



FASTest[®] BEE 3T

Testovacia súprava na kvalitatívnu detekciu vírusu deformovaných krídel (DWV), vírusu akútnej paralýzy včiel (ABPV) a vírusu vreckovitosti včelieho plodu (SBV).

In vitro diagnosticum

Návod na použitie

Výrobca :

Art. No. 301010BG1 (10's)
301024BG1 (12×2's)
301025BG1 (25's)
301050BG1 (50's)



Lochauer Str. 2
A-6912 Hörbranz – AUSTRIA

 (+43) 5573 85400
 (+43) 5573 85400-4
 fastest@megacor.at
 www.megacor.com



Obsah

	Strana
1. Úvod	3
2. Zloženie testovacej súpravy	3
3. Stabilita, uskladnenie	4
4. Zodpovednosť	4
5. Princíp testu	4
6. Opatrenia	5
7. Vzorka	5
8. Príprava testu	5
9. Postup	6
10. Výsledky	7
11. Interpretácia	7
Skratky	2

Skratky

ABPV	Acute bee paralysis virus
BBM	Bee-buffer mixture
BPM	Bienen-Puffer-Mischung
CL	CONTROL line
DWV	Deformed wing virus
KL	KONTROL Llinie
LF	Lateral flow
SBV	Sacbrood virus
TL	TEST line

1. ÚVOD

Včely medonosné (*Apis mellifera*) patria medzi 3 najdôležitejšie poľnohospodárske zvieratá na celom svete opelovaním širokej škály plodín a okrasných rastlín. Táto dôležitá ekosystémová služba je nevyhnutná pre udržateľné a produktívne poľnohospodárstvo a pre zachovanie nepoľnohospodárskeho ekosystému. Preto zohráva kľúčovú úlohu monitorovanie zdravia a vitality včelstiev. Okrem mnohých parazitov a húb (napr. *Varroa destructor* a *Nosema* spp.) predstavujú vírusy (napr. **vírus deformovaných krídel DWV**, **vírus akútnej parýzy včiel ABPV**, **vírus Sacbrood SBV**) veľkú hrozbu pre zdravie a pohodu včiel medonosných.

DWV, vyvolaný stresom (silné napadnutie *V. destructor*, nedostatok potravy, nesprávny manažment kolónií), môže spôsobiť charakteristické príznaky ochorenia (zmenšené, nelietavé krídla, zmenšená veľkosť tela, zmena farby u dospelých včiel).

SBV spôsobuje významné morfológické zmeny plodu (žiadne zakuklenie, vakovitá akumulácia ecdýziálnej tekutiny, zmena farby z perleťovo bielej na bledožltú, vysušenie po smrti vo forme tmavohnedej šupiny v tvare lode). U dospelých včiel sa vyvinie infekcia bez viditeľných príznakov choroby, ktorá sa vyznačuje iba skrátenou dĺžkou života.

ABPV sa množí hlavne v kuklách. Po aktivácii (napadnutím roztočmi, bakteriálnym oplodením, znečistením životného prostredia, chemikáliami, insekticídmi atď.) sa infekcia charakterizuje rýchlo postupujúcou paralýzou, chvením, nečinnosťou pri lietaní, postupným tmavnutím a vypadávaním srsti z hrudníka a brucha a rýchlym úhynom dospelých včiel.

Početné štúdie naznačujú, že existuje vzájomný vzťah medzi úrovňou napadnutia *V. destructor* (parazitický roztoč *Varroa*) a niektorými vírusovými ochoreniami (najmä DWV, ABPV, SBV). Roztoč *Varroa* slúži ako rezervoár vírusov a nosič týchto vírusov. Táto fatálna kombinácia sa považuje za hlavnú príčinu zimných strát! DWV ukazuje najlepšiu koreláciu medzi úrovňou napadnutia *Varroa* a vírusovou záťažou.

Na posúdenie a obmedzenie týchto zimných strát je pre včelára rýchlym a jednoduchým diagnostickým nástrojom priama detekcia vírusu na mieste pomocou FASTest® BEE 3T. V pozitívnom prípade, bez ohľadu na to, ktorý vírusový test je pozitívny, by sa mala prehodnotiť stratégia kontroly *Varroa* (status *Varroa*) úľa podľa pokynov príslušnej krajiny.

2. ZLOŽENIE TESTOVACEJ SÚPRAVY

1 Test FASTest® BEE 3T obsahuje:

- 2*, 10**, 25*** or 50****×3 stripy/pásiky potiahnuté monoklonálnymi protilátkami proti DWV, ABPV alebo SBV
- *2, **10, ***25 or ****50 Fľaštičky s kvapkadlom A s 1.5 ml s
- roztokom/riediacim
- *2, **10, ***25 or ****50 skúmavky na vzorky so stláčadlom
- 1 Pinzetu

3 . STABILITA A SKLADOVANIE



Skladovanie
15–25°C



Dátum
expirácie –
pozri štítok



In vitro diagnostikum



Šarža



Presne dodržujte návod na
použitie

!

Nepoužívajte komponenty
testovacej súpravy z rôznych
súprav, šarží alebo po uvedenom
dátume expirácie.

4 . ZODPOVEDNOSŤ

Celé riziko vyplývajúce z výkonu tohto produktu preberá kupujúci. Výrobca nezodpovedá za nepriame, špeciálne alebo následné škody akéhokoľvek druhu vyplývajúce z používania tohto produktu.

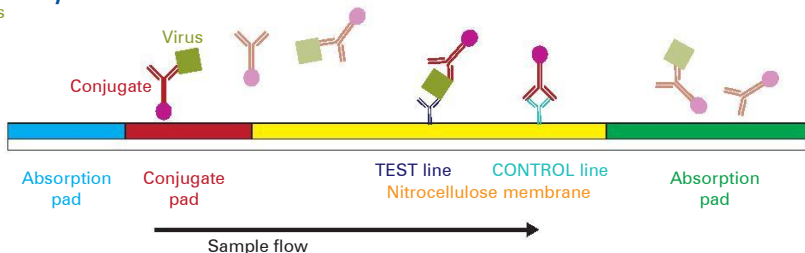
5 . PRINCÍP TESTU

FASTest® BEE 3T je založený na imunochemickom "sendvičovom princípe". Vírusové antigény DWV, ABPV a SBV prítomné vo včele budú reagovať v konjugovanej podložke so špecifickými, mobilnými protilátkami, ktoré sú konjugované s časticami koloidného zlata. Tieto komplexy antigén-protilátka migrujú ("laterálny tok", LF) pozdĺž nitrocelulózne membrány a viažu sa na fixné monoklonálne antivírusové protilátky a vytvárajú ružovo-fialovú TESTOVACIU líniu (TL).

Správny testovací postup bude indikovaný druhou ružovo-fialovou kontrolnou líniou **CONTROL** line (CL).

Antigen (Virus) detection

Bee with viruses



6 . OPATRENIA

Z hygienických dôvodov odporúčame nosiť jednorazové rukavice a iné osobné ochranné prostriedky (ochranný odev, prípadne rúško). Po skončení testu si umyte a vydezifikujte ruky.

Označte materiál vzorky, skúmavky na vzorky a súvisiace mierky, aby ste zabezpečili presné priradenie.

Pre každú vzorku použite novú skúmavku na vzorky a nové mierky.

Pufrované riedidlo obsahuje nízke koncentrácie toxického azidu sodného ako konzervatívne prostriedku, preto sa vyhnite kontaktu s pokožkou / očami a/alebo požitiu.

Materiál vzorky sa musí považovať za potenciálne infekčný a po testovaní musí byť zlikvidovaný v súlade s bezpečnosťou pre včely s polu s použitými komponentami súpravy.

7 . VZORKY

A) 30 minút pred použitím súpravy vytemperujte pri izbovej teplote (15–25°C) .

B) Na testovanie je možné použiť 5 včiel alebo včelieho plodu (červy, kukly) a vložiť do skúmavky na vzorky.

C) Pred použitím včely / včelí plod dobre rozdrvte stláčadlom a zabezpečte rovnomerné premiešanie.

8 . PRÍPRAVA TESTU

- 
1. **Pred začatím testu si pozorne prečítajte návod na použitie.**
 2. **Pre spoľahlivosť výsledkov je potrebné presne dodržiavať návod na použitie. Vykonajte test presne krok za krokom.**

8.1. HLAVNÉ

- Krátko pred použitím vyberte stripy z fóliového vrečka.
- Bezprostredne pred použitím dobre premiešajte tlmivý roztok (krúžte fľaštičkou s kvapkadlom aby sa nevytvorila pena).
- Po použití sa stripy nesmú znova použiť.
- Poškodené komponenty testovacej súpravy sa nesmú používať.

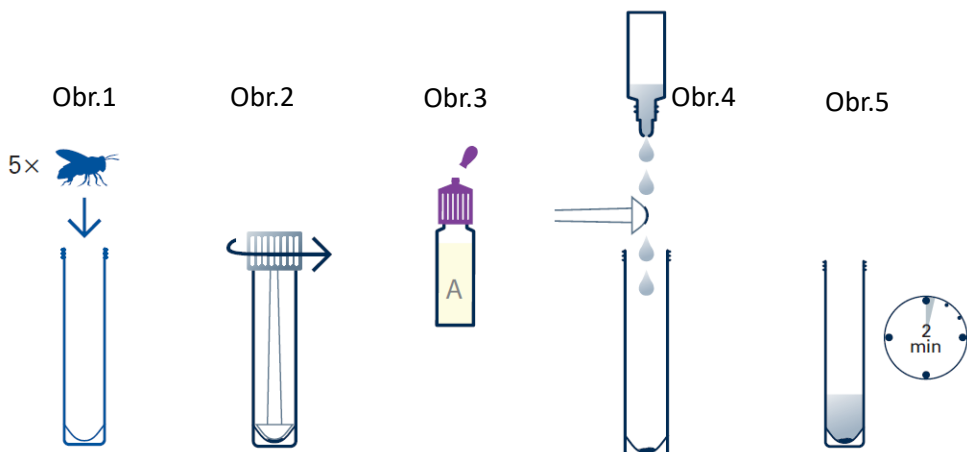
8.2. PRÍPRAVA VZORKY

1. Otvorte skúmavku na vzorku a pridajte do nej päť včiel / včelieho plodu (červy, kukly) (obr.1).
2. Včelí materiál niekoľkokrát pevne uzavrite modrým uzáverom s pripojeným stláčadlom na skúmavku na vzorku (obr. 2).

Znova otvorte skúmavku so vzorkami. Vezmite jednu fľaštičku s kvapkadlom A, zlomte špičku (obr. 3) a pridajte celý objem (1,5 ml) do skúmavky so vzorkami so včelami / včelím plodom. V prípade akýchkoľvek zvyškov včiel na pieste, nechajte niekoľko kvapiek tiecť cez piest do skúmavky na vzorky (obr. 4).

Vylisovaný včelí materiál homogénne zmiešajte s tlmivým riedidlom niekoľkonásobným krútením a odkrútením modrého uzáveru (pozri obr. 2).

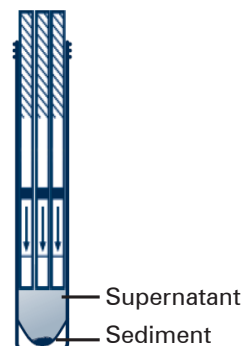
Vyberte stláčač z uzáveru. Naskrutkujte uzáver na skúmavku a nechajte včeliu tlmivú zmes (BBM) na rovnom povrchu aspoň dve minúty (obr. 5), aby sa hrubé včelie častice mohli usadiť (čas sedimentácie).



9. POSTUP

1. Krátko pred použitím vyberte stripy z fóliového vrečka.
2. Umiestnite tri testovacie prúžky opatrne rovnobežne, vertikálne a v smere šípok do skúmavky na vzorku. Predné strany mierok sa nesmú navzájom dotýkať. Hladina liq-uid (meniskus!) nesmie prekročiť modré hroty šípok (obr. 6). Inkubačný čas 10–15 minút začína teraz.
3. Vyberte stripy zo skúmavky, keď je viditeľná ružovo-fialová čiara CONTROL (CL) (pozri obr. 7 / 8). Ak sa CL neobjaví po 2 minútach, musí sa pripraviť nový BBM s novými včelami / včelím plodom a sedimentovať ho najmenej 5 minút. Mierky sa musia držať iba v supernatante, kým LF nedosiahne CL.
4. Umiestnite mierky na rovný a vodorovný povrch na inkubáciu.

Obr.6



10. ODČÍTANIE VÝSLEDKOV TESTOV



Výsledok testu si odčítajte po inkubačnej dobe 10–15 minút. Po uplynutí tejto doby sa výsledky testov nesmú interpretovať.

POZITÍVNY VÝSLEDOK TESTU (obr.7)

Objaví sa ružovo-fialová čiara TEST (TL) akejkoľvek intenzity (od veľmi slabej po silne intenzívnu) a ružovo-fialová čiara CONTROL (CL).



NEGATÍVNY VÝSLEDOK TESTU (obr.8)

Zobrazí sa iba ružovo-fialová čiara CONTROL (CL). Táto čiara znamená, bez ohľadu na jej intenzitu, že test bol vykonaný správne.



NEPLATNÝ VÝSLEDOK TESTU (obr. 9) Nie je viditeľná čiara CONTROL. Test by sa mal opakovať s použitím nových mierok.



1 1. INFORMÁCIE NA INTERPRETÁCIU

- Interpretácia výsledku testu by mala byť vždy založená na predchádzajúcej anamnéze, viditeľných príznakoch ochorenia, možnostiach liečby a profylaxie.
- Akákoľvek neopísaná farebná alebo obrysová variácia TL a CL (napr. sivasté, tieňové odkazy) sa musia považovať za nešpecifické reakcie, a teda za negatívny výsledok testu.
- Pozitívne výsledky testov sa môžu pozorovať do 10 minút v závislosti od koncentrácie antigénu vo vzorke.
- TL sa môže líšiť intenzitou aj šírkou. Preto sa každá ružovo-fialová čiara, ktorá sa objaví v požadovanom inkubačnom čase, musí interpretovať ako pozitívny výsledok testu.
- V prípade pochybných, veľmi slabo pozitívnych ružovo-fialových TEST línií a jasne rozpoznateľných klinických symptómov sa odporúča potvrdzujúci test v laboratóriu.
- Zvyškový objem (BBM) je možné použiť na potvrdenie PCR testovaním - odoslaním do laboratória.

	DWV	ABPV	SBV	Interpretácia	Stav vírusu
Jar	negative	negative	negative	Včelstvo bez vírusov alebo pod detekčným limitom	Ideal
Leto	negat	negat	negat	Včelstvo bez vírusov alebo pod detekčným limitom	Ideal
Jeseň 	Negat	negat	negat	Včelstvo bez vírusov alebo pod detekčným limitom	Ideal – veľmi dobrá stratégia riadenia
	aspoň 1 alebo viac pásikov na stripe mierne pozitívnych			Včelstvo so zvyšujúcou vírusovou záťažou	Preskúmajte stratégiu riadenia
	aspoň 1 alebo viac pásikov na stripe je jednoznačne pozitívnych			Včelstvo s čoraz rastúcou vírusovou záťažou	Urýchlene prehodnoťte stratégiu riadenia

FASTest® BEE 3T sa má používať len ako doplnkový diagnostický nástroj na monitorovanie Varroa

Poznámka k negatívnemu výsledku rýchleho testu –

odobratá vzorka je 100 % bez vírusov alebo koncentrácia vírusov môže byť pod detekčným limitom testu –

odobratá vzorka nemusí byť 100 % bez napadnutia roztočmi Varroa

Poznámka k pozitívnemu výsledku rýchleho testu

po jednom pozitívnom teste a následných opatreniach požadovaných včelármi môže byť FASTest® BEE 3T ešte nejaký čas pozitívny (množstvo vírusu stále nad detekčným limitom)–

v pozitívnom prípade, bez ohľadu na to, ktorý vírusový test je pozitívny, by sa mala kontrolná stratégia Varroa úľa skontrolovať podľa pokynov príslušnej krajiny

Dôležité:

Všetky kolónie, ktoré uhynuli z neznámej príčiny, je možné vyšetriť pomocou FASTest® BEE 3T. Týmto spôsobom je možné odvodit' skutočnú príčinu smrti. Ak je test silne pozitívny (najmä DWV), je to známka príliš vysokého napadnutia roztočmi. V tomto prípade kolónia s najväčšou pravdepodobnosťou zahynula na varroózu + DWV a možno nedostatočnú letnú liečbu proti roztočom varroa. Preto by sa napadnutie varroou malo skontrolovať v nasledujúcej sezóne.

POZNÁMKY

Odkaz na návod na youtube:

<https://www.youtube.com/watch?v=cH2oMPNp2mY>