**IDEXX** **REO** česká verze

**Testovací sada k prokázání protilátek proti aviárnímu reoviru**

Pouze pro veterinární užití.

**Název a zamýšlené užití**

IDEXX REO je enzymatický imunologický test firmy IDEXX, sloužící k detekci protilátek proti aviárnímu reoviru (REO) v séru slepic.

**Obecné informace**

Stanovení imunitního statusu i sérologická identifikace REO vyžaduje stanovení hladiny protilátek proti REO v séru. Enzymatické imunologické testy se při kvantifikaci hladin protilátek proti REO osvědčily jako účinné a usnadňují monitoring imunitního statusu ve velkých hejnech.

**Popis a principy**

Tento test je určen ke stanovení relativní hladiny protilátek proti REO v séru slepic. Antigen REO je nanesen na destičkách s 96 jamkami. Během inkubace testovaného vzorku v potažené jamce vytvoří specifická protilátka proti REO komplex s nanesenými virovými antigeny. Po vymytí nenavázaného materiálu z jamek se přidá konjugát, který se naváže na slepičí protilátky zachycené v jamkách. Nenavázaný konjugát se vymyje a přidá se enzymový substrát. Následný rozvoj zbarvení je přímo úměrný množství protilátky proti REO přítomné v testovaném vzorku.

 **Činidla** **Objem**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destička potažená antigenem REO | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek - zředěné kuřecí anti- REO sérum, konzervováno Proclinem 150 | 1 x 1,9 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek - zředěné kuřecí sérum nereaktivní na REO; konzervováno Proclinem 150 | 1 x 1,9 ml |
| 4 | Konjugát — (Kozí) anti-kuřecí: HRPO konjugát; konzervováno Proclinem 150 | 1 x 50 ml |
| 5 | Roztok k ředění vzorků —pufr, konzervováno Proclinem 150 | 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
* 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 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 / ochranný oděv / 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 procedury. 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.

**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.

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 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. Změřte 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 REO je určena porovnáním hodnoty absorbance A (650) vzorku s průměrem pozitivního kontrolního vzorku. Pozitivní kontrolní vzorek je standardizovaný a reprezentuje významnou hladinu protilátek proti REO v 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 REO. Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní kritéria pro imunitu s ohledem na titr protilátek založený na korelaci kitu IDEXX REO se současnými testovacími metodami a na dřívějších reakcích protilátek na specifické vakcíny a vakcinační protokoly. Imunitní 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 přístroje a softwarové systémy, které vypočítávají výsledky a poskytují souhrny údajů.

**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: 313/5008.00

\*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**

 ****

**Pozitivní kontrolní vzorek / Negativní kontrolní vzorek / Konjugát / Ředící roztok pro vzorky / TMB Substrát** – Může vyvolat alergickou kožní reakci. Používejte ochranné rukavice. PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody s mýdlem. 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.

One IDEXX Drive

Westbrook, Maine 04092

USA

*Zástupce pro EU*

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko