Alertys **Ruminant Pregnancy**

Slovenská verzia

Testovacia súprava na stanovenie gravidity pri prežúvavcoch

Názov a určené použitie

Určené len na veterinárne použitie.

Alertys\* Ruminant Pregnancy Test Kit je enzýmová imunoanalýza na dôkaz prítomnosti PAG (tzv. pregnancy-associated glycoproteins – glykoproteíny prítomné v gravidite) ako markeru gravidity v sére alebo EDTA plazme hovädzieho dobytka, sére oviec a kôz a EDTA plazme samíc byvola indického a bizónov.

Všeobecné informácie

Presné a včasné určenie gravidity dojníc predstavuje zásadnú súčasť moderných programov na riadenú reprodukciu. Veterinárni lekári a farmári využívajú metódu raného určovania neteľných kráv k tomu, aby vykonali opätovné pripustenie skôr, skrátili dobu medzi otelením a maximalizovali tak produkciu mlieka a výnos farmy. Gravidita sa pri kravách bežne potvrdzuje rektálnou palpáciou alebo transrektálnym ultrazvukom (TU). Testovacia súprava na určenie gravidity Alertys\* Ruminant Pregnancy Test Kit predstavuje laboratórnu metódu na presné určenie gravidity už 28 dní po pripustení a 21 dní po transferu embryí, čo môže veterinárnym lekárom a farmárom - producentom mlieka poskytnúť dôležitý nástroj pre včasné rozpoznanie gravidity kráv. Test je možné používať ≥ 60 dní po otelení.

Vzorky od oviec, kôz a samíc byvola indického a bizónov

Presné a včasné určenie gravidity oviec, kôz a samíc byvola a bizónov predstavuje zásadnú súčasť moderných programov na riadenie reprodukcie. Veterinárni lekári a chovatelia využívajú metódu raného určovania negravidných oviec, kôz a samíc byvola a bizónov k tomu, aby vykonali opätovné pripustenie skôr a maximalizovali tak výnos farmy. Gravidita sa pri samiciach byvola indického a bizónov bežne overuje rektálnou palpáciou alebo transrektálnym ultrazvukom. Testovacia súprava na určenie gravidity Alertys\* Ruminant Pregnancy Test Kit predstavuje laboratórnu metódu na presné určenie gravidity už 28 dní po pripustení pri kozách, 35 dní pri ovciach a 30 dní pri samiciach byvola indického.† Pri samiciach bizónov nebol najkratší interval po pripustení validovaný. Pri samiciach byvola je možné test používať ≥ 60 dní po pôrode.† Pri ovciach a kozách nebol interval použitia testu po pôrode stanovený.

†Výkonnostné dáta sú uvedené vo validačnej správe k testu Alertys\* Ruminant Pregnancy.

Popis a princípy

Alertys\* Ruminant Pregnancy Test Kit je enzymová imunoanalýza na dôkaz skorej prítomnosti glykoproteínov spojených s graviditou (PAG) v sére alebo v EDTA plazme ako markeru gravidity. Mikrotitračná doštička je prevrstvená antigénom anti-PAG. Po zriedení a inkubácii testovanej vzorky v prevrstvenej jamke sa naviazaný PAG preukáže antigénom špecifickým pre PAG (detekčný roztok) a konjugátom chrenovej peroxidázy (konjugát HRPO). Nenaviazaný konjugát sa vymyje a do jamiek sa pridá substrát TMB. Následné zafarbenie je úmerné množstvu PAG vo vzorke.

Reagencie Množstvo

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1 | Mikrotitračná doštička s prevrstveným antigénom anti-PAG | 5 |
| 2 | Pozitívna kontrolná vzorka | 1 x 3,5 ml |
| 3 | Negatívna kontrolná vzorka | 1 x 3,5 ml |
| 4 | Konjugát | 1 x 60 ml |
| 5 | Riedidlo 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 | Premývací koncentrát (10X) | 1 x 480 ml |
| D | Detekčný roztok | 1 x 60 ml |
| **Ostatné súčasti:** uzatvárateľné ZIP vrecúško | | 1 |

**Poznámka:** Popis symbolov použitých v písomnej informácii pre používateľov a etiketách súpravy je uvedený v tabuľke na konci písomnej informácie.

Uchovávanie

Reagencie uchovávajte pri teplotách 2 – 8 °C. Ak sú reagencie správne uchovávané, sú stabilné až do ukončenia dátumu exspirácie.

Potrebné materiály, ktoré nie sú súčasťou súpravy

* Presné mikropipety alebo mikropipety na hromadné dávkovanie
* Jednorazové pipetové špičky
* Odmerný valec na premývací roztok
* Čítačka na 96jamkové mikrodoštičky vybavená filtrom 450 nm a referenčným filtrom (620 nm – 650 nm)
* Premývačka mikrotitračných doštičiek (manuálna, poloautomatická alebo automatická)
* Na prípravu reagencií používaných pri vykonávaní testu používajte len destilovanú alebo deionizovanú vodu
* Kryty mikrotitračných doštičiek (veko, hliníková fólia alebo adhezívny kryt)
* Vortex alebo porovnateľné miešacie zariadenie
* Vlhká komora / inkubátor na udržiavanie teploty +37 °C (±2 °C)

Upozornenia a varovania

* So všetkým biologickým materiálom pracujte ako s potenciálne infekčným.
* Pri manipulácii so vzorkami a reagenciami používajte ochranné rukavice / ochranný odev / ochranu očí alebo tváre.
* Ďalšie informácie nájdete v bezpečnostných údajoch o produkte na konci tejto písomnej informácii pre používateľa.
* Varovania a upozornenia týkajúce sa reagencií sú uvedené na konci tejto písomnej informácie pre používateľov.

Laboratórne postupy

* Optimálne výsledky je možné dosiahnuť prísnym dodržaním tohto protokolu. Nevyhnutným predpokladom zachovania presnosti je pozorné pipetovanie, časovanie a premývanie v priebehu postupu. Na nabratie každej vzorky a kontrolnej vzorky použite novú špičku pipety.
* Nevystavujte roztok TMB silnému svetlu ani oxidačným prostriedkom. Pri práci s roztokom TMB používajte čisté sklenené alebo plastové pomôcky.
* Všetky odpadové materiály je potrebné pred likvidáciou starostlivo dekontaminovať. Obsah zlikvidujte v súlade s miestnymi, regionálnymi a národnými predpismi.
* Je potrebné dbať na to, aby nedošlo ku kontaminácii súčastí súpravy. Nespotrebované reagencie nenalievajte späť do nádob.
* Nepoužívajte súpravu po dátume exspirácie.

Príprava reagencií

Premývací roztok

Premývací koncentrát (10X) je potrebné zahriať na teplotu 18 °C – 26 °C a premiešať, aby sa rozpustili prípadne prítomné kryštáliky solí. Premývací koncentrát (10X) je potrebné pred použitím zriediť v pomere 1:10 destilovanou alebo deionizovanou vodou (napr. 30 ml premývacieho koncentrátu plus 270 ml vody na jednu doštičku určenú na analýzu).

Premývací roztok pripravený v sterilných podmienkach je možné uchovávať počas jedného týždňa pri teplote 2 °C – 8 °C.

Postup testu

Všetky reagencie sa musia pred použitím zahriať na teplotu 18 °C – 26 °C. Reagencie je potrebné premiešať miernym prevracaním alebo krúžením.

|  |  |
| --- | --- |
| **1** | Pripravte si doštičky s prevrstveným antigénom a zaznamenajte polohu vzoriek. Ak používate deliteľné doštičky, použite len toľko mikrotitračných prúžkov, koľko je pre analýzu treba. Nepoužité prúžky uložte spolu s desikantom do uzatvárateľného vrecúška, ktoré je súčasťou súpravy, a uchovávajte ich pri teplote 2 °C – 8 °C. |
| **2** | Do jamiek, ktoré budú použité na vzorky a kontrolné vzorky, pipetujte 25 μl riedidla na vzorky. |
| **3** | Do dvoch jamiek testovacej doštičky pipetujte 100 µl negatívnej kontrolnej vzorky (NC) |
| **4** | Do dvoch jamiek testovacej doštičky pipetujte 100 µl pozitívnej kontrolnej vzorky (PC) |
| **5** | Do príslušných jamiek pipetujte 100 µl vzoriek. |
| **6** | Doštičkou jemne zaklepte aby došlo k premiešaniu. |
| **7** | Zakryte jamky a nechajte inkubovať počas 60 minút (±5 minút) pri teplote 37 °C (±2 °C). Aby sa zabránilo odparovaniu, je potrebné doštičky pevne uzatvoriť. |
| **8** | Odstráňte tekutý obsah všetkých jamiek a každú jamku trikrát až päťkrát premyte pomocou približne 300 µl premývacieho roztoku. Je potrebné zabrániť vysychaniu doštičky v čase medzi premývaním a pred pridaním ďalšej reagencie.  Po poslednom odstránení tekutiny dôkladne vyklepte z každej mikrotitračnej doštičky zvyšky premývacej tekutiny na sajúci materiál. |
| **9** | Do každej jamky pipetujte 100 µl detekčného roztoku. |
| **10** | Zakryte jamky a nechajte inkubovať počas 30 minút (±2 minúty) pri teplote 18 °C – 26 °C. |
| **11** | Opakujte krok 8. |
| **12** | Do každej jamky pipetujte 100 µl konjugátu. |
| **13** | Zakryte jamky a nechajte inkubovať počas 30 minút (±2 minúty) pri teplote 18 °C – 26 °C. |
| **14** | Opakujte krok 8. | |
| **15** | Do každej jamky pipetujte 100 µl substrátu TMB č. 12. | |
| **16** | Nechajte inkubovať počas 15 minút (±1 minúta) pri teplote 18 °C – 26 °C a chránené pred priamym svetlom. | |
| **17** | Do každej jamky pridajte 100 µl stop roztoku č. 3. | |
| **18** | Zmerajte a zaznamenajte hodnotu A(450 nm)–A(REF) vzoriek a kontrolných vzoriek. Referenčná vlnová dĺžka je A(620 nm–650 nm). | |
| **19** | Výpočet: | |
| **Kontrolná vzorka** | |



**20** Interpretácia (hov. dobytok, ovce, kozy, byvol indický a bizón):

negravidné gravidné

S – N < 0,300 S – N ≥ 0,300

**Opätovná kontrola gravidity (validované len pri hov. dobytku):** V ranom štádiu gravidity kráv často dochádza k úhynu embryí. PAG môžu v organizme kráv/jalovíc po predčasnom úhyne embryí počas určitej dobu cirkulovať.

Ak je hodnota S – N väčšia ako alebo rovná 0,300 a zároveň je menšia ako 1,000, odporúča

sa vykonať po 7 až 10 dňoch nepovinnú opätovnú kontrolu.

Spoločnosť IDEXX odporúča producentom mlieka, aby úzko spolupracovali so svojim veterinárnym lekárom a mali tak možnosť zostaviť program riadenia reprodukcie, ktorý bude vyhovovať ich prevádzke.

Ak je test neplatný, môže byť pravdepodobnou príčinou chybný pracovný postup. V takom prípade je test potrebné po pozornom preštudovaní písomnej informácie pre používateľov zopakovať. **Poznámka:** Spoločnosť IDEXX má k dispozícii prístrojové a programové vybavenie, ktoré počíta výsledky a generuje dátové súhrny.

Odbornú pomoc získate tu:

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

IDEXX Europe Tel.: +800 727 43399

Obráťte sa na oblastného manažéra alebo distribútora IDEXX alebo navštívte našu webovú stránku idexx.com/contactlpd

\*IDEXX, Alertys a Test With Confidence sú známky alebo registrované známky spoločnosti IDEXX Laboratories, Inc. alebo ich pridružených spoločností v USA a/alebo ďalších krajín.

© 2019 IDEXX Laboratories, Inc. Všetky práva vyhradené.