IDEXX **Paratuberculosis Screening** česká verze

**Testovací sada na průkaz protilátek proti *Mycobacterium paratuberculosis***

**Pouze k veterinárnímu užití**

**Název a zamýšlené užití**

IDEXX Paratuberculosis Screening je enzymatický imunologický test firmy IDEXX určený k detekci protilátek proti *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis* (MAP) v individuálních vzorcích kravského séra, plazmy a mléka, a v individuálních vzorcích séra a plazmy malých přežvýkavců.

**Obecné informace**

Paratuberkulóza, nebo též Johnova nemoc, je chronická enteritida přežvýkavců, jejímiž hlavními příznaky jsou hojný průjem a hubnutí. Infekce je způsobena acidorezistentní bakterií: *Mycobacterium paratuberculosis.* Zvířata se obvykle nakazí v prvním roce života pozřením potravy kontaminované výkaly jiných infikovaných zvířat. Jelikož inkubační doba může trvat mnoho měsíců až několik let, onemocnění se často klinicky manifestuje až poté, co zvíře dospěje. Neexistuje žádná účinná léčba a infikované zvíře na onemocnění nakonec umírá. Metoda popsaná v návodu této sady je velmi podobná metodě popsané v doporučení 5b/009 (Příručka doporučených diagnostických metod a nároků na biologické produkty, díl III – Paratuberkulóza 5b/009, Paříž: Světová organizace pro zdraví zvířat, 1989-91). Antigen nanesený na dně jamek je protoplazmatickým extraktem *Mycobacterium paratuberculosis*. Vzorky se nejprve inkubují s extraktem *Mycobacterium phlei* pro neutralizaci případné zkřížené reakce s atypickými mykobakteriemi.

**Popis a principy**

Mikrodestičky jsou potaženy antigenem MAP. Vzorky určené k testování se nejprve inkubují s extraktem *Mycobacterium phlei* pro navázání nespecifických protilátek. Pak jsou vzorky přeneseny do jamek potahované mikrodestičky, kde se inkubují. Během inkubace testovaných vzorků v jamkách vytvoří MAP-specifické protilátky imunokomplex protilátka-antigen. Po vymytí nenavázaného materiálu se přidá anti-ruminantní konjugát enzymu a protilátky, který se váže na imunokomplex antigen-protilátka. Nenavázaný konjugát se vymyje a přidá se enzymový substrát (TMB). V přítomnosti enzymu je substrát oxidován a vzniká modrá sloučenina, která po blokování zežloutne. Následný rozvoj zbarvení je přímo úměrný množství protilátek proti MAP přítomných ve vzorku. Výsledek se získá porovnáním optické hustoty vzorku s průměrem optické hustoty pozitivní kontroly.

Činidla Objem

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | Destičky potažené antigenem MAP | 5 | 10 | 30 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek  | 1 x 0,5 ml | 2 x 0,5 ml | 3 x 1,0 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek  | 1 x 0,5 ml | 1 x 0,5 ml | 3 x 1,0 ml |
| 4a | Koncentrovaný konjugát  | 1 x 0,75 ml | 1 x 1,5 ml | 3 x 1,5 ml |
| 4b | Ředicí pufr č. 1 | 1 x 120 ml | 1 x 120 ml | 3 x 120 ml |
| 5 | Ředicí pufr č. 12 | 1 x 100 ml | 2 x 100 ml | 5 x 100 ml |
| A | TMB substrát č. 9 | 1 x 60 ml | 1 x 120 ml | 3 x 120 ml |
| B | Zastavovací roztok č. 3 | 1 x 60 ml | 1 x 120 ml | 3 x 120 ml |
| C | Mycí koncentrát (20x) | 1 x 100 ml | 2 x 100 ml | 6 x 100 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
* Odměrný válec pro přípravu promývacího roztoku
* Čtečka mikrodestiček s 96 jamkami (vybavená filtrem s vlnovou délkou 450 nm)
* Mycí zařízení na mikrodestičky (manuální, poloautomatický nebo automatický systém)
* Pro přípravu činidel používaných při testu používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu
* Kryty na mikrodestičky (víčka, hliníková nebo přilnavá fólie)
* Centrifuga (přetížení 2000x g)
* Vortex nebo ekvivalentní zařízení
* Třepačka mikrodestiček
* Nepotahovaná mikrodestička pro preinkubaci

