Alertys **Milk Pregnancy**

Test na určení březosti ze vzorků mléka

Název a určené použití

Česká verze

Určeno pouze pro veterinární použití.

Test Alertys Milk Pregnancy je enzymová imunoanalýza na průkaz přítomnosti glykoproteinů spojených s březostí (tzv. pregnancy-associated glycoproteins, PAG) v mléce jako markeru březosti. Tento test je validován pro použití se vzorky mléka samic skotu, koz, ovcí a buvolů indických.

Obecné informace

Přesné a včasné určení březosti užitkových zvířat představuje zásadní součást moderních programů řízení reprodukce. Veterinární lékaři a zemědělci využívají metodu určování nezabřezlých samic k tomu, aby provedli opětovné připuštění dříve, zkrátili dobu mezi otelením a maximalizovali tak produkci mléka a výnos farmy.

Vzorky mléka skotu

Březost se u krav běžně zjišťuje rektální palpací nebo transrektálním ultrazvukem (TU). Test Alertys\* Milk Pregnancy představuje laboratorní metodu pro určení březosti od ≥ 28 dnů po připuštění\*, což může veterinářům i zemědělcům-producentům mléka poskytnout důležitý nástroj identifikace nezabřezlých krav a řízení intervalů mezi otelením. Test lze používat ≥ 60 dnů po otelení.

Vzorky mléka koz, ovcí a samic buvolů

Přesné a včasné určení březosti ovcí, koz a samic buvolů představuje zásadní součást moderních programů řízení reprodukce. Veterinární lékaři a zemědělci využívají metodu raného určování nezabřezlých ovcí, koz a samic buvolů k tomu, aby provedli opětovné připuštění dříve a maximalizovali tak výnos farmy. Březost se u samic buvolů indických běžně zjišťuje rektální palpací nebo transrektálním ultrazvukem. Test Alertys\* Milk Pregnancy představuje laboratorní metodu pro určení březosti u koz od ≥ 28 dnů, u ovcí od ≥ 60 dnů a u samic buvolů od ≥ 29 dnů po připuštění\*, což může veterinářům i zemědělcům-producentům mléka poskytnout důležitý nástroj identifikace nezabřezlých samic a řízení jejich reprodukce. Test lze používat ≥ 40 dnů po porodu u samic buvolů a ≥ 80 po porodu u ovcí.†

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

Popis a zásady testování

Mikrotitrační destička je převrstvena antigenem anti-PAG. Po 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 | 30 |
| 2 | Pozitivní kontrolní vzorek | 1 x 5,0 ml | 1 x 14 ml |
| 3 | Negativní kontrolní vzorek | 1 x 5,0 ml | 1 x 14 ml |
| 4 | Konjugát | 1 x 60 ml | 1 x 350 ml |
| A | Substrát TMB č. 12 | 1 x 60 ml | 1 x 400 ml |
| B | Stop roztok č. 3 | 1 x 60 ml | 1 x 400 ml |
| C | Promývací koncentrát (10X) | 1 x 480 ml | 3 x 480 ml |
| D | Detekční roztok | 1 x 60 ml | 1 x 350 ml |
| **Další součásti:** Uzavíratelný ZIP sáček | | 1 | 1 |

**Poznámka:** V tabulce na konci tohoto dokumentu je uveden popis symbolů používaných v příbalové informaci a na etiketě této testovací sady.

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). IDEXX doporučuje používat automatickou promývačku mikrodestiček a uživatelům může zprostředkovat nastavení specifické pro test Alertys\* Milk Pregnancy.
* Pro přípravu reagencií používaných při provádění testu používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu
* Kryty mikrotitračních destiček (víko, hliníková fólie nebo adhezivní kryt)
* Třepačka / inkubátor pro mikrotitrační destičky udržující teplotu +37 °C (±2 °C) a zajišťující rotaci 450 ot./min (± 50 ot./min)

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.

Příprava vzorků

* Nekvalitní vzorky mohou zhoršit přesnost výsledků testu. Pro zachování dobré kvality vzorků je možné použít Bronopol nebo podobný konzervační prostředek. Před testováním je nutné zkontrolovat, zda nejsou vzorky mléka zkysané nebo sražené a neobsahují nečistoty.
* Při odběru je nutné minimalizovat riziko záměny vzorků mezi zvířaty, zejména při použití vzorků odebíraných pro účely rutinní evidence stáda.
* Použít lze konzervované nebo čerstvé plnotučné nebo odstředěné mléko. Použít je možné také mléko, které během rutinní analýzy mléčných složek prochází tepelnou úpravou. Není možné použít vzorky, které prošly procesem mikrovlnného ohřevu.

