatele**

* Se všemi biologickými materiály zacházejte jako s potenciálně infekčními.
* Při manipulaci se vzorky a reagenciemi používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí nebo obličeje.
* Další informace najdete v materiálových bezpečnostních listech.
* Upozornění a bezpečnostní opatření pro použití reagencií najdete na konci tohoto letáku.

**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.
* 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 mycího roztoku**

Určete objem mycího roztoku potřebný k promývání mikrotitračních destiček. Mycí koncentrát (10x) zřeďte v poměru 1:10 destilovanou/deionizovanou vodou (1 díl koncentrátu na 9 dílů vody, např. 30 ml mycího koncentrátu (10x) + 270 ml destilované vody). Při přípravě ve sterilních podmínkách (sterilizovaná voda i nádoby) a uchovávání za teploty 2–8°C lze takto připravený roztok používat až sedm dní.

**Příprava vzorků**

Vzorky určené k testování zřeďte v poměru 1:40 ředicím roztokem (např. 5 μl vzorku na 195 μl ředicího roztoku.) **Poznámka: Kontrolní vzorky neřeďte.** U každého vzorku vyměňte pipetovací špičku a pozici jednotlivých vzorků na destičce zaznamenejte do pracovního listu. Před umístěním do jamky potažené PRRSV vzorky důkladně promíchejte.

**Postup testu**

Všechny reagencie použité v tomto testu musí mít teplotu 18–26°C. Reagencie se míchají jemným obracením nebo kroužením.

1. Připravte si antigenem potažené mikrodestičky a zaznamenejte umístění vzorků. Pokud používáte pouze část destičky, oddělte jen takový počet jamek, který odpovídá počtu testovaných vzorků. Zbývající jamky umístěte spolu s desikantem do přiloženého sáčku se zipovým uzávěrem a uložte zpět do teploty 2-8°C.

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. Dejte 100 μl ZŘEDĚNÉHO vzorku do určených jamek.

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

6. Odstraňte roztok a každou jamku 3-5x promyjte přibližně 300 µl mycího roztoku. Destička nesmí mezi umýváním a před přidáním příští reagencie vyschnout. Po posledním promytí odstraňte zbývající mycí tekutinu z každé destičky poklepáním na savý materiál.

7. Přidejte 100 μl konjugátu do každé jamky.

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

9. Opakujte krok č. 6.

10. Přidejte 100 μl TMB substrátu do každé jamky.

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

12. Přidejte 100 μl zastavovacího roztoku do každé jamky.

13. Změřte a zaznamenejte A (650) pro vzorky a kontroly.

**14. Výpočty**

**Kontrolní vzorky**

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

 2

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

 2

**Kritéria validity**

PKx – NKx ≥ 0,150 NKx ≤ 0,150

**Vzorky**

S/P = Vzorek A(650) – NKx
 PKx – NKx

Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti PRRSV se určuje výpočtem poměru vzorku k pozitivní kontrole (S/P).

**15. Interpretace:**

Negativní: S/P < 0,40
Pozitivní: S/P ≥ 0,40

Poznámka: Společnost IDEXX má k dispozici přístrojové a softwarové systémy pro výpočet výsledků a poskytování souhrnů dat.

**Reference**

1. J. Zimmerman and K.-J. Yoon, Editors, The PRRS Compendium (second ed.), National Pork Board, Des Moines, IA (2003)

**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. Všechna práva vyhrazena.

**Upozornění**

**H316 /P332+P313**

**Pozitivní kontrola/Negativní kontrola –** Způsobuje mírné podráždění pokožky. Dojde-li k podráždění pokožky: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

**EUH208**

**Konjugát –** Obsahuje Proclin. Může vyvolat alergickou reakci.

**H315/H319/P280/P332+P313/P337+P313**

**TMB substrát** **–** Způsobuje podráždění pokožky. Způsobuje závažné podráždění očí. Používejte ochranné rukavice/ochranné brýle/obličejový štít. Dojde-li k podráždění pokožky: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

**Popis symbolů:**

Číslo šarže

Sériové číslo

Katalogové číslo

Diagnostika in vitro

Autorizovaný obchodní zástupce pro Evropu

Pozitivní kontrola

Negativní kontrola

Datum spotřeby

Datum výroby

Výrobce

Teplotní omezení

Viz návod k použití

Zásadní změna v návodu k použití

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive

Westbrook, Maine 04092

USA

Výrobce

IDEXX Switzerland AG

Stationsstrasse 12

CH-3097 Liebefeld-Bern

Švýcarsko

Držitel rozhodnutí o schválení a zástupce pro EU

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko

Číslo schválení: 006-11/C