**Bezpečnostní opatření a upozornění pro uživatele**

* Se všemi biologickými materiály zacházejte jako s potenciálně infekčními.
* 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 naleznete na konci této příbalové informace.

**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 nepoužitá činidla zpět do nádob.
* Nepoužívejte soupravu po datu exspirace.

**Příprava činidel**

**Mycí roztok**

Koncentrát mycího roztoku (20x) musí být před užitím zředěn destilovanou/deionizovanou vodou v poměru 1:20 (např. 15 ml koncentrátu (20x) na 285 ml destilované vody). Tento roztok bude dále nazýván „mycí roztok“.

**Poznámka:** Koncentrát mycího roztoku (20x) by měl být zahřát na teplotu 18–26°C a dobře promíchán, aby se rozpustily veškeré sražené soli. Mycí roztok je při teplotě 2–8°C stabilní po dobu až 3 dnů.

**Konjugát**Koncentrovaný konjugát musí být zředěn:

- pro krátký protokol inkubace ředicím pufrem č. 1 v poměru 1:100

- pro protokol inkubace přes noc ředicím pufrem č. 1 v poměru 1:200

Poznámka: Zředěný roztok konjugátu je při teplotě 18–26°C stabilní po dobu až 8 hodin.

**Příprava vzorků**
Vzorky a kontrolní vzorky se předřeďují a předinkubují na nepotažené prediluční mikrotitrační destičce (viz Postup testu). Vzorky mléka: lze použít plnotučné i odtučněné mléko (získané centrifugací).

**Postup testu**

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

1. Připravte si antigenem potažené mikrodestičky a zaznamenejte umístění vzorků.

2. Na prediluční nepotahované mikrodestičce zřeďte a předinkubujte vzorky a kontrolní vzorky v přítomnosti *Mycobacterium phlei*:
- Negativní kontrolní vzorek (NK) zřeďte v poměru 1:20 ředicím pufrem č. 12 a umístěte do jedné jamky.

- Pozitivní kontrolní vzorek (PK) zřeďte v poměru 1:20 ředicím pufrem č. 12 a umístěte do dvou jamek.

- Vzorky séra/plazmy zřeďte v poměru 1:20 ředicím pufrem č. 12.

- Vzorky kravského mléka zřeďte v poměru 1:2 ředicím pufrem č. 12.

**Poznámka:** Testovat lze vzorky odtučněného i neodtučněného mléka.

3. Obsah jamek předředící destičky homogenizujte pomocí třepačky mikrodestiček.

4. Inkubujte po dobu 15 minut až 2 hodin při teplotě 18–26°C.

5. Z každé jamky přeneste 100 μl obsahu do příslušných jamek potahované mikrodestičky.

6. Homogenizujte obsah jamek pomocí třepačky mikrodestiček.

7. Mikrodestičky zakryjte a inkubujte po dobu 45 minut (±5 min.) při teplotě 18–26°C nebo přes noc (16–24 hodin) při teplotě 2–8°C.

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

**Poznámka:** Používáte-li odtučněné mléko nebo mléko odebrané pod vrstvou smetany, tento způsob mytí dostačuje. Při použití plnotučného mléka se doporučuje metodu promývání modifikovat zařazením 1 minuty odmočení na každý mycí cyklus. Tento postup usnadňuje eliminaci tukových částeček, které by v příštím kroku nespecificky fixovaly konjugát. Důkladné mytí je nezbytné pro dosažení optimálních výsledků.

