**Testovací souprava k prokázání protilátek proti bakterii Pasteurella multocida**(určeno k použití u kuřat)

Pouze pro veterinární užití

**Název a zamýšlené užití**

IDEXX PM je enzymatický imunotest od firmy IDEXX, sloužící k detekci protilátek proti bakterii Pasteurella multocida (Pm) v séru kuřat.

**Obecné informace**

Pro stanovení imunologického statusu a pro sérologickou identifikaci Pm je nezbytné stanovení protilátek proti Pm v séru. Enzymatické imunotesty se osvědčily jako efektivní nástroj ke kvantifikaci hladiny protilátek proti Pm a usnadnění monitoringu imunologického statusu ve velkých hejnech.

**Popis a principy**

Tento test je určen ke stanovení relativní hladiny protilátek proti Pm v séru kuřat. Antigen je nanesen na 96 -jamkových destičkách. Během inkubace testovaného vzorku v potažené jamce vytvoří protilátka specifická pro Pm komplex s naneseným antigenem. Po vymytí přebytečného materiálu z jamek je přidán konjugát, který se naváže na protilátky z kuřecího séra v jamkách. Nenavázaný konjugát je vymyt a přidává se enzymový substrát. Stupeň následně vznikajícího zbarvení je v přímém poměru k množství protilátek proti Pm přítomným v testovaném vzorku.

Činidla Objem

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destička potažená antigenem Pm | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek - zředěné kuřecí anti-Pm sérum, konzervováno azidem sodným | 1 x 1,9 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek - zředěné kuřecí sérum nereaktivní na Pm; konzervováno azidem sodným  | 1 x 1,9 ml |
| 4 | Konjugát — (Kozí) anti-kuřecí: HRPO konjugát; konzervováno gentamycinem a ProClinem 150 | 1 x 50 ml |
| 5 | Roztok k ředění vzorků — pufr, konzervováno azidem sodným | 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 soupravy**

* Přesné pipety nebo multikanálové pipety
* Jednorázové pipetovací špičky
* Mikrodestička 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

**Bezpečnostní opatření a upozornění pro uživatele**

* Se všemi biologickými materiály zacházejte jako s potenciálně infekčními. Antigeny obsažené v činidlech této sady nemusí být zcela inaktivovány.
* Při manipulaci se vzorky a činidly používejte ochranné rukavice / ochranné oblečení / ochranné prostředky na oči nebo obličej.
* Další informace najdete 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 vzorků**

Testovací vzorky před zahájením testu zřeďte pětsetkrát (1:500) přiloženým ředicím roztokem (např. 1 μL vzorku na 500 μL ředicího roztoku).
POZNÁMKA: NEŘEĎTE KONTROLNÍ VZORKY.
Ujistěte se, že pro každý vzorek používáte čistou pipetovací špičku. Vzorky musí být před rozdělením do jamek potažené destičky důkladně promíchány.

**Postup testu**

Všechna činidla použitá 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. Dejte 100 μl ŘEDĚNÉHO testovaného vzorku do určené jamky. Vzorky lze testovat v duplikátech, ale jen jedna jamka je také přijatelná.

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

6. Odstraňte roztok a každou jamku 3-5x promyjte přibližně 350 µl destilované nebo deionizované vody. Destička nesmí mezi umýváním a před přidáním příštího 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 = NK1 A(650) + NK2 A(650) PKx= PK1 A(650) + PK2 A(650)
 2 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 vzorku – NKx Log10 Titr = 1.09 (log10 S/P) + 3.36\*

 PKx– NKx

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

Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti Pm je určena porovnáním hodnoty absorbance A (650) vzorku s průměrem pozitivního kontrolního vzorku. Pozitivní kontrolní vzorek je standardizovaný a reprezentuje významnou hladinu protilátek proti Pm v kuřecím séru. Relativní hladina protilátek ve vzorku je určena přepočítáním vzorku na pozitivní poměr S/P. Koncový titr se vypočítá použitím výše popsané rovnice.

15. **Intepretace**

Negativní: S/P ≤ 0,20

Pozitivní: S/P > 0,20

Pozitivní výsledek (titr větší než 396) naznačuje vakcinaci nebo jiné vystavení Pm. Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní kritéria pro imunitu s ohledem na titr protilátek založený na korelaci kitu IDEXX Pm se současnými testovacími metodami a na dřívějších reakcích protilátek. Imunologický status hejna lze nejlépe určit pomocí monitoringu a zaznamenávání titrů protilátek v reprezentativních vzorcích v závislosti na čase. Vzniklé profily hejn umožňují stanovení distribuce titrů protilátek a analýzu změn titrů během času.

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

**Pro technickou podporu:**

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)

VLN/PCN: 313/5130.00

\*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.

©2021 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved. (Všechna práva vyhrazena.)

**VAROVÁNÍ**

 **H315 / H316/ H319**

**Konjugát**

Způsobuje mírné podráždění pokožky. Pokud se vyskytne podráždění pokožky: Poraďte se s lékařem / obraťte se na lékaře. Obsahuje Kathon. Může vyvolat alergickou reakci.

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

**TMB Substrát**
Způsobuje podráždění pokožky. Způsobuje vážné podráždění očí. Používejte ochranné rukavice / ochranné brýle / obličejový štít. Pokud se vyskytne podráždění pokožky: Poraďte se s lékařem / obraťte se na lékaře. Pokud přetrvává podráždění očí: Poraďte se s lékařem / obraťte se na lékaře.

**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

*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