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 vzorku. 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 dvou jamek testovací destičky pipetujte 150 µl negativního kontrolního vzorku (NC) |
| **3** | Do dvou jamek testovací destičky pipetujte 150 µl pozitivního kontrolního vzorku (PC) |
| **4** | Do příslušných jamek pipetujte 150 µl vzorku. |
| **5** | Zakryjte jamky a nechte inkubovat po dobu 120 minut (±5 min) při teplotě 37 °C (±2 °C) a rotaci 450 ot./min (+/- 50 ot./min). Aby se zabránilo odpařování, je třeba v této fázi destičky pevně uzavřít adhezivními kryty. |
| **6** | Roztok odstraňte a každou jamku třikrát promyjte přibližně 300 µl promývacího roztoku. Destička nesmí před promýváním, během promývání a před aplikací dalších reagencií vyschnout.  Po posledním odstranění tekutiny důkladně vyklepejte z každé mikrotitrační destičky zbytky promývací tekutiny na savý materiál. |
| **7** | Do každé jamky pipetujte 100 µl detekčního roztoku. |
| **8** | Zakryjte jamky a nechte inkubovat po dobu 30 minut (±2 minuty) při teplotě 18 °C – 26 °C. Aby se zabránilo odpařování, je třeba destičky pevně uzavřít adhezivními kryty. |
| **9** | Opakujte krok 6. |
| **10** | Do každé jamky pipetujte 100 µl konjugátu. |
| **11** | Zakryjte jamky a nechte inkubovat po dobu 30 minut (±2 minuty) při teplotě 18 °C – 26 °C. Aby se zabránilo odpařování, je třeba destičky pevně uzavřít adhezivními kryty. |
| **12** | Opakujte krok 6. |
| **13** | Do každé jamky pipetujte 100 µl substrátu TMB č. 12. |
| **14** | Nechte inkubovat po dobu 20 minut (±1 minuta) při teplotě 18°C – 26°C. |
| **15** | Do každé jamky přidejte 100 µl stop roztoku č. 3. |
| **16** | Změřte a zaznamenejte hodnotu A(450 nm)–A(REF) vzorků a kontrolních vzorků. Referenční vlnová délka je A(620 nm–650 nm). |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **17** | Výpočet: **Kontrolní vzorky** |  |  |  |
|  |  | |  | |
|  |  |  |  |  |
| **Kritéria platnosti** |  |  |  |
|  |  | |  | |
|  | Je-li test neplatný, může být pravděpodobnou příčinou chybný pracovní postup. V takovém případě je test třeba po pečlivém prostudování příbalového letáku zopakovat. Stav březosti či nezabřeznutí se zjistí podle opravených hodnot OD (S – N) pro každý vzorek. | | | |
| **Vzorky** |  |  |  |
|  |  | |  |  |
|  |  |  |  |  |
| **18** Interpretace: | | | |  |
| **Interpretace vzorků kravského mléka** | | | |  |
| Hodnota S – N Standardní interpretace  U krav > 28 dnů po připuštění | | | | Volitelná interpretace‡  U krav > 45 dnů po připuštění |
|  | < 0,100 | Nezabřezlá | | Nezabřezlá |
|  | > 0,100 a < 0,250 | Opětovná kontrola | | Březí |
|  | > 0,250 | Březí | |
|  | ‡V raném stádiu březosti často dochází k úhynu embryí. PAG mohou v organismu krav po předčasném úhynu embryí po určitou dobu přetrvávat. Pokud je hodnota S – N vyšší nebo rovna 0,100 po 45+ dnech po připuštění, krávu je možné považovat za březí. Údaje o efektivitě testu u krav >45 dnů po připuštění s využitím volitelné interpretace bez zóny opětovné kontroly jsou uvedeny ve validační zprávě k testu Alertys\* Milk Pregnancy. | | | |
| **Interpretace pro vzorky mléka koz, ovcí a samic buvola**  Hodnota S – N Standardní interpretace  Kozy > 28, ovce > 60 dnů, samice buvola > 29 dnů po připuštění | | | |
|  | < 0,100 | Nezabřezlá | | |
|  | > 0,100 a < 0,250 | Opětovná kontrola | | |
|  | > 0,250 | Březí | | |
|  | **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.

NEBEZPEČÍ



|  |
| --- |
| H317 / H412 / P280 / P302 + P352 / P333 + P313 |
| **Pozitivní kontrolní vzorek / negativní kontrolní vzorek / detekční roztok** − Může způsobit alergickou kožní reakci. Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky. Používejte ochranné rukavice. PŘI POTŘÍSNĚNÍ KŮŽE: Postižené místo omyjte mýdlem a velkým množstvím vody. V případě podráždění kůže nebo vyrážky: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření. |

|  |
| --- |
| H314 / H317 / H318 / H412 / P280 / P301 + P330 + P331 / P303 + P361 + P353 P304 + P340 / P305 + P351 + P338 |
| **Stop roztok** − Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Může způsobit alergickou kožní reakci. Způsobuje vážné poškození očí. Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky. Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.  PŘI POŽITÍ: Vypláchněte ústní dutinu. NEVYVOLÁVEJTE zvracení. PŘI POTŘÍSNĚNÍ KŮŽE (nebo vlasů): Okamžitě svlékněte veškerý kontaminovaný oděv. Opláchněte či osprchujte kůži vodou. PŘI NADÝCHÁNÍ: Vyveďte postiženého na čerstvý vzduch a dbejte na to, aby byl v pozici, v níž se mu lépe dýchá. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut jemně oplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, pokud jsou nasazeny a lze je snadno vyjmout. Pokračujte v oplachování. |

|  |  |
| --- | --- |
|  | Číslo šarže |
|  | Sériové číslo |
|  | Katalogové číslo |
|  | Diagnostika *in vitro* |
|  | Autorizovaný zástupce v Evropském společenství |
|  | Kontrolní pozitivní vzorek |
|  | Kontrolní negativní vzorek |
|  | Použijte do |
|  | Datum výroby |
|  | Výrobce |
|  | Teplota uchovávání |
|  | Viz návod k použití |
|  | Důležitá změna v pokynech pro uživatele |

*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

