Alertys **Ruminant Pregnancy**

Česká verze

Testovací souprava na určení březosti u přežvýkavců

Název a určené použití

Určeno pouze pro veterinární použití.

Alertys\* Ruminant Pregnancy Test Kit je enzymová imunoanalýza na průkaz přítomnosti PAG (tzv. pregnancy-associated glycoproteins – glykoproteiny spojené s březostí) jako markeru březosti v séru nebo EDTA plazmě skotu, séru ovcí a koz a EDTA plazmě samic buvolů indických a bizonů.

Obecné informace

Přesné a včasné určení březosti dojnic představuje zásadní součást moderních programů na řízení reprodukce. Veterinární lékaři a zemědělci využívají metodu raného určování nezabřezlých krav k tomu, aby provedli opětovné připuštění dříve, zkrátili dobu mezi otelením a maximalizovali tak produkci mléka a výnos farmy. Březost se u krav běžně zjišťuje rektální palpací nebo transrektálním ultrazvukem (TU). Testovací souprava na určení březosti Alertys\* Ruminant Pregnancy Test Kit představuje laboratorní metodu pro přesné určení březosti již 28 dnů po připuštění a 21 dnů po transferu embryí, což může veterinárním lékařům i zemědělcům-producentům mléka poskytnout důležitý nástroj pro časné rozpoznání březích krav. Test lze používat ≥ 60 dnů po otelení.

Vzorky ovcí, koz a samic buvolů indických a bizonů

Přesné a včasné určení březosti ovcí, koz a samic buvolů a bizonů představuje zásadní součást moderních programů na řízení reprodukce. Veterinární lékaři a chovatelé využívají metodu raného určování nezabřezlých ovcí, koz a samic buvolů a bizonů k tomu, aby provedli opětovné připuštění dříve a maximalizovali tak výnos farmy. Březost se u samic buvolů indických a bizonů běžně zjišťuje rektální palpací nebo transrektálním ultrazvukem. Testovací souprava na určení březosti Alertys\* Ruminant Pregnancy Test Kit představuje laboratorní metodu pro přesné určení březosti již 28 dnů po připuštění u koz, 35 dnů u ovcí a 30 dnů u samic buvolů indických.† U samic bizonů nebyl nejkratší interval po připuštění validován. U samic buvolů je možné test používat ≥ 60 dnů po porodu.† U ovcí a koz nebyl interval použití testu po porodu stanoven.

†Výkonnostní data jsou uvedena ve validační zprávě k testu Alertys\* Ruminant Pregnancy.

Popis a principy

Alertys\* Ruminant Pregnancy Test Kit je enzymová imunoanalýza na průkaz rané přítomnosti glykoproteinů spojených s březostí (PAG) v séru nebo v EDTA plazmě jako markeru březosti. Mikrotitrační destička je převrstvena antigenem anti-PAG. Po zředění a inkubaci testovaného vzorku v převrstvené jamce se navázaný PAG prokáže antigenem specifickým pro PAG (detekční roztok) a konjugátem křenové peroxidázy (konjugát HRPO). Nenavázaný konjugát se vymyje a do jamek se přidá substrát TMB. Následné zabarvení je úměrné množství PAG ve vzorku.

Reagencie Množství

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Mikrotitrační destička s převrstveným antigenem anti-PAG | 5 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek | 1 x 3,5 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek | 1 x 3,5 ml |
| 4 | Konjugát | 1 x 60 ml |
| 5 | Ředidlo na vzorky | 1 x 20 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 480 ml |
| D | Detekční roztok | 1 x 60 ml |
| **Ostatní součásti:** uzavíratelný ZIP sáček | | 1 |

**Poznámka:** Popis symbolů použitých v příbalové informaci a etiketách soupravy je uveden v tabulce na konci příbalového letáku.

Uchovávání

Reagencie uchovávejte při teplotách 2 – 8 °C. Pokud jsou reagencie správně uchovávány, jsou stabilní až do vypršení data expirace.

Potřebné materiály, které nejsou součástí soupravy

* Přesné mikropipety nebo mikropipety pro hromadné dávkování
* Jednorázové pipetové špičky
* Odměrný válec na promývací roztok
* Čtečka na 96jamkové mikrodestičky vybavená filtrem 450 nm a referenčním filtrem (620 nm – 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)
* Vortex nebo srovnatelné míchací zařízení
* Vlhká komora / inkubátor pro udržování teploty +37 °C (±2 °C)

Upozornění a varování

* S veškerým biologickým materiálem nakládejte jako s potenciálně infekčním.
* Při manipulaci se vzorky a reagenciemi používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí nebo obličeje.
* Další informace naleznete v bezpečnostních údajích o produktu na konci tohoto příbalového letáku.
* Varování a upozornění týkající se reagencií 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 novou špičku pipety.
* Nevystavujte roztok TMB silnému světlu ani oxidačním prostředkům. Při práci s roztokem TMB používejte čisté skleněné nebo plastové pomůcky.
* Všechny odpadní materiály je nutné před likvidací řádně dekontaminovat. Obsah zlikvidujte v souladu s místními, regionálními a národními předpisy.
* Je třeba dbát na to, aby nedošlo ke kontaminaci součástí soupravy. Nespotřebované reagencie nenalévejte zpět do nádobek.
* Nepoužívejte soupravu po datu expirace.