9. Přidejte 100 μl konjugátu do každé jamky.

10. Zakryjte destičku a inkubujte po dobu 30 minut (±3 min.) při 18–26°C.

11. Odstraňte roztok a každou jamku 3x promyjte přibližně 300 µl mycího roztoku. Destička nesmí mezi umýváním a před přidáním příštího činidla vyschnout. Po posledním promytí odstraňte zbývající mycí tekutinu z každé destičky poklepáváním na savý materiál.

12. Přidejte do každé jamky 100 μl TMB substrátu č. 9.

13. Inkubujte 10 minut (±3 min.) při 18–26 °C mimo dosah přímého světla.

14. Přidejte do každé jamky 100 μl zastavovacího roztoku č. 3.

15. Změřte a zaznamenejte hodnoty optické hustoty vzorků a kontrol při vlnové délce 450 nm.

**Poznámka:** Při použití robotiky umožňuje inkubace mikrodestiček v inkubačních komůrkách pracovat bez krytů destiček. Využívání robotiky zároveň není kompatibilní s jemným poklepáváním nebo otíráním mikrotitračních destiček. Před odečítáním výsledků lze destičky uchovávat ve tmě až 1 hodinu.

16. Výpočty:

**Kontroly:**

PKx = PK1 A(450) + PK2 A(450)

 2

**Kritéria validity:**

PKx ≥ 0,350 PKx / NK A(450) ≥ 3,00

Při neplatnosti výsledků je třeba předpokládat chybu v technice provedení. Doporučuje se důkladně znovu prostudovat příbalovou informaci a test provést znovu.
Poznámka: Společnost IDEXX má přístrojové a softwarové systémy pro výpočet výsledků a poskytování souhrnů dat.

**Vzorky**

S/P % = 100 X A(450) vzorku – NK A(450)

 PKx – NK A(450)

17. Interpretace:

**Sérum a plazma:**

Negativní: S/P % ≤ 45 %

Suspektní: 45 % < S/P % < 55 %

Pozitivní: S/P % ≥ 55 %

**Kravské mléko(1):**

Negativní: S/P % ≤ 20 %

Suspektní: 20 % < S/P % < 30 %

Pozitivní: S/P % ≥ 30 %

Poznámka:(1)

Následující pravidla pro interpretaci se uplatňují při analýze vzorků kravského mléka v Německu:

* Vzorky s procentem S/P menším než nebo rovným 30 % se považují za negativní na přítomnost protilátek proti MAP
* Vzorky s procentem S/P vyšším než 30 % a menším než 40 % se pokládají za suspektní a musí být otestovány znovu.
* Vzorky s procentem S/P větším než nebo rovným 40 % se pokládají za pozitivní na přítomnost protilátek proti MAP.

**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.

©2022 IDEXX Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena.

**VAROVÁNÍ**

**Pozitivní kontrola/Negativní kontrola/Koncentrovaný konjugát –** Může vyvolat alergickou kožní reakci. Škodlivý pro vodní mikroorganismy, s dlouhodobými účinky. Zamezte vdechování mlhy/par. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

**Ředící pufr č. 12** **–** Způsobuje vážné podráždění očí. Používejte ochranné brýle/obličejový štít. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky,
jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

**Zastavovací roztok –** Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Může vyvolat alergickou kožní reakci. Způsobuje vážné poškození očí. Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosoly. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO /lékaře/. 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

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive

Westbrook, Maine 04092

USA

*Výrobce*

IDEXX Montpellier SAS

326 rue de la Galéra

34090 Montpellier

Francie

*Zástupce pro EU*

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko

idexx.com

IDEXX

IDEXX **Paratuberculosis Verification** česká verze

**Testovací sada na průkaz protilátek proti *Mycobacterium paratuberculosis***

**Pouze k veterinárnímu užití**

**Název a zamýšlené užití**

IDEXX Paratuberculosis Verification je enzymatický imunologický test firmy IDEXX určený k detekci protilátek proti *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis* (MAP) v individuálních vzorcích kravského séra, plazmy a mléka, a v individuálních vzorcích séra a plazmy malých přežvýkavců.

