**IDEXX AE**

**Testovací souprava k prokázání protilátek proti viru aviární encefalomyelitidy**

**Pouze pro veterinární užití**

**Název a způsob použití**

IDEXX AE je enzymatický imunologický test firmy IDEXX určený k detekci protilátek proti viru aviární encefalomyelitidy (AE) v séru kura domácího.

**Obecné informace**

Určení imunitního statusu a také sérologická identifikace AE vyžaduje stanovení protilátek proti AE v séru. Enzymatické imunologické testy se při kvantifikaci hladin protilátek proti AE prokázaly jako účinné a usnadňují monitoring imunologických statusů velkých hejn.

**Popis a principy**

Tento test je určen ke stanovení relativní hladiny protilátek proti AE v séru kura domácího. Virový antigen je nanesen na mikrotitrační destičky o 96 jamkách. Během inkubace testovaného vzorku v potažené jamce vytváří specifické protilátky proti AE 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 protilátek proti AE přítomným v testovaném vzorku.

Činidla Objem

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destičky potažené antigenem AE | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrola – zředěné slepičí anti-AE sérum, konzervováno Proclinem 150 | 1 x 1,9 ml |
| 3 | Negativní kontrola – zředěné slepičí sérum nereagující na AE, konzervováno Proclinem 150 | 1 x 1,9 ml |
| 4 | Konjugát – (kozí) anti-kuřecí: HRPO konjugát, konzervováno Proclinem 150 | 1 x 50 ml |
| 5 | Ředicí roztok – 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 zařízení

**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 reagencii používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí nebo obličeje.
* Další informace najdete v bezpečnostních listech materiálu.
* 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 vzorků**

Před testováním zřeďte vzorky pětsetkrát (1:500) přiloženým ředicím roztokem (ředění např. 1 μl vzorku na 500 μl ředicího roztoku). **POZNÁMKA: KONTROLNÍ VZORKY NEŘEĎTE.** Pro každý vzorek použijte novou pipetovací špičku. Vzorky musí být před umístěním na potahovanou destičku důkladně promíseny.

**Postup testu**

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

1. Připravte si potažené mikrodestičky a zaznamenejte umístění vzorků.

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. Vzorky se doporučuje testovat v duplikátech, lze však testovat i v jedné jamce.

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

6. Odstraňte roztok a každou jamku 3-5x promyjte přibližně 350 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.

7. Přidejte do každé jamky 100 μl konjugátu.

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

9. Opakujte krok č. 6.

10. Přidejte do každé jamky 100 μl TMB substrátu.

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

12. Přidejte do každé jamky 100 μl zastavovacího roztoku.

13. Změřte a zaznamenejte hodnoty absorbance při 650 nm, A (650).

14. Výpočty

**Kontroly:**

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

 PKx – NKx

Log10 titru = 1,09 (log10 S/P) + 3,36\*

\* Vztahuje S/P při ředění 1:500 ke koncovému titru.

Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti AE je určena vztažením hodnoty A(650) vzorku k průměru pozitivní kontroly. Pozitivní kontrola je standardizovaná a reprezentuje významnou hladinu protilátek proti AE v séru slepic. Relativní hladina protilátek ve vzorku je určena výpočtem poměru vzorku k pozitivní kontrole (S/P). Koncové titry se vypočítají s využitím výše uvedené rovnice.

S/P je určen jako diagnostická odpověď k odlišení pozitivních od negativních vzorků séra. Konverzní vzorec může poskytnout hrubý údaj o titru protilátek ve vzorku. Pro přesné kvantitativní vyhodnocení proveďte titraci se sekvencí ředění. Vztah mezi imunitou a titrem S/P nebo titrem protilátek nebyl pro tento produkt stanoven.

15. Interpretace:

Negativní: S/P ≤ 0,20

Pozitivní: S/P > 0,20

Pozitivní výsledek (titr vyšší než 396) indikuje vakcinaci nebo jinou expozici AE. Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní kritéria imunity s ohledem na titry protilátek založené na korelaci IDEXX AE s aktuálními metodikami laboratorních testů a historickými protilátkovými odpověďmi na specifické vakcíny a vakcinační protokoly. Imunologický status hejna se nejlépe určuje pomocí monitoringu a zaznamenávání titrů protilátek v reprezentativních vzorcích jako funkce času. Výsledné profily hejn umožňují stanovení distribuce titrů protilátek a analýzu změn v průběhu času.

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

**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/Konjugát –** 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.



**Negativní kontrola/Ředící roztok -** Může vyvolat alergickou kožní reakci. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů. 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

idexx.com

IDEXX