Alertys **Milk Pregnancy**

Test na určenie teľnosti zo vzoriek mlieka

Názov a určené použitie

Slovenská verzia

Určené len na veterinárne použitie.

Test Alertys Milk Pregnancy je enzýmová imunoanalýza na dôkaz prítomnosti glykoproteínov spojených s teľnosťou (tzv. pregnancy-associated glycoproteins, PAG) v mlieku ako markera teľnosti. Tento test je validovaný na použitie na vzorkách mlieka samíc hovädzieho dobytka, kôz, oviec a byvola indického.

Všeobecné informácie

Presné a včasné určenie teľnosti úžitkových zvierat predstavuje zásadnú súčasť moderných programov riadenej reprodukcie. Veterinárni lekári a farmári využívajú metódu určovania neteľných samíc k tomu, aby vykonali opätovné pripustenie skôr, skrátili dobu medzi otelením a maximalizovali tak produkciu mlieka a výnos farmy.

Vzorky mlieka hovädzieho dobytka

Teľnosť sa pri kravách bežne zisťuje rektálnou palpáciou alebo transrektálnym ultrazvukom (TU). Test Alertys\* Milk Pregnancy predstavuje laboratórnu metódu na určenie teľnosti od ≥ 28 dní po pripustení\*, čo môže veterinárom i farmárom - producentom mlieka poskytnúť dôležitý nástroj identifikácie neteľných kráv a riadenia intervalov medzi otelením. Test je možné používať ≥ 60 dní po otelení.

Vzorky mlieka kôz, oviec a samíc byvola

Presné a včasné určenie gravidity oviec, kôz a samíc byvola predstavuje zásadnú súčasť moderných programov riadenej reprodukcie. Veterinárni lekári a farmári využívajú metódu skorého určovania negravidných oviec, kôz a samíc byvola na to, aby vykonali opätovné pripustenie skôr a maximalizovali tak výnos farmy. Gravidita sa pri samiciach byvola indického bežne potvrdzuje rektálnou palpáciou alebo transrektálnym ultrazvukom. Test Alertys\* Milk Pregnancy predstavuje laboratórnu metódu na určenie gravidity pri kozách od ≥ 28 dní, pri ovciach od ≥ 60 dní a pri samiciach byvola od ≥ 29 dní po pripustení\*, čo môže veterinárom i farmárom - producentom mlieka poskytnúť dôležitý nástroj identifikácie negravidných samíc a riadenie ich reprodukcie. Test je možné používať ≥ 40 dní po pôrodu pri samiciach byvola a ≥ 80 po pôrode pri ovciach.†

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

Popis a zásady testovania

Mikrotitračná doštička je prevrstvená antigénom anti-PAG. Po 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 | 30 |
| 2 | Pozitívna kontrolná vzorka | 1 x 5,0 ml | 1 x 14 ml |
| 3 | Negatívna kontrolná vzorka | 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 | Premývací koncentrát (10X) | 1 x 480 ml | 3 x 480 ml |
| D | Detekčný roztok | 1 x 60 ml | 1 x 350 ml |
| **Ďalšie súčasti:** Uzatvárateľné ZIP vrecúško | | 1 | 1 |

**Poznámka:** V tabuľke na konci tohto dokumentu je uvedený popis symbolov používaných v písomnej informácii a na etikete tejto testovacej sady.

Uchovávanie

Reagencie uchovávajte pri teplotách 2 – 8 °C. Ak sú reagencie správne uchovávané, sú stabilné až do konca 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 96 jamkové mikrodoštičky (vybavená filtrom 450 nm a referenčným filtrom (620 nm - 650 nm)
* Premývačka mikrotitračných doštičiek (manuálna, poloautomatická alebo automatická). IDEXX odporúča používať automatickú premývačku mikrodoštičiek a užívateľom môže sprostredkovať nastavenie špecifické pre test Alertys\* Milk Pregnancy.
* Na prípravu reagencií používaných pri testovaní používajte len destilovanú alebo deionizovanú vodu.
* Kryty mikrotitračných doštičiek (viečko, hliníková fólia alebo adhezívny kryt)
* Trepačka / inkubátor na mikrotitračné doštičky udržujúci teplotu +37 °C (±2 °C) a zabezpečujúci rotáciu 450 ot./min (± 50 ot./min)

Upozornenia a varovanie

* 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 informácie pre používateľov.
* Varovania a upozornenia týkajúce sa reagencií sú uvedené na konci tejto písomnej informácie pre používateľov.

Laboratórne postupy

* Optimálne výsledky môžeme dosiahnuť len pri prísnom dodržiavaní tohto protokolu. Nevyhnutným predpokladom zachovania presnosti je pozorné pipetovanie, časovanie a premývanie v priebehu postupu. Na každú vzorku a kontrolnú vzorku 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 nutné pred likvidáciou 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 nádobiek.
* 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 nutné 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.

Príprava vzoriek

* Nekvalitné vzorky môžu zhoršiť presnosť výsledkov testu. Na zachovanie dobrej kvality vzoriek je možné použiť Bronopol alebo podobný konzervačný prostriedok. Pred testovaním je nutné skontrolovať, či nie sú vzorky mlieka skysnuté alebo zrazené a neobsahujú nečistoty.
* Pri odbere je nutné minimalizovať riziko zámeny vzoriek medzi zvieratami, najmä pri použití vzoriek odoberaných na účely rutinnej evidencie stáda.
* Je možné použiť konzervované alebo čerstvé plnotučné alebo odstredené mlieko. Použiť je možné taktiež mlieko, ktoré v priebehu rutinnej analýzy mliečnych zložiek prechádza tepelnou úpravou. Nie je možné použiť vzorky, ktoré prešli procesom mikrovlnného ohrevu.

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 vzorky. Ak používate deliteľné doštičky, použite len toľko mikrotitračných prúžkov, koľko je na analýzu potrebných. Nepoužité prúžky uložte spolu s desikantom do uzatvárateľného vrecúška, ktorý je súčasťou súpravy, a uchovávajte je pri teplote 2 °C – 8 °C. |
| **2** | Do dvoch jamiek testovacej doštičky napipetujte 150 µl negatívnej kontrolnej vzorky (NC) |
| **3** | Do dvoch jamiek testovacej doštičky napipetujte 150 µl pozitívnej kontrolnej vzorky (PC) |
| **4** | Do príslušných jamiek napipetujte 150 µl vzoriek. |
| **5** | Zakryte jamky a nechajte inkubovať počas 120 minút (±5 min) pri teplote 37 °C (±2 °C) a rotácii 450 ot./min (+/- 50 ot./min). Aby sa zabránilo odparovaniu, je potrebné v tejto fáze doštičky pevne uzatvorené adhezívnymi krytmi. |
| **6** | Roztok odstráňte a každú jamku trikrát premyte približne 300 µl premývacieho roztoku. Doštička nesmie pred premývaním, počas premývania a pred aplikáciou ďalších reagencií vyschnúť.  Po poslednom odstránení tekutiny dôkladne vyklepte z každej mikrotitračnej doštičky zvyšky premývacej tekutiny na sajúci materiál. |
| **7** | Do každej jamky napipetujte 100 µl detekčného roztoku. |
| **8** | Zakryte jamky a nechajte inkubovať počas 30 minút (±2 minúty) pri teplote 18 °C – 26 °C. Aby sa zabránilo odparovaniu, je potrebné doštičky pevne uzatvoriť adhezívnymi krytmi. |
| **9** | Opakujte krok 6. |
| **10** | Do každej jamky napipetujte 100 µl konjugátu. |
| **11** | Zakryte jamky a nechajte inkubovať počas 30 minút (±2 minúty) pri teplote 18 °C – 26 °C. Aby sa zabránilo odparovaniu, je potrebné doštičky pevne uzatvoriť adhezívnymi krytmi. |
| **12** | Opakujte krok 6. |
| **13** | Do každej jamky napipetujte 100 µl substrátu TMB č. 12. |
| **14** | Nechajte inkubovať počas 20 minút (±1 minúta) pri teplote 18°C – 26°C. |
| **15** | Do každej jamky pridajte 100 µl stop roztoku č. 3. |
| **16** | Zmerajte a zaznamenajte hodnotu A(450 nm)–A(REF) vzoriek a kontrolných vzoriek. Referenčná vlnová dĺžka je A(620 nm–650 nm). |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **17** | Výpočet: **Kontrolné vzorky** |  |  |  |
|  |  | |  | |
|  |  |  |  |  |
| **Kritériá platnosti** |  |  |  |
|  |  | |  | |
|  | 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. Stav teľnosti či neteľnosti sa stanovuje podľa opravených hodnôt OD (S – N) pre každú vzorku. | | | |
| **Vzorky** |  |  |  |
|  |  | |  |  |
|  |  |  |  |  |
| **18** Interpretácia: | | | |  |
| **Interpretácia vzoriek kravského mlieka** | | | |  |
| Hodnota S – N Štandardná interpretácia  Pri kravách > 28 dní po pripustení | | | | Voliteľná interpretácia‡  Pri kravách > 45 dní po pripustení |
|  | < 0,100 | Neteľná | | Neteľná |
|  | > 0,100 a < 0,250 | Opätovná kontrola | | Teľná |
|  | > 0,250 | Teľná | |
|  | ‡V ranom štádiu teľnosti často dochádza k úhynu embryí. PAG môžu v organizme kráv po predčasnom úhyne embryí počas určitej dobu pretrvávať. Ak je hodnota S – N vyššia alebo sa rovná 0,100 po 45+ dňoch po pripustení, kravu je možné považovať za teľnú. Údaje o efektivite testu pri kravách > 45 dní po pripustení s využitím voliteľnej interpretácie bez zóny opätovnej kontroly sú uvedené vo validačnej správe k testu Alertys\* Milk Pregnancy. | | | |
| **Interpretácia pre vzorky mlieka kôz, oviec a samíc byvola**  Hodnota S – N Štandardná interpretácia  Kozy > 28, ovce > 60 dní, samice byvola > 29 dní po pripustení | | | |
|  | < 0,100 | Negravidná | | |
|  | > 0,100 a < 0,250 | Opätovná kontrola | | |
|  | > 0,250 | Gravidná | | |
|  | **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 krajinách.

© 2019 IDEXX Laboratories, Inc. Všetky práva vyhradené.

NEBEZPEČIE



|  |
| --- |
| H317 / H412 / P280 / P302 + P352 / P333 + P313 |
| **Pozitívna kontrolná vzorka / negatívna kontrolná vzorka / detekčný roztok** − Môže spôsobiť alergickú kožnú reakciu. Škodlivý pre vodné organizmy s dlhodobými účinkami. Používajte ochranné rukavice. PRI POSTIHNUTÍ KOŽE: Postihnuté miesto umyte mydlom a veľkým množstvom 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** − Spôsobuje ťažké poleptanie kože a poškodenie očí. Môže spôsobiť alergickú kožnú reakciu. Spôsobuje vážne poškodenie očí. Škodlivý pre vodné organizmy s dlhodobými účinkami. Používajte ochranné rukavice / ochranný odev / ochranu očí / ochranu tváre.  PRI POŽITÍ: Vypláchnite ústnu dutinu. NEVYVOLÁVAJTE vracanie. PRI POLIATÍ KOŽE (alebo vlasov): Okamžite vyzlečte všetok kontaminovaný odev. Opláchnite či osprchujte kožu vodou. PRI NADÝCHANÍ SA: Vyveďte postihnutého na čerstvý vzduch a dbajte na to, aby bol v pozícii, v ktorej sa mu najlepšie dýcha. PRI ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút jemne vyplachujte vodou. Vyberte kontaktné šošovky, ak sú nasadené a je ich možno ľahko odstrániť. Pokračujte vo vyplachovaní. |

|  |  |
| --- | --- |
|  | Číslo šarže |
|  | Sériové číslo |
|  | Katalógové číslo |
|  | Diagnostika *in vitro* |
|  | Autorizovaný zástupca v Európskej únii |
|  | Kontrolná pozitívna vzorka |
|  | Kontrolná negatívna vzorka |
|  | Použite do |
|  | Dátum výroby |
|  | Výrobca |
|  | Teplota uchovávania |
|  | Viz návod k použití |
|  | Dôležitá zmena v pokynoch pre používateľa |

*Výrobca*

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive Westbrook,

Maine 04092

USA

*Zástupca v EU*

IDEXX Europe B.V.

P.O. Box 1334 2130 EK Hoofddorp

Holandsko

idexx.com

