IDEXX **PRRS OF**

Souprava k testování protilátek proti viru reprodukčního a respiračního syndromu prasat v orálních tekutinách

Návod k použití

Název a účel použití

Pouze pro veterinární účely. Veterinární přípravek.

Pouze pro zvířata.

IDEXX PRRS OF je enzymová imunoanalýza na průkaz protilátek proti viru reprodukčního a respiračního syndromu (PRRSV) ve vzorcích orální tekutiny prasat odebraných od jednotlivých zvířat nebo ve směsných vzorcích od prasat v celém kotci.

Obecné informace

Virus reprodukčního a respiračního syndromu prasat (PRRSV) je arterivirus, který byl poprvé zachycen v Evropě i v USA na konci osmdesátých let dvacátého století ve formě odlišných kmenů s proměnlivou antigenicitou.1 Virus vyvolává reprodukční potíže (aborty, slabá selata, nezabřezávání a úhyny prasnic), respirační onemocnění (pneumonie, potíže s dýcháním, snížení užitkovosti a úhyn) a mírné neurologické příznaky. PRRS je považován za jedno z ekonomicky nejvýznamnějších onemocnění v oblasti chovu prasat. Hodnocení expozice zvířat vůči PRRSV v důsledku přirozené infekce nebo vakcinace usnadňuje měření koncentrace protilátek v séru nebo plazmě. V posledních letech se průkaz protilátek ve vzorcích orální tekutiny stále častěji využívá jako nástroj monitoringu expozice prasat vůči PRRS.2,3 Orální tekutinu je možné odebírat individuálně, anebo hromadně od zvířat z celého kotce, přičemž ve druhém případě se jedná o směsný vzorek reprezentující většinu zvířat v daném kotci.4 Studie prokázaly, že protilátky proti viru PRRS je možné ve směsných vzorcích orální tekutiny z kotců prokazovat při různé prevalenci prasat pozitivních na protilátky.5 Je důležité, aby imunodiagnostický test přítomnosti protilátek byl citlivý vůči různým kmenům viru.

Popis a principy

IDEXX PRRS OF je enzymová imunoanalýza společnosti IDEXX k průkazu protilátek proti viru reprodukčního a respiračního syndromu prasat (PRRSV) ve vzorcích orální tekutiny prasat. Mikrotitrační destička je převrstvena rekombinantními antigeny PRRSV. Po inkubaci testovaného vzorku v převrstvené jamce vytváří protilátka specifická pro PRRSV komplex s převrstvenými antigeny. Po vymytí nenavázaného materiálu se do jamek přidá proti-prasečí, křenovo-peroxidázový konjugát, který se váže na protilátky prasat přítomné v jamkách. Nenavázaný konjugát se vymyje a do jamek se přidá substrát TMB. Proces změny zabarvení se poté zastaví pomocí kyselého stop roztoku a modrá barva se změní na žlutou. Intenzita výsledného zabarvení je úměrná množství navázaných protilátek specifických proti viru PRRS, které jsou přítomné ve vzorku.

**Činidla** **Množství**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Destička převrstvená antigenem PRRSV | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek | 1 x 4,0 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek | 1 x 4,0 ml |
| 4 | Konjugát | 1 x 60 ml |
| 5 | Ředidlo na vzorky | 1 x 120 ml |
| A | Substrát TMB č. 12 | 1 x 60 ml |
| B | Stop roztok č. 3 | 1 x 60 ml |
| C | Promývací koncentrát (10X) | 1 x 235 ml |
| **Další součásti:** Uzavíratelný ZIP sáček | 1 |

**Poznámka:** Popis mezinárodních symbolů použitých na etiketách soupravy je uveden v tabulce na konci příbalové informace.

Uchovávání

Činidla uchovávejte při teplotách 2 – 8 °C. Pokud jsou činidla správně uchovávána, jsou stabilní až do vypršení data exspirace.

Nezbytné pomůcky a nástroje, které nejsou součástí sady

* Přesné mikropipety a vícekanálové mikropipety
* Jednorázové pipetovací špičky
* Odměrný válec na promývací roztok
* Čtečka na 96jamkové mikrodestičky (vybavená filtrem 450 nm a referenčním filtrem 620 nm až 650 nm)
* Promývačka mikrotitračních destiček (manuální, poloautomatická nebo automatická)
* Pro přípravu reagencií používaných při provádění testu používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu.
* Kryty mikrotitračních destiček (víko, hliníková fólie nebo adhezivní kryt)
* Zkumavky pro ředění vzorků

Upozornění a varování

* S veškerým biologickým materiálem nakládejte jako s potenciálně infekčním.
* Při manipulaci se vzorky a činidly používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí nebo obličeje.
* Další informace naleznete v bezpečnostních údajích o produktu na konci této příbalové informace.
* Varování a upozornění týkající se činidel jsou uvedena na konci této příbalové informace.

Laboratorní postupy

* Optimálních výsledků lze dosáhnout při přísném dodržení tohoto protokolu. Nezbytným předpokladem zachování přesnosti je pečlivé pipetování, časování a promývání v průběhu postupu. Pro každý vzorek a kontrolní vzorek použijte samostatnou špičku pipety.
* Nevystavujte roztok TMB silnému světlu ani oxidačním prostředkům. Při práci s roztokem TMB používejte čisté skleněné nebo plastové pomůcky.
* Veškerý odpad je třeba před likvidací řádně dekontaminovat. Obsah zlikvidujte v souladu s místními, regionálními a národními právními předpisy.
* Je třeba dbát na to, aby nedošlo ke kontaminaci součástí soupravy. Nespotřebovaná činidla nenalévejte zpět do nádobek.
* Nepoužívejte soupravu po uplynutí doby exspirace a nemíchejte její součásti se součástmi souprav jiných výrobních šarží.

Odběr vzorků a manipulace s nimi

Vzorky orálních tekutin je možné odebírat od jednotlivých prasat nebo hromadně z kotců s použitím závěsných provazů podle široce dostupných metodologií publikovaných on-line nebo v literatuře.2,3 Stručně řečeno, vzorek orální tekutiny je získán z kotce prasat (vzorek reprezentuje až 30 zvířat), která necháme po dobu 20 minut žvýkat zavěšený provaz vyrobený ze stoprocentní nebarvené a nebělené bavlny. Během tohoto intervalu se při žvýkání provazu obvykle vystřídá 75 % prasat, které se tímto způsobem podílejí na směsném vzorku orálních tekutin.4 Po vyždímání orální tekutiny z provazu je třeba vzorek okamžitě uložit do chladničky a neprodleně odeslat k laboratornímu testování.

Varování

Při testování orálních tekutin prasat, která dostávají speciální krmivo pro přechodné období několika týdnů po odstavu, je třeba výsledky interpretovat velmi obezřetně. Testy vzorků orální tekutiny prasat, která dostávají krmivo obohacené sprejově sušenou krevní plazmou prasečího původu, totiž mohou být pozitivní díky přítomnosti protilátek proti PRRSV v použitém doplňku prasečí krevní plazmy.6

Příprava promývacího roztoku

Určete objem promývacího roztoku potřebného k promytí mikrotitračních destiček. Promývací koncentrát (10X) je nutno před použitím zředit v poměru 1:10 destilovanou nebo deionizovanou vodou (1 díl koncentrátu na 9 dílů vody, např. 30 ml promývacího koncentrátu [10X] plus 270 ml vody). Promývací roztok připravený za sterilních podmínek (sterilní voda a sterilní baňky nebo nádobky) lze skladovat po dobu jednoho týdne při teplotě 2 – 8 °C.

Příprava vzorků

Vzorky určené k testování se naředí ředidlem na vzorky v poměru 1:2 (např. 100 µl vzorku se naředí 100 µl ředidla na vzorky). **Poznámka:** Kontrolní vzorky se neředí. Pro každý vzorek použijte novou špičku pipety. Pozici každého vzorku na destičce zaznamenejte do pracovního listu. Vzorky musí být před nanesením do převrstvené mikrotitrační destičky promíseny.

Postup testování

Všechna činidla se musí před použitím ponechat vytemperovat na teplotu 18 – 26 °C. Činidla promíchejte pomalým převracením nebo kroužením.

|  |  |
| --- | --- |
| **1** | Připravte si destičku/destičky s potaženým antigenem a zaznamenejte polohu vzorků. Pokud používáte oddělitelné destičky, použijte pouze tolik mikrotitračních proužků, kolik je pro analýzu třeba. Nepoužité proužky uložte spolu s desikantem do uzavřeného sáčku a uchovávejte je při teplotě 2 – 8 °C. |
| **2** | Do dvou jamek testovací destičky napipetujte 100 µl NEŘEDĚNÉHO negativního kontrolního vzorku (NC). |
| **3** | Do dvou jamek testovací destičky napipetujte 100 µl NEŘEDĚNÉHO pozitivního kontrolního vzorku (PC). |
| **4** | Do příslušných jamek napipetujte 100 µl ŘEDĚNÉHO vzorku. |
| **5** | Zakryjte jamky a nechte inkubovat po dobu 2 minut (±5 minut) při teplotě 18 – 26 °C. |
| **6** | Odstraňte tekutý obsah všech jamek a každou jamku třikrát až pětkrát promyjte pomocí přibližně 350 µl promývacího roztoku. Je třeba zabránit tomu, aby destička v době mezi promýváním a před přidáním dalšího činidla vyschla. Po posledním odstranění tekutiny důkladně vyklepejte z každé mikrotitrační destičky zbytky promývací tekutiny na savý materiál. |
| **7** | Do každé jamky napipetujte 100 µl konjugátu. |
| **8** | Nechte inkubovat po dobu 30 minut (±2 minuty) při teplotě 18 – 26 °C. |
| **9** | Opakujte krok 6. |
| **10** | Do každé jamky napipetujte 100 µl substrátu TMB č. 12. |
| **11** | Nechte inkubovat po dobu 15 minut (±1 minuta) při teplotě 18 – 26 °C. |
| **12** | Do každé jamky napipetujte 100 µl stop roztoku. |
| **13** | Do 30 minut od přidání stop roztoku č. 3 změřte a zaznamenejte hodnotu A(450 nm) – A(REF) vzorků a kontrolních vzorků. REF je referenční vlnová délka, která se může pohybovat v rozmezí A(620 nm) až A(650 nm). |

1. Výpočet:

|  |
| --- |
| **Kontrolní vzorky** |
|  |
| **Kritéria validity** |
|  |
|  |
| Je-li test neplatný, může být pravděpodobnou příčinou chybný pracovní postup. V takovém případě je test třeba po pečlivém prostudování příbalové informace zopakovat. |
| **Vzorky** |
|  |  |
| Přítomnost nebo nepřítomnost protilátek proti PRRSV je stanovena výpočtem poměru vzorku vůči pozitivnímu kontrolnímu vzorku ("sample to positive ratio", S/P). |

1. Interpretace:

Negativní Pozitivní

S/P < 0,40 S/P ≥ 0,40

**Poznámka:** Společnost IDEXX má k dispozici přístrojové a programové vybavení, které počítá výsledky a generuje datové souhrny.

Odkazy

1. Zimmerman JJ, Yoon KJ, eds. The PRRS Compendium. 2nd ed. Des Moines. IA: National Pork Board; 2003.

2. Kittawornrat A, Prickett JR, Wang C, et al. Detection of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antibodies in oral fluid specimens using a commercial PRRSV serum antibody enzyme-linked immunosorbent assay. J Vet Diagn Invest. 2012; 24:262-269.

3. Prickett JR, Zimmerman JJ. The development of oral fluid-based diagnostics and applications in veterinary medicine. An Health Res Rev. 2010; 11:207-216.

4. White D, Rotolo M, Olsen C et al. Recommendations for pen-based oral-fluid collection in growing pigs. J Swine Health Prod. 2014; 22:138-141.

5. Olsen C, Wang C, Christopher-Hennings J, et al. Probability of detecting PRRSV infection using pen-based swine oral fluid specimens as a function of within-pen prevalence. J Vet Diagn Invest. 2013; 25:328-325.

6. Johnson JK, Main R, Zimmerman J. Exogenous sources of PRRSV antibody detectable in the PRRSV oral fluid ELISA. J Swine Health Prod. 2012; 20:215.

**Odbornou pomoc získáte zde:**

IDEXX USA Tel: +1 800 548 9997 nebo +1 207 556 4895

IDEXX Europe Tel.: +800 727 43399

Obraťte se na oblastního manažera nebo distributora IDEXX nebo navštivte naši webovou stránku idexx.com/contactlpd

IDEXX a Test With Confidence jsou známky nebo registrované známky společnosti IDEXX Laboratories, Inc. nebo jejích přidružených společností v USA a/nebo dalších zemích

2022 IDEXX Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena.

**VAROVÁNÍ**

****

**Pozitivní kontrolní vzorek / Negativní kontrolní vzorek / Ředidlo na vzorky / Promývací koncentrát (10x)** – 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.



**Stop roztok č. 3** - Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Může vyvolat alergickou kožní reakci. Způsobuje vážné poškození očí. Nevdechujte dým. 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 GmbH
Stationstrasse 12
CH-3097 Libefeld-Bern
Švýcarsko

**Zástupce pro EU a držitel rozhodnutí o schválení:**

IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1334
2130 EK Hoofddorp
Nizozemí

idexx.com

