**IDEXX BVDV Total Ab**

**Testovací souprava na průkaz protilátek proti viru bovinní virové diarey**

**Pouze k veterinárnímu užití.**

**Název a způsob použití**

IDEXX BVDV Total Ab je enzymatický imunotest firmy IDEXX určený pro detekci protilátek proti BVDV v individuálních vzorcích kravského séra, plazmy a mléka a hromadných vzorcích kravského mléka.

**Obecné informace**

Virus bovinní virové diarey (BVDV), virus hraniční choroby (BDV) a virus klasického moru prasat (CSFV) patří společně do rodu Pestivirus z čeledi Flaviviridae. BVDV je jedním z nejvýznamnějších patogenních virů napadajících hovězí dobytek a způsobuje významné ztráty mléčnému i masnému průmyslu po celém světě. Typické příznaky infekce BVDV jsou průjem a horečka následované poklesem produkce mléka. Imunosupresivní účinek BVDV může potencovat infekci jinými mikroorganismy. U infikovaných březích krav virus přestupuje přes placentu a způsobuje reprodukční ztráty z důvodu potratů, rození mrtvých telat nebo slabých telat, která brzy umírají. Některá z přeživších telat jsou vůči viru imunotolerantní a po celý život ho pak ve velkém množství vylučují. Tyto „přenašeče“ je pro přerušení cyklu infekcí ve stádě nutné identifikovat. Přenašečská zvířata často umírají na tzv. „slizniční chorobu“ během prvních dvou let života. V důsledku intrauterinní infekce BVDV často kontaminuje biologické produkty, jako jsou například vakcíny a léčivé přípravky. BDV způsobuje podobné příznaky u ovcí. CSFV je příčinou závažných ztrát v chovu prasat z důvodu vysoké patogenicity a schopnosti způsobovat masová úmrtí. Všechny tyto pestiviry se mohou nicméně vyskytovat i u skotu.

**Popis a principy**

IDEXX BVDV Total Ab je nepřímý enzymatický imunologický test určený k detekci protilátek proti BVDV (Ab) ve vzorcích kravského séra, plazmy a mléka. Formát mikrotitrace byl nakonfigurován pomocí imobilizující BVDV antigen na destičkách. Protilátky proti BVDV přítomné ve vzorku se navážou na antigen nanesený na destičkách. Po inkubaci testovaného vzorku v jamce destičky jsou zachycené protilátky proti BVDV detekovány anti-bovinním konjugátem s křenovou peroxidázou. V dalším kroku se nenavázaný konjugát vymyje a přidá se roztok substrátu/chromogenu. V přítomnosti enzymu je substrát konvertován na produkt, který reaguje s chromogenem za vzniku modrého zbarvení. Po přidání zastavovacího roztoku vzniká žluté zbarvení. Absorbance vzorku se měří pomocí spektrofotometru. Poměr vzorku k pozitivní kontrole se vypočítá z absorbance testovaného vzorku a pozitivní kontroly po korekci na absorbanci negativní kontroly. Rozvoj zbarvení indikuje přítomnost protilátek proti BVDV v testovaném vzorku (pozitivní výsledek).

Činidla Objem

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destičky potažené antigenem BVDV | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek  | 1 x 1,0 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek  | 1 x 1,0 ml |
| 4 | Konjugát  | 1 x 60 ml |
| 5 | Ředicí roztok | 1 x 60 ml |
| A | TMB substrát č. 12 | 1 x 60 ml |
| B | Zastavovací roztok č. 3 | 1 x 60 ml |
| C | Mycí koncentrát (10x) | 1 x 480 ml |
| Další součásti soupravy: 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 mycího roztoku
* Čtečka mikrodestiček s 96 jamkami (vybavená filtrem s vlnovou délkou 450 nm nebo filtry o vlnové délce 450 a 650 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

**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 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.
* 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 mycího roztoku**

Koncentrát mycího roztoku (10x) je nutno zahřát na teplotu 18–26°C a dobře promíchat, aby se rozpustily veškeré sražené soli. Koncentrát mycího roztoku musí být před užitím zředěn destilovanou/deionizovanou v poměru 1:10 (např. 30 ml koncentrátu na 270 ml vody pro každou testovanou destičku).

