**Testovací souprava k prokázání protilátek proti Mycoplasma Hyopmeumoniae**

Pouze pro veterinární užití

**Název a zamýšlené užití**

IDEXX *M. hyo* je enzymatický imunologický test od firmy IDEXX, sloužící k detekci protilátek proti
*Mycoplasma Hyopneumoniae (M. hyo)* v prasečím séru a plazmě.

**Obecné informace**

Enzootická pneumonie, zvaná též mykoplazmová pneumonie prasat (MPS) je chronické onemocnění s vysokou morbiditou a nízkou mortalitou způsobené bakterií *M. hyo*. Mezi klinické příznaky patří chronický neproduktivní kašel, zpomalení růstu, pomalý nástup a šíření a opakovaný výskyt nemoci.1 Stanovení protilátek proti *M. hyo* testem ELISA umožňuje rychlý screening na přítomnost protilátek, která může být indikátorem kontaktu s infekčním agens. Montoring imunitního stavu stáda (v souvislosti s *M. hyo*) může sehrát významnou roli v kontrole této nemoci.

**Popis a principy**

Tento test slouží ke stanovení relativní hladiny protilátek proti *M. hyo* v prasečím séru a plazmě. Antigen je nanesen na destičkách s 96 jamkami. Během inkubace testovaného vzorku v potažené jamce vytvoří specifické protilátky proti *M. hyo* komplex s naneseným antigenem. Po vymytí nenavázaného materiálu z jamek se přidá konjugát, který se naváže na zachycené porcinní protilátky v jamkách. Nenavázaný konjugát se vymyje a přidá se enzymový substrát. Následný rozvoj zabarvení přímo odpovídá množství protilátek proti *M. hyo* ve vzorku.

**Činidla**  **Objem**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destička potažená antigenem *M. hyo* | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek – ředěné prasečí anti-*M.hyo* sérum; konzervováno azidem sodným | 1 x 4,0 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek – ředěné prasečí sérum nereaktivní na M. hyo; konzervováno azidem sodným | 1 x 4,0 ml |
| 4 | Konjugát – anti-prasečí:HRPO konjugát; konzervováno gentamycinem a Proclinem™ 150 | 1 x 60 ml |
| 5 | Roztok pro ředění vzorků – pufr, konzervováno azidem sodným | 1 x 235 ml |
| A | TMB substrát | 1 x 60 ml |
| B | Zastavovací roztok | 1 x 60 ml |
| C | Mycí koncentrát (10X) – fosfátový pufr, konzervováno gentamycinem | 1 x 235 ml |
| Další komponenty: sáček se zipovým uzávěrem | 1 |

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 se stupnicí pro přípravu mycího roztoku
* 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 obdobné zařízení

**Bezpečnostní opatření a upozornění pro uživatele**

* Se všemi biologickými materiály zacházejte jako s potenciálně infekčními. Antigeny použité v jednotlivých látkách této testovací sady nemusí být kompletně inaktivovány.
* Při manipulaci se vzorky a činidly používejte ochranné rukavice / ochranné oblečení /ochranu očí nebo obličeje.
* 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 vybavení.
* Veškeré 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 Mycího roztoku**

Mycí koncentrát (10X) zahřejte na 18–26°C a promíchejte, aby se rozpustily sražené soli. Mycí koncentrát (10X) musí být před použitím zředěn destilovanou nebo deionizovanou vodou v poměru 1/10 (např. 30 ml mycího koncentrátu (10X) a 270 ml vody na každou testovanou destičku).

**Příprava vzorků**

Vzorky před testováním zřeďte čtyřicetkrát (1/40) přiloženým ředicím roztokem (např. 10 μL vzorku a 390 μL testovacího roztoku).
**POZNÁMKA: NEŘEĎTE KONTROLNÍ VZORKY.**
Pro každý vzorek použijte novou pipetovací špičku. Vzorky musí být před rozdělením do jamek na potahované destičce důkladně promíchány.

**Postup testu**

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

1. Připravte si potažené destičky a zaznamenejte umístění vzorku. Používáte-li pouze část destičky,

oddělte množství jamek odpovídající počtu testovaných vzorků. Zbylé jamky uložte spolu s desikantem do přiloženého sáčku se zipovým uzávěrem a vraťte do chladna (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 po dobu 30 minut (±2 minuty) při 18 – 26 °C.

6. Odstraňte roztok a každou jamku 3 - 5x propláchněte asi 350 μl mycího roztoku. Mezi vymýváním a před přidáním dalšího činidla nenechte destičku vyschnout. Pro odstranění zbylého mycího roztoku, 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 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 18–26°C.

12. Do každé jamky přidejte 100 μl zastavovacího roztoku.

13. Změřte a zaznamenejte absorbanci vzorků a kontrolních vzorků při 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 ≥ 0,150
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 titru = 1,09 (log10 S/P) + 3,36\*
 PKx - NKx

\* Vztahuje S/P při ředění 1/40 ke koncovému bodu titrace

Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti *M. hyo* je určena vztažením hodnoty A(650) neznámého vzorku k průměru pozitivního kontrolního vzorku. Pozitivní kontrolní vzorek je standardizovaný a reprezentuje významnou hladinu protilátek proti *M. hyo* v prasečím séru a plazmě. Relativní hladina protilátek ve vzorku je určena přepočtem vzorku na kladný poměr V/P. Koncové body titrace se vypočítají použitím výše uvedené rovnice.

15. Interpretace:

Negativní: S/P < 0,30

Suspektní: 0.30 ≤ S/P ≤ 0,40

Pozitivní: S/P > 0,40

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

Bibliografie

1. R.F. Ross. 1999. Mycoplasma. V: Diseases of Swine, 8. vydání. B.E. Straw, S. D’Allaire,

W.L. Mengeling, D.J. Taylor, Eds., ISU Press, Ames, IA, str. 455-509.

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)

VLN/PCN: 313/5075.00

IDEXX a Test With Confidence jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky firmy IDEXX Laboratories, Inc. nebo jejích dceřiných společností v USA a/nebo jiných zemích.

©2021 IDEXX Laboratories, Inc. Veškerá práva vyhrazena.

**VAROVÁNÍ**



**TMB Substrát** - Může vyvolat alergickou kožní reakci. Zamezte vdechování prachu / dýmu / plynu / mlhy / par / aerosolů. Používejte ochranné rukavice. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.



**Konjugát** - Může vyvolat alergickou kožní reakci. Škodlivý pro vodní organismy. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Zamezte vdechování prachu / dýmu / plynu / mlhy / par / aerosolů. Používejte ochranné rukavice. 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

*Výrobce*

IDEXX Laboratories, Inc.

IDEXX Drive 1

Westbrook, Maine 04092
USA

*Zástupce pro EU*

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334
Hoofddorp EK 2130

Nizozemsko

Idexx.com