**Obecné informace**

Paratuberkulóza, nebo též Johnova nemoc, je chronická enteritida přežvýkavců, jejímiž hlavními příznaky jsou hojný průjem a hubnutí. Zvířata se obvykle nakazí v prvním roce života pozřením potravy kontaminované výkaly jiných infikovaných zvířat. Jelikož inkubační doba může trvat mnoho měsíců až několik let, onemocnění se často klinicky manifestuje až poté, co zvíře dospěje. Neexistuje žádná účinná léčba a infikované zvíře na onemocnění nakonec umírá. Metoda popsaná v návodu této sady je velmi podobná metodě popsané v doporučení 5b/009 (Příručka doporučených diagnostických metod a nároků na biologické produkty, díl III – Paratuberkulóza 5b/009, Paříž: Světová organizace pro zdraví zvířat, 1989-91). Antigen nanesený na dně jamek je protoplazmatickým extraktem *Mycobacterium paratuberculosis*. Vzorky se nejprve inkubují s extraktem *Mycobacterium phlei* pro neutralizaci případné zkřížené reakce s atypickými mykobakteriemi.

**Popis a principy**

Mikrodestičky jsou potaženy střídavě kontrolním antigenem (-Ag) a antigenem MAP (+Ag). Vzorky určené k testování se předinkubují s extraktem *Mycobacterium phlei* pro navázání nespecifických protilátek. Následně se vzorky přenesou do jamek potažených mikrodestiček, kde se inkubují. V průběhu inkubace testovaných vzorků se specifické protilátky proti MAP navážou na antigen v +Ag jamkách a vytváří na povrchu jamek imunokomplexy antigen-protilátka. Po vymytí nenavázaného materiálu se přidá anti-ruminantní konjugát enzymu a protilátky, který se naváže na imunokomplex antigenu a protilátky. Nenavázaný konjugát se vymyje a přidá se enzymový substrát (TMB). V přítomnosti enzymu je substrát oxidován a vzniká modrá sloučenina, která po blokování zežloutne. Následný rozvoj zbarvení je přímo úměrný množství protilátky proti MAP v testovaném vzorku. Netto extinkce (NE) reprezentuje množství navázaných specifických protilátek. NE se získá odečtením hodnoty optické hustoty vznikající v -Ag jamkách od hodnoty optické hustoty vznikající v +Ag jamkách, do nichž byl přidán stejný vzorek (kontrolní a testovaný). Výsledek se získá porovnáním NE vzorku s průměrem NE pozitivní kontroly.

Činidla Objem

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destičky potažené antigenem MAP | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek  | 1 x 0,5 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek  | 1 x 0,5 ml |
| 4a | Koncentrovaný konjugát  | 1 x 0,75 ml |
| 4b | Ředicí pufr č. 1 | 1 x 120 ml |
| 5 | Ředicí pufr č. 12 | 1 x 100 ml |
| A | TMB substrát č. 9 | 1 x 60 ml |
| B | Zastavovací roztok č. 3 | 1 x 60 ml |
| C | Mycí koncentrát (20x) | 1 x 100 ml |
| Další součásti sady: 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 pro přípravu promývacího roztoku
* Čtečka mikrodestiček s 96 jamkami (vybavená filtrem s vlnovou délkou 450 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 zařízení
* Kryty na mikrodestičky (víčka, hliníková nebo přilnavá fólie)
* Třepačka mikrodestiček
* Nepotahovaná mikrodestička pro preinkubaci
* Centrifuga (přetížení 2000x g)

**Bezpečnostní opatření a upozornění pro uživatele**

* Se všemi biologickými materiály zacházejte jako s potenciálně infekčními.
* 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 naleznete na konci této příbalové informace.

**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 nepoužitá činidla zpět do nádob.
* Nepoužívejte soupravu po datu exspirace.

**Příprava činidel**

**Mycí roztok**

Koncentrát mycího roztoku (20x) musí být před užitím zředěn destilovanou/deionizovanou vodou v poměru 1:20 (např. 15 ml koncentrátu (20x) na 285 ml destilované vody). Tento roztok bude dále nazýván „mycí roztok“.

Poznámka: Koncentrát mycího roztoku (20x) by měl být zahřát na teplotu 18–26°C a dobře promíchán, aby se rozpustily veškeré sražené soli. Mycí roztok je při teplotě 2–8°C stabilní po dobu až 3 dnů.

**Konjugát**

Koncentrovaný konjugát musí být zředěn:

- pro krátký protokol inkubace ředicím pufrem č. 1 v poměru 1:100

- pro protokol inkubace přes noc ředicím pufrem č. 1 v poměru 1:200

Poznámka: Zředěný roztok konjugátu je při teplotě 18–26°C stabilní po dobu až 8 hodin.

**Příprava vzorků**

Vzorky a kontrolní vzorky se předřeďují a předinkubují na nepotažené prediluční mikrotitrační destičce (viz Postup testu). Vzorky mléka: lze použít plnotučné i odtučněné mléko (získané centrifugací).

**Postup testu**

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

1. Připravte si antigenem potažené mikrodestičky a zaznamenejte umístění vzorků. Pokud používáte pouze část destiček, oddělte počet jamek odpovídající počtu testovaných vzorků a zbývající uložte společně s desikantem v sáčku se zipovým uzávěrem do chladna (2–8°C).

2. Na prediluční nepotahované mikrodestičce zřeďte a předinkubujte vzorky a kontrolní vzorky v přítomnosti *Mycobacterium phlei*:
- Negativní kontrolní vzorek (NK) zřeďte v poměru 1:20 ředicím pufrem č. 12 a umístěte do jedné jamky.

- Pozitivní kontrolní vzorek (PK) zřeďte v poměru 1:20 ředicím pufrem č. 12 a umístěte do dvou jamek.

- Vzorky séra/plazmy zřeďte v poměru 1:20 ředicím pufrem č. 12.

- Vzorky kravského mléka zřeďte v poměru 1:2 ředicím pufrem č. 12.

3. Obsah jamek předředící destičky homogenizujte pomocí třepačky mikrodestiček.

4. Inkubujte po dobu 15 minut až 2 hodin při teplotě 18–26°C.

5. Z každé jamky přeneste 100 μL obsahu do příslušných jamek potahované mikrodestičky:

- 100 μL předředěné negativní kontroly do jedné -Ag jamky (lichý sloupec) a jedné +Ag destičky (sudý sloupec).

- 100 μL předředěné pozitivní kontroly do dvou -Ag jamek (lichý sloupec) a dvou +Ag jamek (sudý sloupec).

- 100 μL předředěného testovaného vzorku (sérum, plazma nebo mléko) do jedné -Ag jamky (lichý sloupec) a jedné +Ag jamky (sudý sloupec).

6. Homogenizujte obsah jamek pomocí třepačky mikrodestiček.

7. Mikrodestičky zakryjte a inkubujte po dobu 45 minut (±5 min.) při teplotě 18–26°C nebo přes noc (16–24 hodin) při teplotě 2–8°C.

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

**Poznámka:** Používáte-li odtučněné mléko nebo mléko odebrané pod vrstvou smetany, tento způsob mytí dostačuje. Při použití plnotučného mléka se doporučuje metodu promývání modifikovat zařazením 1 minuty odmočení na každý mycí cyklus. Tento postup usnadňuje eliminaci tukových částeček, které by v příštím kroku nespecificky fixovaly konjugát. Důkladné mytí je nezbytné pro dosažení optimálních výsledků.

9. Přidejte do každé jamky 100 μl zředěného konjugátu.

10. Zakryjte destičku a inkubujte po dobu 30 minut (±3 min.) při 18–26°C.

11. Odstraňte roztok a každou jamku 3x promyjte přibližně 300 µl mycího roztoku. Destička nesmí mezi umýváním a před přidáním dalšího činidla vyschnout. Po posledním promytí odstraňte zbývající mycí tekutinu z každé destičky poklepáváním na savý materiál.