Mycí roztok připravený za sterilních podmínek lze při teplotě 2–8°C skladovat po dobu jednoho týdne.

**Příprava vzorků**

Testovat lze čerstvé nebo zmražené vzorky séra, plazmy nebo mléka. Vzorky plnotučného mléka se před testováním doporučuje 15 minut odstřeďovat na centrifuze při přetížení 2000x g nebo nechat přes noc odstát při teplotě 2–8°C. Vzorky odtučněného mléka není třeba předem upravovat.

**Postup testu**

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

**Vzorky séra nebo plazmy**

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. Do každé jamky dejte 100 μl ředicího roztoku.

3. Dejte 25 μl negativní kontroly (NK) do duplicitních jamek.

4. Dejte 25 μl pozitivní kontroly (PK) do duplicitních jamek.

5. Do zbývajících jamek dejte 25 μl testovaného vzorku. Pokračujte krokem 6.

**Vzorky mléka**

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 ředicího roztoku do jamek určených pro negativní a pozitivní kontrolní vzorek.
3. Dejte 25 μl negativní kontroly (NK) do duplicitních jamek.
4. Dejte 25 μl pozitivní kontroly (PK) do duplicitních jamek.
5. Do zbývajících jamek destičky dejte 100 μl NEŘEDĚNÝCH vzorků mléka (odebraného zpod tukové vrstvy). Pokračujte krokem 6.

**Společný postup pro vzorky séra, plazmy a mléka**

1. Obsah jamek mikrodestičky promíchejte jemným poklepáváním na destičku nebo pomocí třepačky mikrodestiček.
2. Inkubujte po dobu 90 minut (± 5 min.) při teplotě18–26°C nebo přes noc (12-18 hodin) při teplotě 2–8°C. Protokol inkubace přes noc se doporučuje pro hromadné vzorky mléka. V obou protokolech je třeba destičky hermeticky utěsnit nebo zakrýt a inkubovat ve vlhké komoře.
3. Odstraňte roztok a každou jamku 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.
4. Do každé jamky přidejte 100 μl konjugátu.
5. Inkubujte po dobu 30 minut (± 2 min.) při teplotě 18–26°C.
6. Opakujte krok č. 8.
7. Do každé jamky přidejte 100 μl roztoku TMB substrátu č. 12.
8. Inkubujte po dobu 10 minut (± 1 min.) při teplotě 18–26°C.
9. Do každé jamky přidejte 100 μl zastavovacího roztoku č. 3.
10. Změřte a zaznamenejte absorbanci vzorků a kontrol při vlnové délce 450 nm nebo duálních vlnových délkách 450 a 650 nm.
11. Výpočty:

Kontroly: NKx = NK1 A(450) + NK2 A(450) PKx = PK1 A(450) + PK2 A(450)
 2 2

Kritéria validity:

NKx ≤ 0,250 PKx – 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 = A(450) vzorku – NKx

 PKx – NKx

Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti BVDV v jednotlivých vzorcích určuje poměr S/P.

1. Interpretace:

**Vzorky séra, plazmy a individuální vzorky mléka:**

Negativní: S/P < 0,20

Suspektní: 0,20 ≤ S/P < 0,30

Pozitivní: S/P ≥ 0,30

**Hromadné vzorky mléka:**

Negativní: S/P < 0,20

Pozitivní: S/P ≥ 0,20

**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/Negativní kontrola/Konjugát/Ředící roztok –** Může vyvolat alergickou kožní reakci. 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.

****

**Promývací roztok** **–** Může vyvolat alergickou kožní reakci. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. Zamezte vdechování mlhy/par. Používejte ochranné rukavice. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

****

**Zastavovací roztok –** Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Může vyvolat alergickou kožní reakci. Způsobuje vážné poškození očí. Nevdechujte mlhu/páry. 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 Switzerland AG

Stationsstrasse 12

CH-3097 Liebefeld-Bern

Švýcarsko

*Zástupce pro EU*

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko

idexx.com

IDEXX