**IDEXX** **CAV**

**Testovací sada na průkaz protilátek proti viru infekční anémie kuřat**

**Pouze k veterinárnímu užití.**

**Název a způsob použití**

IDEXX CAV je enzymatický imunologický test firmy IDEXX určený k detekci protilátek proti viru infekční anémie kuřat (CAV) v séru kura domácího.

**Obecné informace**

Virus infekční anémie kuřat (CAV) je významným patogenem drůbeže, který byl zachycen u brojlerů, chovných kusů i v SPF hejnech. Izolace viru je obtížná a časově náročná. Screening na přítomnost protilátek indikuje expozici virem. K detekci protilátek proti CAV se využívá enzymová imunosorbční analýza (ELISA). Tato metoda je velmi přínosná při masovém testování hejn na expozici CAV. Test IDEXX CAV lze použít jako screeningový test na přítomnost viru infekční anémie kuřat nebo k posouzení reakce na vakcinaci.

**Popis a principy**

Test IDEXX CAV se provádí v jamce mikrotitrační destičky potažené antigenem viru infekční anémie kuřat. Během první inkubace reagují protilátky proti CAV přítomné ve vzorku s imobilizovanými antigeny. Po vymývacím kroku se do jamky přidá enzymatický konjugát s anti-CAV monoklonálními protilátkami. Nejsou-li v testovaném vzorku přítomny žádné protilátky proti CAV, anti-CAV konjugát může volně reagovat s CAV antigenem. Naopak jsou-li ve vzorku přítomny anti-CAV protilátky, enzymatický konjugát s monoklonálními protilátkami je pro reakci s antigenem blokován. Po tomto inkubačním kroku se nezreagovaný konjugát odstraní vymytím a přidá se roztok substrátu/chromogenu. V přítomnosti enzymu je substrát konvertován na produkt, který reaguje s chromoforem za vzniku modrého zbarvení. Absorbance při 650 nm, A(650) se měří pomocí spektrofotometru. Výsledky se vypočítají vydělením A(650) vzorku průměrem A(650) negativní kontroly – výsledkem je hodnota S/N. Množství protilátek proti CAV je nepřímo úměrné A(650) a tím i hodnotě S/N. Přítomnost protilátek proti CAV indikuje dřívější expozici virem infekční anémie kuřat.

Činidla Objem

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destičky potažené antigenem CAV | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrola – zředěné slepičí anti-CAV sérum, konzervováno Proclinem™150 | 1 x 2,0 ml |
| 3 | Negativní kontrola – zředěné slepičí sérum nereagující na CAV, konzervováno Proclinem™150 | 1 x 2,0 ml |
| 4 | Konjugát – anti-CAV: HRPO konjugát, konzervováno Proclinem™150 | 1 x 50 ml |
| 5 | Ředicí roztok – konzervováno Proclinem™150 | 1 x 235 ml |
| A | TMB substrát  | 1 x 60 ml |
| B | Zastavovací roztok | 1 x 60 ml |
| C | Koncentrát mycího roztoku (10X) | 1 x 235 ml |
| Další součásti: 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 na mycí roztok
* 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.
* Při manipulaci se vzorky a reagencii 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 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).

**Příprava vzorků**

**Poznámka:** Ředění vzorků séra se provádí v mikrozkumavkách nebo přímo na mikrotitrační destičce přidáním odpovídajícího množství séra k dříve pipetovanému ředicímu roztoku. Pro každý vzorek použijte novou pipetovací špičku. Před umístěním na potaženou destičku musí být vzorky důkladně promíseny. **KONTROLNÍ VZORKY NEŘEĎTE.**

1. **Přirozená expozice –** Pro detekci protilátek vzniklých v důsledku přirozené mikrobiální expozice virem infekční anémie kuřat. Vzorky séra před testováním desetkrát (1/10) zřeďte přiloženým ředicím roztokem (např. 10 μl vzorku na 90 μl ředicího roztoku).
2. **Vakcinace** – Pro detekci zvýšené hladiny protilátek (např. po vakcinaci CAV) zřeďte vzorky séra přiloženým ředicím roztokem 1/100 (např. 10 μl vzorku na 990 μl ředicího roztoku). Toto ředění umožní adekvátní rozlišení odpovědí u vzorků z vakcinovaného hejna. Odpověď na očkování závisí na dávce, způsobu podání, věku hejna atd.

**Postup testu**

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

1. Připravte si potažené mikrodestičky a zaznamenejte umístění vzorků. Pokud používáte pouze část destičky, oddělte jen takový počet jamek, který odpovídá počtu testovaných vzorků. Zbývající jamky umístěte spolu s desikantem do přiloženého sáčku se zipovým uzávěrem a uložte zpět do teploty
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. Vzorky se doporučuje testovat v duplikátech, lze však testovat i v jedné jamce.

5. Inkubujte po dobu 60 minut (± 5 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:**

NKx > 0,600 PKx/ NKx ≤ 0,50

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

**Vzorky**

S/N = A(650) vzorku

 NKx

Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti CAV je u jednotlivých vzorků určena poměrem vzorku k negativní kontrole (S/N).

15. Interpretace

**Ředění 1/10**

Negativní: S/N > 0,60

Pozitivní: S/N ≤ 0,60

**Ředění 1/100**

Imunologický status vakcinovaného 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](http://www.idexx.com/production/contactlpd)

VLN/PCN: 313/50C1.00

\*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.

©2022 IDEXX Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena.

**VAROVÁNÍ**



**Pozitivní kontrola/Negativní kontrola/Konjugát/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