12. Přidejte do každé jamky 100 μl TMB substrátu č. 9.

13. Inkubujte 10 minut (±3 min.) při 18–26°C mimo dosah přímého světla.

14. Přidejte do každé jamky 100 μl zastavovacího roztoku č. 3.

15. Změřte a zaznamenejte hodnoty optické hustoty vzorků a kontrol při vlnové délce 450 nm.

**Poznámka:** Při použití robotiky umožňuje inkubace mikrodestiček v inkubačních komůrkách pracovat bez krytů destiček. Využívání robotiky zároveň není kompatibilní s jemným poklepáváním nebo otíráním mikrotitračních destiček. Před odečítáním výsledků lze destičky uchovávat ve tmě až 1 hodinu.

16. Výpočty:

Kontroly:

PKx = PK1+Ag A450 + PK2+Ag A450

 2

NENK = NK+Ag A450 – NK-Ag A450

NExPK = (PK1+Ag A450 – PK1-Ag A450) + (PK2+Ag A450 – PK2-Ag A450)

 2

Vypočítejte průměry pozitivní kontroly (PKx), netto extinkci průměru pozitivní kontroly (NExPC) a netto extinkci negativní kontroly (NENK).

Kritéria validity:

PKx ≥ 0,350 NExPK / NENK ≥ 3,50

Poznámka: je-li hodnota netto extinkce negativní kontroly (NENK) menší než nula, použijte její absolutní hodnotu. Pokud je rovna nule, použijte standardně hodnotu NEXNK = 0,001.

Při neplatnosti výsledků je třeba předpokládat chybu v technice provedení. Doporučuje se důkladně znovu prostudovat přiložený leták a test provést znovu.

**Vzorky**

NE = S+Ag A450 – S-Ag A450  S/P % = 100 x (NE / NExPC)

Vypočítejte hodnotu netto extinkce pro každý vzorek odečtením odpovídající hodnoty OD450 získané z kontrolní jamky (S–Ag A450) od hodnoty OD450 získané z potažené jamky (S+Ag A450).

**17. Interpretace:**

**Sérum a plazma:**

Negativní: S/P % ≤ 45

Suspektní: 45 < S/P % < 55

Pozitivní: S/P % ≥ 55

**Kravské mléko:**Negativní: S/P % ≤ 20

Suspektní: 20 < S/P % < 30

Pozitivní: S/P % ≥ 30

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

Poznámka: Oblast suspektních výsledků se nepoužívá v Austrálii.

- Sérum: vzorky se S/P ≤ 55 % se považují za negativní, vzorky se S/P > 55 % se považují za pozitivní.

- Mléko: vzorky se S/P ≤ 30 % se považují za negativní, vzorky se S/P > 30 % se považují za pozitivní.

**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.

©2020 IDEXX Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena.

**VAROVÁNÍ**

**Pozitivní kontrola/Negativní kontrola/Koncentrovaný konjugát –** Může vyvolat alergickou kožní reakci. Škodlivý pro vodní mikroorganismy, s dlouhodobými účinky. Zamezte vdechování mlhy/par. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.



**Ředící pufr č. 12 -** Škodlivý pro vodní mikroorganizmy, s dlouhodobými účinky.

****

**Zastavovací roztok –** Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Může vyvolat alergickou kožní reakci. Způsobuje vážné poškození očí. Škodlivý pro vodní mikroorganizmy, s dlouhodobými účinky. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. PŘI POŽITÍ: Vypláchněte ústa. NEVYVOLÁVEJTE zvracení. PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou. PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

**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

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive

Westbrook, Maine 04092

USA

*Výrobce*

IDEXX Montpellier SAS

326 rue de la Galéra

34090 Montpellier

Francie

*Zástupce pro EU*

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko

idexx.com

IDEXX