Příprava reagencií

Promývací roztok

Promývací koncentrát (10X) je třeba zahřát na teplotu 18 °C – 26 °C a promíchat, aby se rozpustily případně přítomné krystalky solí. Promývací koncentrát (10X) je nutno před použitím zředit v poměru 1:10 destilovanou nebo deionizovanou vodou (např. 30 ml promývacího koncentrátu plus 270 ml vody na jednu destičku určenou k analýze).

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

Postup testu

Všechny reagencie se musí před použitím zahřát na teplotu 18 °C – 26 °C. Reagencie je třeba promíchat mírným převracením nebo kroužením.

|  |  |
| --- | --- |
| **1** | Připravte si destičky s převrstveným antigenem a zaznamenejte polohu vzorků. Pokud používáte dělitelné destičky, použijte pouze tolik mikrotitračních proužků, kolik je pro analýzu třeba. Nepoužité proužky uložte spolu s desikantem do uzavíratelného sáčku, který je součástí soupravy, a uchovávejte je při teplotě 2 °C – 8 °C. |
| **2** | Do jamek, které budou použity pro vzorky a kontrolní vzorky, pipetujte 25 μl ředidla na vzorky. |
| **3** | Do dvou jamek testovací destičky pipetujte 100 µl negativního kontrolního vzorku (NC) |
| **4** | Do dvou jamek testovací destičky pipetujte 100 µl pozitivního kontrolního vzorku (PC) |
| **5** | Do příslušných jamek pipetujte 100 µl vzorků. |
| **6** | Destičkou jemně zaklepejte, aby došlo k promíchání. |
| **7** | Zakryjte jamky a nechte inkubovat po dobu 60 minut (±5 minut) při teplotě 37 °C (±2 °C). Aby se zabránilo odpařování, je třeba destičky pevně uzavřít. |
| **8** | Odstraňte tekutý obsah všech jamek a každou jamku třikrát až pětkrát promyjte pomocí přibližně 300 µl promývacího roztoku. Je třeba zabránit tomu, aby destička v době mezi promýváním a před přidáním další reagencie vyschla.  Po posledním odstranění tekutiny důkladně vyklepejte z každé mikrotitrační destičky zbytky promývací tekutiny na savý materiál. |
| **9** | Do každé jamky pipetujte 100 µl detekčního roztoku. |
| **10** | Zakryjte jamky a nechte inkubovat po dobu 30 minut (±2 minuty) při teplotě 18 °C – 26 °C. |
| **11** | Opakujte krok 8. |
| **12** | Do každé jamky pipetujte 100 µl konjugátu. |
| **13** | Zakryjte jamky a nechte inkubovat po dobu 30 minut (±2 minuty) při teplotě 18 °C – 26 °C. |
| **14** | Opakujte krok 8. | |
| **15** | Do každé jamky pipetujte 100 µl substrátu TMB č. 12. | |
| **16** | Nechte inkubovat po dobu 15 minut (±1 minuta) při teplotě 18 °C – 26 °C a mimo přímé světlo. | |
| **17** | Do každé jamky přidejte 100 µl stop roztoku č. 3. | |
| **18** | Změřte a zaznamenejte hodnotu A(450 nm)–A(REF) vzorků a kontrolních vzorků. Referenční vlnová délka je A(620 nm–650 nm). | |
| **19** | Výpočet: | |
| **Kontrolní vzorky** | |



**20** Interpretace (skot, ovce, kozy, buvol indický a bizon):

nezabřezlé březí

S – N < 0,300 S – N ≥ 0,300

**Opětovná kontrola březosti (validováno pouze u skotu):** V raném stádiu březosti krav často dochází k úhynu embryí. PAG mohou v organismu krav/jalovic po předčasném úhynu embryí po určitou dobu cirkulovat.

Pokud je hodnota S – N větší než nebo se rovná 0,300 a zároveň je menší než 1,000, doporučuje se provést po 7 až 10 dnech nepovinnou opětovnou kontrolu.

Společnost IDEXX doporučuje producentům mléka, aby úzce spolupracovali se svým veterinárním lékařem a měli tak možnost sestavit program řízení reprodukce, jenž bude vyhovovat jejich provozu.

Je-li test neplatný, může být pravděpodobnou příčinou chybný pracovní postup. V takovém případě je test třeba po pečlivém prostudování příbalového letáku zopakovat. **Poznámka:** Společnost IDEXX má k dispozici přístrojové a programové vybavení, které počítá výsledky a generuje datové souhrny.

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

© 2019 IDEXX Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena.