



Bovine Pregnancy Test Kit

Kit de détection de gestation chez les bovins

Kit para detecção de prenhez em bovinos

Kit para la detección de Gestación en Bovinos

Trächtigkeits-Testkit für Rinder

Test per il rilevamento della gravidanza nei bovini

IDEXX **Bovine Pregnancy**

06-41169-10

Test With Confidence™

IDEXX

Bovine Pregnancy Test Kit

For veterinary use only.



Name and Intended Use

The IDEXX Bovine Pregnancy Test Kit is an enzyme-linked immunoassay for the detection of early pregnancy-associated glycoproteins (early PAGs) in serum or EDTA plasma of cattle, serum of sheep and goat and EDTA plasma of water buffalo and bison as a marker for pregnancy.

General Information

Accurate and timely detection of pregnancy in dairy cows is an essential component of today's reproductive management programs. Veterinarians and farmers use early detection of non-pregnant (open) cows to enable faster rebreeding and shorten the calving interval, thereby maximizing milk production and revenue for the farm. Traditionally, pregnancy is determined through rectal palpation of the cow or by transrectal ultrasound (TU). The IDEXX Bovine Pregnancy Test Kit provides a laboratory based method for accurate detection of pregnancy as early as 28 days post-breeding and from 21 days post embryo transfer, which can give veterinarians and dairy farmers an important tool for the early identification of pregnant cows. The test can be used ≥ 60 days post calving.



Sheep, goat, water buffalo and bison samples

Accurate and timely detection of pregnancy in sheep, goat, water buffalo and bison is an essential component of today's reproductive management programs. Veterinarians and farmers use early detection of non-pregnant (open) sheep, goat, water buffalo and bison to enable faster rebreeding, thereby maximizing revenue for the farm. Traditionally, pregnancy is determined through rectal palpation of the water buffalo or the bison or by abdominal ultrasound (sheep, goat). The IDEXX Bovine Pregnancy Test Kit provides a laboratory based method for accurate detection of pregnancy from 28 days post-breeding in goats, from 35 days in sheep, and from 30 days in water buffalo.* For bison no earliest day post breeding is validated. The test can be used ≥ 60 days post calving in buffalo.* For sheep and goat no post kidding claim is given.

*Refer to the IDEXX Bovine Pregnancy Test validation report for performance data.

Descriptions and Principles

The IDEXX Bovine Pregnancy Test Kit is an enzyme-linked immunoassay designed to detect the early presence of pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) in serum or EDTA plasma as a marker for pregnancy. A microtiter plate format has been configured by coating an anti-PAG antibody onto the plate. After dilution and incubation of the test sample in the coated well, captured PAG is detected with a PAG-specific antibody (detector solution) and horseradish peroxidase conjugate (HRPO conjugate). Unbound conjugate is washed away and TMB substrate is added to the wells. Color development is proportional to the amount of PAG in the sample.

Reagents		Volume
1	Anti-PAG-Antibody Coated Plate	5
2	Positive Control	1 x 3.5 mL
3	Negative Control	1 x 3.5 mL
4	Conjugate	1 x 60 mL
5	Sample Diluent	1 x 20 mL
A	TMB Substrate N.12	1 x 60 mL
B	Stop Solution N.3	1 x 60 mL
C	Wash Concentrate (10X)	1 x 480 mL
D	Detector Solution	1 x 60 mL
Other Components: Zip lock bag		1

Note: See table at the end of the insert for a description of symbols used on the insert and labels of this kit.

Storage

Store the reagents at 2–8°C. Reagents are stable until expiration date, provided they have been stored properly.

Materials Required but Not Provided

- Precision micropipettes or multi-dispensing micropipettes
- Disposable pipette tips
- Graduated cylinder for wash solution
- 96-well plate reader equipped with 450 nm filter and reference filter (620 nm – 650 nm)
- Microplate washer (manual, semi-automatic or automatic system)
- Use only distilled or deionized water for preparation of the reagents used in the test
- Microplate covers (lid, aluminium foil or adhesive)
- Vortex or equivalent
- Humid Chamber/ Incubator capable of maintaining a temperature of +37°C (±2°C)

Precautions and Warnings

- Handle all biological material as potentially infectious.
- Wear protective gloves / protective clothing / eye or face protection when handling samples and reagents.
- Refer to the product Material Safety Data Sheet for additional information.
- See the end of this insert for reagent hazard and precaution warnings.

Laboratory Practices

- Optimal results will be obtained by strict adherence to this protocol. Careful pipetting, timing, and washing throughout this procedure are necessary to maintain precision and accuracy. Use a separate pipette tip for each sample and control.
- Do not expose TMB solution to strong light or any oxidizing agents. Handle TMB solution with clean glass or plastic ware.

- All wastes should be properly decontaminated prior to disposal. Dispose of contents in accordance with local, regional, and national regulations.
- Care should be taken to prevent contamination of kit components. Do not pour unused reagents back into containers.
- Do not use kit past expiration date.

Preparation of Reagents

Wash Solution

The Wash Concentrate (10X) should be brought to 18–26°C and mixed to ensure dissolution of any precipitated salts. The Wash Concentrate (10X) must be diluted 10-fold (1/10) with distilled/deionized water before use (e.g., 30 mL of concentrate plus 270 mL of water per plate to be assayed).

When prepared under sterile conditions, the Wash Solution can be stored for one week at 2–8°C.

Test Procedure

All reagents must be allowed to come to 18–26°C before use. Reagents should be mixed by gentle inverting or swirling.

- 1 Obtain coated plates and record the sample position. If using partial plates, remove only those wells sufficient for samples to be tested. Place the remaining wells, along with the desiccant, in the extra zip lock bag provided and return to 2–8°C.

- 2 Dispense 25 μL of Sample Diluent into wells which will be used for samples and Controls.

- 3 Dispense 100 μL of Negative Control (NC) into two wells of the assay plate.

- 4 Dispense 100 μL of Positive Control (PC) into two wells of the assay plate.

- 5 Dispense 100 μL of samples into appropriate wells.

- 6 Gently tap plate to mix.

- 7 Cover the wells and incubate 60 minutes (± 5 minutes) at 37°C ($\pm 2^\circ\text{C}$). The plates should be tightly sealed to avoid evaporation.

- 8 Remove the solution and wash each well with approximately 300 μL of Wash Solution 3–5 times. Avoid plate drying between plate washings and prior to the addition of the next reagent. Tap each plate onto absorbent material after the final wash to remove any residual wash fluid.

- 9 Dispense 100 μL of Detector Solution into each well.

- 10 Cover the wells and incubate for 30 minutes (± 2 minutes) at 18–26°C.

- 11 Repeat step 8.

- 12 Dispense 100 μL of Conjugate into each well.

- 13 Cover the wells and incubate for 30 minutes (± 2 minutes) at 18–26°C.

14 Repeat step 8.

15 Dispense 100 μ L of TMB Substrate N.12 into each well.

16 Incubate for 15 minutes (\pm 1 minute) at 18–26°C away from direct light.

17 Dispense 100 μ L of Stop Solution N.3 into each well.

18 Measure and record the A(450 nm)–A(REF) for samples and Controls. The reference wavelength is A(620 nm–650 nm).

19 Calculation:

Controls

$$NC\bar{x} = \frac{NC1 A(450-REF) + NC2 A(450-REF)}{2}$$

$$PC\bar{x} = \frac{PC1 A(450-REF) + PC2 A(450-REF)}{2}$$

Validity criteria

$$PC\bar{x} - NC\bar{x} \geq 0.300$$

$$NC\bar{x} \leq 0.150$$

Samples

$$S - N = \text{Sample A}(450-REF) - NC\bar{x}$$

 20 Interpretation (cattle, sheep, goat, water buffalo and bison):

Open

Pregnant

$$S - N < 0.300$$

$$S - N \geq 0.300$$

Pregnant-Recheck (validated in cattle only): Embryonic death is common in early stages of cow pregnancy. PAGs can circulate in cows/heifers for some time after early embryonic death.

An optional recheck of the animal 7 to 10 days later is recommended if the S – N value is equal to or greater than 0.300 and less than 1.000.

IDEXX encourages producers to work closely with their veterinarian to develop a reproductive management program that is appropriate for their operation.

For invalid assays, technique may be suspect and the assay should be repeated following a thorough review of the package insert. **Note:** IDEXX has instrument and software systems available that calculate results and provide data summaries.

For technical assistance:

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

IDEXX Europe Tel: +800 727 43399

Contact your IDEXX area manager or distributor or visit our website: idexx.com/contact/pd

IDEXX and Test With Confidence are trademarks or registered trademarks of IDEXX Laboratories, Inc. or its affiliates in the United States and/or other countries.

© 2017 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved.

Kit de détection de gestation chez les bovins

Réservé à l'usage vétérinaire.



Définition et application

Le kit de détection de gestation commercialisé par IDEXX est un test immuno-enzymatique permettant de détecter précocement les glycoprotéines associées à la gestation (PAG précoces), marqueurs d'une insémination réussie, dans le sérum ou le plasma EDTA bovins, le sérum ovin et caprin et le plasma EDTA de bufflonnes d'eau et de bissonnes.

Informations Générales

Détecter avec précision et dans les meilleurs délais les vaches laitières gestantes est une composante essentielle des programmes actuels de gestion de la reproduction. En effet, la détection précoce des vaches non gestantes permet aux vétérinaires et aux éleveurs de procéder à une seconde insémination plus rapidement et ainsi raccourcir l'intervalle entre les vêlages, optimisant alors la production laitière et le chiffre d'affaires de l'exploitation. Généralement, la gestation est constatée par palpation ou échographie transrectale chez la vache. Le kit de détection de gestation pour bovins IDEXX est un test de laboratoire permettant de détecter avec précision une gestation dès 28 jours post-insémination et dès 21 jours après transfert d'embryon, ce qui offre aux vétérinaires et aux exploitations laitières un outil appréciable pour identifier précocement les vaches gestantes. Le kit peut être utilisé à partir de 60 jours post-vêlage.



Échantillons de brebis, chèvre, bufflonne d'eau et bissonne

La détection précise et rapide de la gestation chez la brebis, la chèvre, la bufflonne d'eau et la bissonne est un élément essentiel des programmes actuels de gestion de la reproduction. Les vétérinaires et les éleveurs ont recours à la détection précoce des brebis, des chèvres, des bufflonnes d'eau et des bissonnes non gestantes (non saillies) pour permettre une nouvelle fécondation plus rapide, optimisant ainsi les revenus de l'éleveur. Traditionnellement, la gestion est déterminée par toucher rectal de la bufflonne d'eau ou de la bissonne ou par ultrason abdominal (brebis, chèvre). Le kit de test de gestation bovine IDEXX fournit une méthode de détection précise de la gestation, réalisée en laboratoire 28 jours après l'insémination chez les chèvres, 35 jours chez les brebis et 30 jours chez la bufflonne d'eau.* Pour la bissonne, le délai après insémination n'est pas plus court. Le test peut être utilisé \geq 60 jours après le vêlage chez la bufflonne*. En ce qui concerne la brebis et la chèvre, il n'existe aucune recommandation de délai après la mise bas.

*Pour les données de performance, veuillez vous référer au rapport de validation du test IDEXX Bovine Pregnancy.

Description et principe

Le kit de détection de gestation IDEXX est un test immunoenzymatique conçu pour détecter précocement dans le sérum ou le plasma EDTA les glycoprotéines associées à la gestation (PAG) qui servent de marqueur de la gestation. Le kit se présente sous la forme d'une microplaque sensibilisée avec des anticorps anti-PAG. Après dilution et incubation de l'échantillon à tester dans un puits sensibilisé, les PAG qui se sont liées sont mises en évidence à l'aide d'un anticorps anti-PAG (solution de détection) et d'un conjugué à la peroxydase de raifort (conjugué HRPO). Le conjugué non lié est éliminé par lavage et le substrat TMB est distribué dans les puits. La coloration qui apparaît est proportionnelle à la quantité de PAG présentes dans l'échantillon.

Réactifs		Volume
1	Plaque sensibilisée avec des anticorps anti-PAG	5
2	Contrôle positif	1 x 3,5 ml
3	Contrôle négatif	1 x 3,5 ml
4	Conjugué	1 x 60 ml
5	Diluant des échantillons	1 x 20 ml
A	Substrat TMB N°12	1 x 60 ml
B	Solution d'arrêt N°3	1 x 60 ml
C	Solution de lavage concentrée (10X)	1 x 480 ml
D	Solution de détection	1 x 60 ml
Autres composants: sachet plastique hermétique réutilisable		1

Remarque: voir le tableau à la fin du mode d'emploi pour la description des symboles utilisés dans ce mode d'emploi et sur les étiquettes de la trousse.

Conservation

Conservé les réactifs à 2–8°C. Les réactifs sont stables jusqu'à leur date de péremption à condition d'être conservés correctement.

Matériel nécessaire mais non fourni

- Pipettes de précision ou pipettes multicanaux
- Embouts de pipette à usage unique
- Éprouvette graduée pour la préparation de la solution de lavage
- Lecteur de plaques 96 puits permettant une lecture en bichromatisme à 450 nm et possédant un filtre de référence (620 nm-650 nm)
- Système de lavage manuel, semi-automatique ou automatique
- Utiliser de l'eau distillée ou désionisée pour la préparation des réactifs
- Couverts pour microplaques, aluminium ou adhésifs
- Vortex ou équivalent
- Chambre humide / Incubateur de plaques à +37°C (±2°C)

Précautions d'emploi et mises en garde

- Manipuler tout matériel biologique comme étant potentiellement infectieux.
- Porter des gants de protection / des vêtements de protection / un équipement de protection des yeux ou du visage lors de la manipulation des échantillons et des réactifs.
- Se reporter à la fiche de sécurité du produit pour plus d'informations.
- Voir à la fin du mode d'emploi pour les risques et mesures de prévention liés aux réactifs.

Pratiques de laboratoire

- Des résultats optimaux seront obtenus en se conformant de manière stricte au protocole fourni. La précision du test dépend des éléments suivants: pipetage, minutage et lavage minutieux au cours de cette procédure. Utiliser un embout de pipette différent pour chaque échantillon et chaque contrôle.
- Ne pas exposer la solution de substrat TMB à la lumière directe du soleil ou à des agents oxydants. Veiller à la propreté de la verrerie et/ou du matériel de laboratoire en matière plastique utilisés lors de sa manipulation.
- Tous les déchets doivent être correctement décontaminés avant leur élimination. Éliminer les contenus selon les réglementations locales, régionales et nationales en vigueur.
- Éviter la contamination des composants du kit. Ne pas verser les réactifs non utilisés de nouveau dans les conteneurs.
- Ne pas utiliser les trousse après leur date de péremption.

Préparation des réactifs

Solution de lavage

La Solution de lavage concentrée (10X) doit être portée à 18–26°C et homogénéisée pour à assurer la dissolution complète d'éventuels cristaux. La Solution de lavage concentrée doit être diluée au 1:10 e dans de l'eau distillée ou déionisée avant utilisation (ex.: 30 ml de concentré + 270 ml d'eau par plaque à analyser). Lorsqu'elle est préparée dans des conditions stériles, la Solution de lavage peut être conservée pendant une semaine à 2–8°C.

Mode opératoire

Porter tous les réactifs à 18–26°C avant utilisation et bien homogénéiser par agitation douce ou inversion.

- 1 Réserver le nombre de plaque(s) sensibilisée(s) nécessaire(s) à la manipulation et établir le plan de distribution d'échantillons sur la microplaque. En cas d'utilisation d'une portion de plaque seulement, retirer le nombre de barrettes requises pour les échantillons à tester et replacer le reste de la plaque dans le sachet plastique fournis avec le dessicant à 2–8°C.

- 2 Distribuer 25 µl de Diluant des échantillons dans les puits qui seront utilisés pour les échantillons et Contrôles.

- 3 Distribuer 100 µl de Contrôle négatif (CN) dans deux puits appropriés.

- 4 Distribuer 100 µl de Contrôle positif (CP) dans deux puits appropriés.

- 5 Distribuer 100 µl d'échantillons dans les puits appropriés.

- 6 Agiter brièvement la microplaque pour mélanger.

- 7 Couvrir la microplaque et incuber à 37°C (±2°C) pendant 60 minutes (±5 minutes). Les microplaques doivent être scellées hermétiquement pour éviter toute évaporation.

- 8 Éliminer le liquide contenu dans les puits de la microplaque et laver 3–5 fois chaque puits avec environ 300 µl de Solution de lavage. Éviter la dessiccation des puits de la microplaque entre les lavages et préalablement à la distribution du prochain réactif. Après le dernier lavage, vider le liquide résiduel contenu dans les puits par retournement et tapotement de la plaque sur du papier absorbant.

- 9 Distribuer 100 µl de Solution de détection dans chaque puits.

- 10 Couvrir la microplaque et incuber à 18–26°C pendant 30 minutes (±2 minutes).

- 11 Répéter l'étape 8.

- 12 Distribuer 100 µl de Conjugué dans chaque puits.

- 13 Couvrir la microplaque et incuber à 18–26°C pendant 30 minutes (±2 minutes).

- 14 Répéter l'étape 8.

- 15 Distribuer 100 µl de Substrat TMB N°12 dans chaque puits.

- 16 Incuber pendant 15 minutes (±1 minute) à 18–26°C à l'abri de la lumière.

17 Distribuer 100 µl de Solution d'arrêt N°3 dans chaque puits.

18 Lire les densités optiques des échantillons et des Contrôles en bichromatisme à A(450)–A(REF) et consigner les résultats. La longueur d'onde de référence est 620 nm–650 nm.

19 Calculs:

Contrôles

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A(450-REF) + CN2 A(450-REF)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A(450-REF) + CP2 A(450-REF)}{2}$$

Critères de validité

$$CP\bar{x} - CN\bar{x} \geq 0,300$$

$$CN\bar{x} \leq 0,150$$

Si le test est invalide, la technique doit être suspectée et le test répété en suivant scrupuleusement le mode opératoire.

Échantillons

$$E - N = \text{Echantillon A(450-REF)} - NC\bar{x}$$

 20 Interprétation (bétail, brebis, chèvre, bufflonne d'eau et bisonne):

Non-gestante

$$E - N < 0,300$$

Gestante

$$E - N \geq 0,300$$

Gestante à révérifier (validé sur bovins uniquement): la mort embryonnaire est un phénomène fréquent aux stades précoces de la gestation chez la vache. Une fois la mort embryonnaire précoce survenue, les PAGs peuvent encore circuler un certain temps chez la vache/génisse.

Un re-test optionnel de l'animal 7 à 10 jours plus tard est conseillé lorsque la valeur E – N obtenue est supérieure ou égale à 0,300 et inférieure à 1,000.

IDEXX recommande aux éleveurs de travailler en étroite collaboration avec leur vétérinaire à l'élaboration d'un programme de gestion de la reproduction adapté à leur ferme.

Note: IDEXX fournit équipements et logiciels pour le calcul des résultats et la synthèse des données.

Pour l'assistance technique:

IDEXX É.-U. Tél.: +1 800 548 9997 ou +1 207 556 4895

IDEXX Europe Tél.: +800 727 43399

Contactez votre chef de secteur d'IDEXX ou votre distributeur ou visitez notre site web: idexx.com/contact

IDEXX et Test With Confidence sont des marques de commerce ou des marques déposées d'IDEXX Laboratories, Inc. ou ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays.

© 2017 IDEXX Laboratories, Inc. Tous droits réservés.

Kit para detecção de prenhez em bovinos

Para uso exclusivamente veterinário.



Nome e Indicações

O Kit para detecção de prenhez em bovinos da IDEXX é um imunoenensaio enzimático para detecção precoce de glicoproteínas associadas à gestação (PAGs precoces) em soro ou plasma com EDTA de bovinos, soro de ovinos e caprinos, plasma com EDTA de búfalos e bisões, como marcadores de prenhez.

Informações gerais

A detecção precisa e em momento oportuno da prenhez no gado leiteiro é parte essencial dos programas de gestão reprodutiva atuais. Os veterinários e agricultores utilizam a detecção precoce de vacas não-prenhes (vazias) para possibilitar o acasalamento mais rápido e reduzir o intervalo entre partos, maximizando assim a produção do leite e o faturamento da fazenda. Tradicionalmente, a prenhez é determinada pela palpação retal da vaca ou por ultrassonografia transretal (UT). O Kit para detecção de prenhez em bovinos da IDEXX oferece um método laboratorial para detectar com precisão a prenhez a partir de 28 dias após o acasalamento e a partir de 21 dias após transferência de embrião, proporcionando aos veterinários e criadores de gado leiteiro uma importante ferramenta para identificar precocemente as vacas prenhes. O teste pode ser usado a partir de 60 dias pós-parto.



Amostras de ovelhas, cabras, búfalas e bisão

A detecção precisa e precoce da prenhez em ovinos, caprinos, búfalos e bisão é um componente dos programas de gestão reprodutiva atuais. Veterinários e produtores utilizam a detecção precoce de animais vazios em ovinos, caprinos, búfalos e bisão para permitir uma ressincronização mais rápida, desse modo maximizando o lucro da fazenda. Tradicionalmente, a prenhez é determinada através da palpação retal em búfalas e bisões e por ultra-som abdominal em cabras e ovelhas. O kit para detecção de prenhez em bovinos da IDEXX fornece um Método de laboratório para detecção precisa da prenhez a partir de 28 dias em cabras, 35 dias em ovelhas, e de 30 dias em búfalos.* Para bisão não está validado para detecção precoce. O teste pode ser utilizado após ≥ 60 dias do parto em búfalos.* Para ovelhas e cabras, não é apresentado recomendação de uso pós-parto.

*Verificar o relatório de validação para dados de desempenho.

Descrição e Princípios

O Kit para detecção de prenhez em bovinos da IDEXX é um imunoenensaio enzimático projetado para detectar precocemente a presença das glicoproteínas associadas à gestação (PAGs) em soro ou plasma com EDTA, como marcadores de prenhez. O teste consiste em um ensaio em placa de microtitulação e emprega placas recobertas com anticorpos anti-PAG. Após a diluição e incubação da amostra a ser testada na cavidade impregnada, a PAG capturada é detectada juntamente com um anticorpo específico da PAG (solução detectora) e um conjugado de peroxidase e raiz forte (Conjugado HRPO). Na próxima etapa, o conjugado que não se ligou é lavado e o Substrato tetrametilbenzidina (TMB) é acrescentado às cavidades. O desenvolvimento da coloração é proporcional à quantidade de PAG na amostra.

Reagentes		Volume
1	Placa Impregnada com anticorpos anti-PAG	5
2	Controle Positivo	1 x 3,5 ml
3	Controle Negativo	1 x 3,5 ml
4	Conjugado	1 x 60 ml
5	Diluyente de Amostras	1 x 20 ml
A	Substrato TMB No.12	1 x 60 ml
B	Solução de Interrupção No.3	1 x 60 ml
C	Concentrado de Lavagem (10X)	1 x 480 ml
D	Solução Detectora	1 x 60 ml
Otros componentes: Embalagem zip		1

Nota: Ver a tabela no final do inserte para uma descrição dos símbolos utilizados no inserte e nos rótulos deste kit.

Armazenagem

Conservar os reagentes a 2–8°C. Os reagentes são estáveis até a data de validade, desde que sejam devidamente conservados.

Materiais Necessários, mas Não Fornecidos

- Micropipetas de precisão e micropipetas multicanal
- Ponteiras de pipeta descartáveis
- Proveta graduada para a solução de lavagem
- Leitor de placas de 96 cavidades equipado com filtro de 450 nm e filtro de referência (620 nm–650 nm)
- Lavador de microplaca (sistema manual, semi-automático ou automático)
- Usar somente água destilada ou deionizada para o preparo dos reagentes usados no teste.
- Tampa para placas (tampa plástica, papel alumínio ou adesivo).
- Vórtex ou equivalente
- Câmara Úmida / Incubadora capaz de manter uma temperatura de +37°C (± 2°C)

Precauções e Advertências

- Manipular todos os materiais biológicos como potencialmente infectantes.
- Usar luvas de proteção / vestuário de proteção / proteção ocular ou facial ao manusear amostras e reagentes.
- Consultar o Ficha de Segurança produto para informações adicionais.
- Ver no final do protocolo para os perigos e medidas de prevenção relacionados com os reagentes.

Práticas laboratoriais

- Resultados ótimos serão obtidos seguindo-se rigorosamente o protocolo deste teste. Pipetagem cuidadosa, observação dos tempos de incubação e lavagens corretas durante todo o procedimento são necessários para manter a precisão e acurácia. Usar uma ponteira diferente para cada amostra e controle.
- Não expor a solução de TMB à luz forte ou a agentes oxidantes. Manusear a solução de TMB em recipientes limpos de vidro ou plástico.
- Todos os resíduos devem ser descontaminados adequadamente antes do descarte. Descartar os conteúdos de acordo com as normas locais, regionais e nacionais.
- Ter cuidado para evitar a contaminação dos componentes do kit. Não devolver a sobra do reagente ao frasco.
- Não utilizar kits com prazo de validade vencido.

Preparo das reagentes

Solução de Lavagem

O Concentrado de Lavagem (10X) deve atingir à 18–26°C e ser agitado para dissolver quaisquer sais precipitados. O Concentrado de Lavagem deve ser diluído 10 vezes (1/10) em água destilada ou deionizada antes do uso (p.ex., 30 mL de concentrado mais 270 mL de água por placa de teste). Quando preparada em condições estéreis, a Solução de Lavagem pode ser armazenada por uma semana a 2–8°C.

Procedimento de Teste

Todos os reagentes devem ser mantidos a 18–26°C antes da utilização. Misturar reagentes invertendo suavemente ou realizando movimentos circulares.

- 1 Obter a(s) placa(s) impregnada(s) e anotar a posição da amostra. Se utilizar parcialmente as placas, remover apenas as cavidades suficientes para as amostras a serem testadas. Guardar as cavidades remanescentes com o dissecante no saco ziplock fornecido adicionalmente e armazenar entre 2–8°C.

- 2 Dispensar 25 μ l de diluente de amostras nas cavidades que serão utilizados para as amostras e Controles.

- 3 Dispensar 100 μ l de Controle Negativo (CN) em duas cavidades da placa de ensaio.

- 4 Dispensar 100 μ l de Controle Positivo (CP) em duas cavidades da placa de ensaio.

- 5 Dispensar 100 μ l de amostras nas cavidades apropriadas.

- 6 Bater levemente a placa para misturar.

- 7 Cobrir as cavidades e incubar por 60 minutos (\pm 5 minutos) a 37°C (\pm 2°C). As placas devem ser firmemente seladas para evitar evaporação.

- 8 Remover o conteúdo líquido das cavidades da placa e lavar cada cavidade com aproximadamente 300 μ l de Solução de Lavagem por 3–5 vezes. Evitar que a placa seque entre as lavagens e antes da adição do próximo reagente. Após a lavagem final, remover o fluido residual de lavagem de cada placa batendo-a firmemente em material absorvente.

- 9 Dispensar 100 μ l de Solução Detectora em cada cavidade.

- 10 Cobrir as cavidades e incubar por 30 minutos (\pm 2 minutos) à 18–26°C.

- 11 Repetir a etapa 8.

- 12 Dispensar 100 μ l de Conjugado em cada cavidade.

- 13 Cobrir as cavidades e incubar por 30 minutos (\pm 2 minutos) à 18–26°C.

- 14 Repetir a etapa 8.

- 15 Dispensar 100 μ l de Substrato TMB No.12 em cada cavidade.

- 16 Incubar por 15 minutos (\pm 1 minuto) à 18–26°C longe da luz direta.

- 17 Dispensar 100 μ l de Solução de Interrupção No.3 em cada cavidade.

18 Medir e anotar os resultados de A(450 nm)–A(REF) das amostras e Controles. O comprimento de onda de referência é A(620 nm–650 nm).

19 Cálculos:

Controles

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A(450-REF) + CN2 A(450-REF)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A(450-REF) + CP2 A(450-REF)}{2}$$

Critérios de Validade


$$CP\bar{x} - CN\bar{x} \geq 0,300$$

$$CN\bar{x} \leq 0,150$$

Para testes inválidos, deve-se suspeitar da técnica, e o teste deve ser repetido após a revisão cuidadosa do protocolo do produto.

Amostras

$$A - N = \text{Amostra A(450-REF)} - NC\bar{x}$$

 **20** Interpretação (vacas, ovelhas, cabras, búfalas e bisão):

Aberta

$$A - N < 0,300$$

Prenha

$$A - N \geq 0,300$$

Reteste de prenhez (validado somente para bovinos): a morte embrionária é comum nos primeiros estágios de gestação das vacas e as PAGs podem continuar circulante nesses animais por algum tempo após a morte embrionária.

Sendo assim, o reteste é recomendado de 7 a 10 dias mais tarde em caso de valores A – N iguais ou maiores que 0,300 e menores que 1,000.

A IDEXX aconselha os produtores a desenvolver juntamente com o veterinário um programa de controle reprodutivo apropriado para cada rebanho.

Para ensaios inválidos, a técnica pode ser suspeita e o ensaio deve ser repetido após uma revisão completa do folheto informativo.

Nota: IDEXX têm instrumentos e software disponíveis para o cálculo de resultados e a elaboração de resumo de dados.

Para assistência técnica:

IDEXX EUA Tel: +1 800 548 9997 ou +1 207 556 4895

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Contacte o representante local ou distribuidor IDEXX ou visite: idexx.com/contactlptd

PRODUTO IMPORTADO. USO VETERINÁRIO.

REPRESENTANTE EXCLUSIVO NO BRASIL

IDEXX BRASIL LABORATÓRIOS LTDA. Cotia-SP

R. Santa Clara, nº 236, Parque Ind. San José

CEP: 06715-867, CNPJ: 00.377.455/0001-20

Resp.Tec.: Andrea Leão Carneiro CRMV-SP: 30.632

IDEXX e Test With Confidence são marcas ou marcas registradas de IDEXX Laboratories Inc. ou de suas filiais nos Estados Unidos e/ou em outros países.

© 2017 IDEXX Laboratories, Inc. Todos os direitos reservados.

Kit para la detección de Gestación en Bovinos

Para uso veterinario exclusivo.



Nombre y uso propuesto

El kit para la detección de Gestación en Bovinos de IDEXX es un inmunoensayo enzimático para detectar la presencia temprana de glicoproteínas asociadas a la gestación (PAG tempranas) en suero o plasma EDTA de bovino, suero de ovino y caprino y plasma EDTA de búfalo de agua y bisonte, que actúan como marcadores de la gestación.

Información general

La detección exacta y en el momento adecuado de la gestación en vacas lecheras es un elemento esencial en los actuales programas de reproducción y gestación. Veterinarios y ganaderos usan la detección temprana de las vacas no gestantes (vacías) para que la recría sea más rápida y para acortar el intervalo entre partos, maximizando así la producción láctea y los ingresos de la explotación. De manera tradicional, la gestación se determina mediante palpación rectal de la vaca o por ecografía transrectal. El kit para la detección de Gestación en Bovinos de IDEXX proporciona un método analítico para detectar de manera exacta la gestación sólo 28 días después de la inseminación y 21 días después de la transferencia de embriones, lo que supone para veterinarios y ganaderos una herramienta importante de identificación temprana de las vacas gestantes. La prueba puede ser usada a partir de 60 días post parto.



Muestras de oveja, cabra, búfalo de agua y bisonte

La detección de la gestación precisa y oportuna de la oveja, cabra, búfalo de agua y bisonte es un componente fundamental de los programas de gestión de la reproducción de hoy en día. Los veterinarios y granjeros usan la detección precoz de no gestación (abierta) en la oveja, cabra, búfalo de agua y bisonte porque les permite repetir la monta más rápidamente, maximizando, por tanto, los ingresos de la granja. Tradicionalmente, la gestación se ha determinado mediante palpación rectal del búfalo de agua o el bisonte o mediante ecografía abdominal (oveja, cabra). El Kit para la detección de Gestación en Bovinos IDEXX proporciona un método basado en análisis de laboratorio para la detección precisa de gestación a partir de 28 días tras el apareamiento en el caso de la cabra, a partir de 35 días en el caso de la oveja, y a partir de 30 días en el caso del búfalo de agua.* En el caso del bisonte, no se ha validado el día más temprano tras el apareamiento. Se puede realizar la prueba ≥ 60 días después del parto en el caso del búfalo.* No se ha proporcionado ninguna afirmación post-parto en el caso de la oveja y la cabra.

*Referirse al informe de validación de la prueba IDEXX Bovine Pregnancy para los datos de rendimiento.

Descripción y principios

El kit para la detección de Gestación en Bovinos de IDEXX es un inmunoensayo enzimático diseñado para descubrir la presencia temprana de glicoproteínas asociadas a la gestación (PAG) en suero o EDTA, que actúan como marcadores de la gestación. Se ha creado un formato de placa de microtitulación revistiendo la placa con un anticuerpo anti-PAG. Tras la dilución e incubación de la muestra de análisis en el pocillo revestido, se detectan las PAG capturadas con un anticuerpo específico frente a las PAG (solución de detección) y un conjugado de peroxidasa de rábano picante (Conjugado HRPo). Mediante un lavado se elimina el conjugado no ligado y se añade entonces el substrato TMB a los pocillos. La aparición de coloración es proporcional a la cantidad de PAG en la muestra.

Reactivos		Volumen
1	Placa tapizada con Anticuerpos anti-PAG	5
2	Control Positivo	1 x 3,5 ml
3	Control Negativo	1 x 3,5 ml
4	Conjugado	1 x 60 ml
5	Diluyente de la Muestra	1 x 20 ml
A	Substrato TMB n.º12	1 x 60 ml
B	Solución de Frenado n.º3	1 x 60 ml
C	Solución de Lavado Concentrada (10X)	1 x 480 ml
D	Solución de Detección	1 x 60 ml
Otros componentes: Bolsa de plástico de cierre hermético reutilizable		1

Nota: Ver tabla al final del protocolo para las explicaciones de los símbolos utilizados en este protocolo y en las etiquetas del kit.

Almacenamiento

Almacenar los reactivos a 2–8°C. Los reactivos son estables hasta su fecha de caducidad, siempre y cuando hayan sido almacenados en las condiciones correctas.

Materiales necesarios que no se suministran

- Micropipetas de precisión y micropipetas multidispensadoras
- Puntas de pipeta desechables
- Probetas graduadas para la solución de lavado
- Lector de placas de 96 pocillos provisto de filtro de 450 nm y filtro de referencia (620-650 nm)
- Lavador de microplacas, manual, semiautomática o automática
- Usar sólo agua destilada o desionizada para preparar los reactivos de la prueba
- Cubiertas de placas (tapa, papel de aluminio o adhesivo, etc)
- Vortex o equivalente
- Cámara húmeda/Incubadora capaz de mantener una temperatura de +37°C (\pm 2°C)

Precauciones y advertencias

- Considerar todo material biológico como potencialmente infeccioso cuando se manipule.
- Usar guantes de protección / prendas de protección / gafas o protección de la cara al manipular muestras y reactivos.
- Consultar la Ficha de Datos de Seguridad de Materiales del producto para obtener información adicional.
- Consultar al final de este protocolo para los peligros y medidas de prevención relacionados con los reactivos.

Prácticas de laboratorio

- Los resultados óptimos se obtendrán siguiendo estrictamente este protocolo. El pipeteo cuidadoso, la coordinación y el lavado durante todo este procedimiento son necesarios para mantener la precisión y exactitud. Usar una punta de pipeta diferente para cada muestra y control.
- No exponer las soluciones TMB a la luz fuerte o a cualquier agente oxidante. Manejar el Substrato TMB con material de cristal limpio o material plástico.
- Todos los desechos deben descontaminarse adecuadamente antes de ser eliminados. Desechar el contenido de conformidad con las regulaciones locales, regionales y nacionales.
- Extremar la precaución para evitar la contaminación de los componentes del kit. No verter los reactivos no utilizados de nuevo en contenedores.
- No utilizar los kits pasada su fecha de caducidad.

Preparación de los reactivos

Solución de Lavado

La Solución de Lavado Concentrada (10X) debe estar a 18–26°C y mezclarse bien para garantizar la disolución de las sales que hayan podido precipitar. Antes de utilizarse, la Solución de Lavado Concentrada (10X) se debe diluir 1:10 con agua destilada o desionizada (p. ej., 30 ml de solución concentrada en 270 ml de agua por cada placa que se vaya a analizar). La Solución de Lavado preparada en condiciones estériles se puede conservar durante una semana a 2–8°C.

Procedimiento de la Prueba

Debe dejarse que todos los reactivos adquieran 18–26°C antes de usarlos. Los reactivos deberán mezclarse invirtiéndolos o agitándolos suavemente.

- 1 Tomar la placa(s) tapizada(s) y marcar la posición de la muestra. Si no se utiliza toda la placa, separar únicamente los pocillos necesarios para analizar las muestras. Guardar el resto de pocillos, junto con el desecante, en la bolsa de plástico de cierre hermético reutilizable y volver a almacenar a 2–8°C.

- 2 Dispensar 25 μ l de Diluyente de la Muestra en los pocillos que se utilizarán para las muestras y los Controles.

- 3 Dispensar 100 μ l de Control Negativo (CN) en dos pocillos de la placa de análisis.

- 4 Dispensar 100 μ l de Control Positivo (CP) en dos pocillos de la placa de análisis.

- 5 Dispensar 100 μ l de muestras en los pocillos adecuados.

- 6 Homogeneizar el contenido mediante agitación de la placa.

- 7 Cubrir los pocillos e incubarlos durante 60 minutos (\pm 5 min.) a 37°C (\pm 2°C). Las placas deben estar bien selladas para evitar la evaporación.

- 8 Eliminar el contenido líquido de cada pocillo y lavar cada pocillo con aproximadamente 300 μ l de Solución de Lavado 3–5 veces. Evitar que las placas se sequen entre los lavados y antes de añadir el reactivo siguiente. Después del lavado final, eliminar el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola sobre material absorbente.

- 9 Dispensar 100 μ l de Solución de Detección en cada pocillo.

- 10 Cubrir los pocillos e incubar a 18–26°C durante 30 minutos (\pm 2 min.).

- 11 Repetir el paso 8.

- 12 Dispensar 100 μ l de Conjugado en cada pocillo.

- 13 Cubrir los pocillos e incubar a 18–26°C durante 30 minutos (\pm 2 min.).

- 14 Repetir el paso 8.

- 15 Dispensar 100 μ l de Substrato TMB n.º12 en cada pocillo.

- 16 Incube durante 15 minutos (\pm 1 min.) a 18–26°C lejos de la luz directa.

17 Dispensar 100 μ l de Solución de Frenado n.º3 en cada pocillo.

18 Medir y anotar el valor de A(450 nm)–A(REF) de las muestras y los Controles. La longitud de onda de referencia es de A(620–650 nm).

19 Cálculos:

Controles

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A(450-REF) + CN2 A(450-REF)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A(450-REF) + CP2 A(450-REF)}{2}$$

Criterios de Validación

$$CP\bar{x} - CN\bar{x} \geq 0,300$$

$$CN\bar{x} \leq 0,150$$

En los ensayos no válidos, debe sospecharse de la técnica, y el ensayo tiene que repetirse siguiendo una revisión meticulosa del protocolo suministrado con el producto.

Muestras

$$M - N = \text{Muestra A(450-REF)} - NC\bar{x}$$



20 Interpretación (ganado, oveja, cabra, búfalo de agua y bisonte):

Vacías

Gestante

$$M - N < 0,300$$

$$M - N \geq 0,300$$

Gestante-Seguimiento (validado sólo para vacas): la muerte del embrión es común en las primeras etapas de la gestación de la vaca. Las PAG pueden permanecer circulantes en las vacas / novillas durante algún tiempo después de la muerte embrionaria temprana.

Se recomienda repetir el análisis a los 7–10 días si el valor M – N es igual o superior a 0,300 y menor que 1,000.

IDEXX recomienda a los productores trabajar de cerca con su veterinario para desarrollar un programa de manejo reproductivo apropiado para su granja.

Nota: IDEXX tiene a disposición instrumentos y sistemas de software para el cálculo de resultados y la elaboración de resúmenes de datos.

Para asistencia técnica:

IDEXX EE.UU. Tel: +1 800 548 9997 o +1 207 556 4895

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Contacte al representante local o distribuidor IDEXX o visite: idexx.com/contactlpld

N.º de registro: 2192-RD

IDEXX y Test With Confidence son marcas o marcas registradas de IDEXX Laboratories, Inc. o sus filiales en los Estados Unidos de América y/o en otros países.

© 2017 IDEXX Laboratories, Inc. Todos los derechos reservados.

Trächtigkeits-Testkit für Rinder

Gebrauchsinformation. In-vitro-Diagnostikum. Nur zum tierärztlichen Gebrauch.



Name und Verwendungszweck

Der IDEXX Trächtigkeits-Testkit für Rinder ist ein enzymgekoppelter Immunoassay zum Nachweis von trächtigkeitsassoziierten Glykoproteinen (PAG/pregnancy-associated glycoproteins) im Serum oder EDTA-Plasma von Rindern, Serumproben von Schafen und Ziegen sowie EDTA-Plasmaproben von Wasserbüffeln und Bison, die Trächtigkeitmarker sind.

Allgemeine Informationen

Der genaue und rechtzeitige Nachweis der Trächtigkeit bei Milchkühen ist eine unverzichtbare Komponente der heutigen Reproduktionsmanagement-Programme. Tierärzte und Landwirte nutzen die Früherkennung nicht tragender Kühe zur rascheren Nachbesamung und zur Verkürzung der Zwischenkalbezeit, und maximieren dadurch die Milchproduktion und den Ertrag des Betriebs. Die Trächtigkeit wird üblicherweise durch rektale Palpation der Kuh oder durch eine rektale Ultraschalluntersuchung nachgewiesen. Der IDEXX Trächtigkeits-Testkit für Rinder liefert eine Labormethode zum frühen Nachweis der Trächtigkeit schon ab dem 28. Tag nach der Besamung und 21 Tage nach Embryotransfer, was für Tierärzte und Milchviehhalter ein wichtiges Werkzeug zur frühzeitigen Erkennung nicht tragender Kühe darstellen kann. Der Test kann ab 60 Tagen nach der Abkalbung durchgeführt werden.



Schafe, Ziegen, Wasserbüffel und Bison Proben

Die richtige und schnelle Erkennung der Trächtigkeit bei Schafen, Ziegen, Wasserbüffeln und Bisons ist eine wichtige Komponente moderner Reproduktionsmanagement-Programme. Tierärzte und Landwirte nutzen die Früherkennung nicht tragender Schafe, Ziegen, Wasserbüffel und Bisons damit schnell eine erneute Besamung eingeleitet und der Ertrag des Agrarbetriebs maximiert werden kann. Üblicherweise wird die Trächtigkeit bei Wasserbüffeln und bei Bisons durch rektale Abtastung oder bei Schafen und Ziegen durch eine abdominale Ultraschalluntersuchung bestimmt. Das IDEXX Trächtigkeits-Testkit für Rinder liefert eine Labormethode, mit der die Trächtigkeit bei Ziegen innerhalb von 28 Tagen nach der Besamung, bei Schafen innerhalb von 35 Tagen und bei Wasserbüffeln innerhalb von 30 Tagen genau bestimmt werden kann.* Für Bisons wurde bisher kein frühester Tag nach der Besamung validiert. Bei Büffeln kann der Test ≥ 60 Tage nach der Abkalbung eingesetzt werden.* Für Schafe und Ziegen können wir keine Angaben dazu machen, ab welchem Zeitraum nach dem Lammern bzw. Zickeln der Test den Trächtigkeitsstatus verlässlich bestimmen kann.

*Weitere Untersuchungsergebnisse sind dem IDEXX Bovine Pregnancy-Validierungsbericht zu entnehmen.

Beschreibung des Testprinzips

Der IDEXX Trächtigkeits-Testkit für Rinder ist ein Enzym-Immunoassay zum Nachweis der schon früh vorhandenen trächtigkeitsassoziierten Glykoproteine (PAG) im Serum oder EDTA-Plasma, die Trächtigkeitssindikatoren sind. Es wurde ein Mikrotiterformat entwickelt, bei dem ein Anti-PAG-Antikörper in den Plattenvertiefungen gebunden ist. Nach Verdünnung und Inkubation der Probe in den Vertiefungen werden die gebundenen PAG mit einem PAG-spezifischen Antikörper (Detektorlösung) und mit Meerrettichperoxidase-Konjugat (HRPO-Konjugat) nachgewiesen. Nach Entfernung des nicht gebundenen Konjugats durch Waschen wird TMB-Substrat in die Vertiefungen pipettiert. Die Farbentwicklung erfolgt proportional zur Menge der in der Probe enthaltenen PAG.

Reagenzien		Menge
1	Mit Anti-PAG-Antikörper beschichtete Testplatte	5
2	Positive Kontrolle	1 x 3,5 ml
3	Negative Kontrolle	1 x 3,5 ml
4	Konjugat	1 x 60 ml
5	Probenverdünner	1 x 20 ml
A	TMB-Substrat Nr.12	1 x 60 ml
B	Stopplösung Nr.3	1 x 60 ml
C	Waschkonzentrat (10X)	1 x 480 ml
D	Detektorlösung	1 x 60 ml
Sonstige Komponenten: Wiederverwendbarer Druckverschlussbeutel.		1

Hinweis: Am Ende dieser Gebrauchsinformation befindet sich eine Tabelle, welche die im Text und auf den Etiketten verwendeten Symbole erläutert.

Lagerung

Reagenzien bei 2–8°C lagern. Bei entsprechender Lagerung sind die Reagenzien bis zum Verfalldatum stabil.

Notwendiges Material, das nicht mitgeliefert wird

- Präzisionspipetten und Multikanalmikropipetten
- Einweg-Pipettenspitzen
- Graduierter Zylinder für die Waschlösung
- Plattenleser für 96 Vertiefungen mit 450 nm Filter und Referenzfilter (620 nm - 650 nm)
- Manuelles, halbautomatisches oder automatisches Mikrotiterplatten-Waschsystem
- Zur Vorbereitung der Reagenzien nur destilliertes oder demineralisiertes Wasser verwenden
- Abdeckungen für Mikrotiterplatten (Deckel, Alu-Folie oder Klebefolie)
- Vortex-Mischer oder gleichwertiger Mischer
- Feuchte Kammer / Inkubator für eine konstante Temperatur von +37°C ($\pm 2^\circ\text{C}$)

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

- Alle biologischen Substanzen als potenziell infektiös behandeln.
- Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz oder Gesichtsschutz beim Umgang mit Proben und Reagenzien verwenden.
- Weitere Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten.
- Nähere Informationen zur Reagenziensicherheit und Vorsichtsmaßnahmen befinden sich am Ende der Gebrauchsinformation.

Laborpraktiken

- Bei strikter Einhaltung dieser Anweisungen werden optimale Ergebnisse erzielt. Sorgfältiges Pipettieren und Waschen und eine genaue Zeiteinteilung während der Testdurchführung sind notwendig, um die Genauigkeit der Werte zu gewährleisten. Für jede Probe und Kontrolle eine neue Pipettenspitze benutzen.
- Substrat nicht starkem Licht oder oxidierenden Mitteln aussetzen. Nur saubere Glas- oder Plastikbehälter benutzen.
- Alle Abfälle vor der Entsorgung ordnungsgemäß dekontaminieren. Den Inhalt im Einklang mit den lokalen, regionalen und nationalen Bestimmungen entsorgen.
- Eine Verunreinigung der Bestandteile des Testkits sorgfältig vermeiden. Keine unbenutzten Reagenzien zurück in die Originalflaschen schütten.
- Die Bestandteile nicht nach Ablauf des Verfalldatums benutzen.

Vorbereitung der Reagenzien

Waschlösung

Das Waschkonzentrat (10X) auf 18–26°C bringen und möglicherweise ausgefallene Salze durch Schütteln der Flasche auflösen. Das Waschkonzentrat (10X) vor der Verwendung 1:10 mit destilliertem/demineralisiertem Wasser (z. B. 30 ml Konzentrat plus 270 ml Wasser für jede zu testende Platte) verdünnen. Wenn die Waschlösung unter sterilen Bedingungen hergestellt wird, kann sie eine Woche bei 2–8°C aufbewahrt werden.

Testanweisung

Alle Reagenzien müssen vor Gebrauch auf 18–26°C gebracht werden. Die Reagenzien durch leichtes Schütteln mischen.

- 1 Die beschichteten Platten nehmen und die Position der Proben notieren. Falls nur ein Teil der Platte verwendet wird, die notwendige Menge an Vertiefungen entnehmen und den Rest der Platte mit dem Trockenmittel im mitgelieferten Plastikbeutel bei 2–8°C zurückstellen.

- 2 25 µl Probenverdünner in die Vertiefungen pipettieren, die für Proben und Kontrollen verwendet werden.

- 3 100 µl der negativen Kontrolle (NK) in zwei Vertiefungen pipettieren.

- 4 100 µl der positiven Kontrolle (PK) in zwei Vertiefungen pipettieren.

- 5 100 µl der Proben in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren.

- 6 Den Inhalt der Vertiefungen durch vorsichtiges Klopfen an die Seiten der Platte mischen.

- 7 Vertiefungen abdecken und 60 Minuten (±5 Minuten) bei 37°C (±2°C) inkubieren. Zur Vermeidung von Verdunstung müssen die Platten dicht verschlossen werden.

- 8 Den flüssigen Inhalt aus den Vertiefungen absaugen und sodann mit etwa 300 µl Waschlösung 3- bis 5-mal waschen. Dabei ein Austrocknen der Platte zwischen den Waschschrritten und der Zugabe des nächsten Reagenz vermeiden. Nach dem letzten Waschen die Platte auf saugfähigem Material ausklopfen, um verbleibende Restflüssigkeit zu entfernen.

- 9 100 µl Detektorlösung in jede Vertiefung geben.

- 10 Vertiefungen abdecken und 30 Minuten (±2 Minuten) bei 18–26°C inkubieren.

- 11 Arbeitsschritt 8 wiederholen.

- 12 100 µl Konjugat in jede Vertiefung geben.

- 13 Vertiefungen abdecken und 30 Minuten (±2 Minuten) bei 18–26°C inkubieren.

- 14 Arbeitsschritt 8 wiederholen.

- 15 100 µl TMB-Substrat Nr.12 in jede Vertiefung geben.

- 16 15 Minuten (±1 Minute) bei 18–26°C vor direktem Licht geschützt inkubieren.

- 17 100 µl Stopplösung Nr.3 in jede Vertiefung geben.

- 18 Die Extinktionen von Proben und Kontrollen (A[450 nm]-A[REF]) messen und notieren. Die Wellenlänge der Referenz beträgt 620-650 nm.

19 Berechnungen:

Kontrollen

$$NK\bar{x} = \frac{NK1 A(450-REF) + NK2 A(450-REF)}{2}$$

$$PK\bar{x} = \frac{PK1 A(450-REF) + PK2 A(450-REF)}{2}$$

Validitätskriterien

$$PK\bar{x} - NK\bar{x} \geq 0,300$$

$$NK\bar{x} \leq 0,150$$

Ungültige Ergebnisse sind möglicherweise auf eine nicht sachgemäße Durchführung zurückzuführen. Der Test sollte nach erneutem, sorgfältigem Durchlesen der Gebrauchsinformation wiederholt werden.

Proben

$$P - N = \text{Proben } A(450-REF) - NK\bar{x}$$

 20 Interpretation (Rinder, Schafe, Ziegen, Wasserbüffel und Bison):

Nicht trächtig

Trächtig

$$P - N < 0,300$$

$$P - N \geq 0,300$$

Trächtigkeitsnachtestung (nur bei Rindern validiert): Embryonaler Fruchttod kommt in der Frühträchtigkeit häufig vor. PAGs können in Kühen/Färsen nach embryonalem Fruchttod noch eine Zeit lang zirkulieren.

Wir empfehlen daher eine freiwillige Nachtestung des Tieres nach 7 bis 10 Tagen, wenn der P – N-Wert gleich oder größer als 0,300 und weniger als 1,000 ist.

IDEXX empfiehlt den Tierhaltern, eng mit ihrem Tierarzt zusammen zu arbeiten, um ein betriebsspezifisches Fruchtbarkeitsprogramm zu erstellen.

Hinweis: IDEXX bietet auch Geräte und Softwaresysteme zur Berechnung der Ergebnisse und zur Datenverarbeitung an.

Technische Unterstützung:

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

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Kontaktieren Sie Ihren lokalen IDEXX-Vertreter oder besuchen Sie unsere Webseite: idexx.com/contactlpd

IDEXX und Test With Confidence sind Schutzmarken oder eingetragene Schutzmarken von IDEXX Laboratories, Inc. oder eines Tochterunternehmens von IDEXX in den Vereinigten Staaten und/oder in anderen Ländern.

© 2017 IDEXX Laboratories, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

Test per il rilevamento della gravidanza nei bovini

Esclusivamente per uso veterinario.



Nome del prodotto e utilizzo

Il test per il rilevamento della gravidanza nei bovini IDEXX è un saggio immunoenzimatico utilizzato per il rilevamento delle glicoproteine placentari (PAGs, Pregnancy-Associated Glycoproteins) nelle fasi iniziali della gestazione nel siero o nel plasma EDTA dei bovini, siero di pecore e capre e plasma EDTA di bufale e bisonti, come indicatori della gravidanza.

Informazioni generali

Il rilevamento accurato e tempestivo della gravidanza nei bovini da latte rappresenta un aspetto fondamentale dei programmi di gestione della riproduzione attualmente adottati. Veterinari e allevatori ricorrono all'identificazione precoce dei bovini non gravidi (assenza di gravidanza) per ottenere una riproduzione più veloce ed abbreviare gli intervalli che intercorrono tra i vari partì, massimizzando in tal modo la produzione di latte e i profitti dell'allevamento. Solitamente la gravidanza viene rilevata mediante palpazione rettale oppure tramite ecografia transrettale. Il test per il rilevamento della gravidanza nei bovini IDEXX offre un metodo di laboratorio per determinare accuratamente la gravidanza già 28 giorni dopo la riproduzione e da 21 giorni dopo il trasferimento embrionale e rappresenta quindi uno strumento importante per i veterinari e gli allevatori di bovini da latte per il rilevamento precoce della gravidanza. Il test può essere utilizzato da 60 giorni dopo il parto.



Campioni di pecore, capre, bufale e bisonti

Il rilevamento accurato e tempestivo della gravidanza in pecore, capre, bufale e bisonti è una componente essenziale dei programmi moderni di gestione della riproduzione. Veterinari e allevatori usano il rilevamento precoce di pecore, capre, bufale e bisonti femmina non gravide (nell'intervallo parto-concepimento) per permettere un nuovo accoppiamento in tempi più rapidi, massimizzando così i ricavi dell'azienda agricola. Tradizionalmente, lo stato di gravidanza viene determinato mediante palpazione rettale della bufala o tramite ecografia addominale (nella pecora e nella capra). Il test per il rilevamento della gravidanza nei bovini di IDEXX è un metodo di laboratorio per il rilevamento accurato della gravidanza a partire da 28 giorni dopo l'accoppiamento nelle capre, 35 giorni per le pecore e 30 giorni per le bufale*. Per i bisonti non è stato confermato un primo giorno post accoppiamento. Il test può essere utilizzato ≥ 60 giorni dopo il parto nelle bufale*. Non esistono dati relativi a pecore e capre dopo il parto.

*Fare riferimento al rapporto di validazione del test per i dati di rendimento.

Descrizione e principi del test

Il test per il rilevamento della gravidanza nei bovini IDEXX è un saggio immunoenzimatico realizzato per il rilevamento precoce delle glicoproteine placentari (PAGs, Pregnancy-Associated Glycoproteins) nel siero o plasma EDTA, come indicatori della gravidanza. Il formato della piastra per microtitolazione è stato sviluppato rivestendo la piastra con un anticorpo anti-PAG. Dopo la diluizione e incubazione del campione da analizzare nel pozzetto rivestito, la PAG viene rilevata con un anticorpo specifico anti-PAG (soluzione di rilevamento) e coniugato di perossidasi di rafano (coniugato HRPO). Il coniugato non legato viene rimosso mediante lavaggio e il substrato TMB viene quindi aggiunto nei pozzetti. Lo sviluppo del colore è proporzionale alla quantità di PAG presente nel campione.

Reagenti		Volume
1	Piastra rivestita di anticorpi anti-PAG	5
2	Controllo positivo	1 x 3,5 ml
3	Controllo negativo	1 x 3,5 ml
4	Coniugato	1 x 60 ml
5	Diluente per campioni	1 x 20 ml
A	Substrato TMB n.°12	1 x 60 ml
B	Soluzione di arresto n.°3	1 x 60 ml
C	Soluzione concentrata di lavaggio (10X)	1 x 480 ml
D	Soluzione di rilevamento	1 x 60 ml
Altri componenti: sacchetto riutilizzabile con chiusura a pressione zip lock		1

Nota: vedere la tabella alla fine dell'inserito tecnico per la descrizione dei simboli usati nell'inserito e nelle etichette.

Conservazione

Conservare i reagenti a una temperatura di 2–8°C. I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza a condizione che siano stati conservati correttamente.

Materiali necessari non forniti

- Pipette di precisione o pipette multicanale idonee all'erogazione
- Puntali per pipette monouso
- Cilindro graduato per la soluzione di lavaggio
- Lettore per piastre da 96 pozzetti dotato di filtro da 450 nm e filtro di riferimento (620 nm-650 nm)
- Sistema di lavaggio per piastre (manuale, semi-automatico o automatico)
- Usare solo acqua distillata o deionizzata per la preparazione dei reagenti
- Copripiastra o sigillante per piastre (coperchio, foglio di alluminio o adesivo)
- Vortex o simile
- Incubatore per piastre in grado di mantenere una temperatura di 37°C (\pm 2°C)

Precauzioni e avvertenze per gli utenti

- Maneggiare tutti i materiali biologici come potenzialmente infettivi.
- Indossare guanti protettivi/abbigliamento protettivo/protezione per viso e occhi.
- Fare riferimento alla scheda di sicurezza MSDS del prodotto per maggiori informazioni.
- Vedere la fine dell'insero tecnico per le indicazioni di pericolo e i consigli sulla prudenza.

Pratiche di laboratorio

- La stretta osservanza di questo protocollo permette di ottenere risultati ottimali. È necessario eseguire con attenzione la pipettatura e il lavaggio per tutta la durata di questa procedura al fine di garantire precisione e accuratezza. Utilizzare un puntale per pipetta diverso per ogni campione e controllo.
- Non esporre la soluzione TMB a luce intensa o ad agenti ossidanti. Maneggiare la soluzione TMB con guanti puliti o strumenti in plastica.
- Tutti i rifiuti devono essere correttamente decontaminati prima dello smaltimento. Smaltire il contenuto in accordo con le normative locali, regionali e nazionali.
- Fare attenzione per evitare la contaminazione dei componenti del kit Non riversare nei loro contenitori i reagenti inutilizzati.
- Non utilizzare i componenti oltre la data di scadenza.

Preparazione dei reagenti

Soluzione di lavaggio

Lasciare che la soluzione di lavaggio concentrata 10X raggiunga la 18–26°C e miscelarla per assicurare la dissoluzione degli eventuali sali precipitati. Prima dell'uso, diluire 10 volte (1/10) la soluzione di lavaggio concentrata con acqua distillata o deionizzata (ad esempio, diluire 30 ml di soluzione concentrata con 270 ml di acqua per ogni piastra da analizzare). Se preparata in condizioni sterili, la soluzione di lavaggio può essere conservata per una settimana a 2–8°C.

Protocollo del test

Prima dell'uso tutti i reagenti devono raggiungere 18–26°C. I reagenti devono essere miscelati mediante centrifugazione delicata o movimenti circolari brevi.

- 1 Prendere le piastre e registrare la posizione del campione su un foglio di lavoro. Nel caso non si utilizzino tutte le piastre, rimuovere solo i pozzetti sufficienti per l'analisi. Riporre i pozzetti rimanenti nel sacchetto richiudibile, insieme all'essiccate, e riportare a 2–8°C.

- 2 Mettere nei pozzetti 25 μ l di diluente per campioni che sarà utilizzato per i campioni e per i controlli.

- 3 Erogare 100 μ l di controllo negativo (CN) in due pozzetti da analizzare.

- 4 Erogare 100 μ l di controllo positivo (CP) in due pozzetti da analizzare.

- 5 Erogare 100 μ l di campione nei relativi pozzetti.

- 6 Agitare delicatamente la piastra per miscelare.

- 7 Coprire i pozzetti ed incubare per 60 minuti (\pm 5 minuti) a 37°C (\pm 2°C). Le piastre devono essere sigillate adeguatamente per evitare l'evaporazione del contenuto.

- 8 Rimuovere il contenuto liquido di tutti i pozzetti e lavare ciascun pozzetto con circa 300 μ l di soluzione di lavaggio per 3–5 volte. Evitare di lasciare asciugare la piastra tra un lavaggio e l'altro e prima di aggiungere altro reagente. Dopo l'ultima rimozione, picchiettare con decisione il liquido di lavaggio residuo presente in ciascuna piastra su materiale assorbente.

- 9 Erogare 100 μ l di soluzione di rilevamento in ciascun pozzetto.

- 10 Coprire i pozzetti ed incubare per 30 minuti (\pm 2 minuti) a 18–26°C.

- 11 Ripetere il passaggio 8.

- 12 Erogare 100 μ l di coniugato in ogni pozzetto.

- 13 Coprire i pozzetti ed incubare per 30 minuti (\pm 2 minuti) a 18–26°C.

- 14 Ripetere il passaggio 8.

- 15 Erogare 100 μ l di substrato TMB n.°12 in ciascun pozzetto.

- 16 Incubare per 15 minuti (\pm 1 minuto) a 18–26°C lontano dalla luce diretta.

17 Eroare 100 μ l di soluzione di arresto n.°3 in ciascun pozzetto.

18 Misurare e registrare A (450 nm)-A(REF) dei campioni e dei controlli. La lunghezza d'onda di riferimento è A (620-650 nm).

19 Calcolo:

Controlli

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A(450-REF) + CN2 A(450-REF)}{2}$$

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A(450-REF) + CP2 A(450-REF)}{2}$$

Criteri di validità

$$CP\bar{x} - CN\bar{x} \geq 0,300$$

$$CN\bar{x} \leq 0,150$$

Nel caso di esami non validi, la tecnica è da sospettarsi e l'esame deve essere ripetuto seguendo attentamente l'insero tecnico.

Campioni

$$C - N = \text{Campioni A(450-REF)} - NC\bar{x}$$

 20 Interpretazione (bestiame, pecore, capre, bufale e bisonti):

Non gravida

Gravida

$$C - N < 0,300$$

$$C - N \geq 0,300$$

IDEXX raccomanda vivamente di leggere attentamente tutte le istruzioni prima di eseguire il test per la prima volta.

Gravida-Ripetere (convalidato solo nei bovini): nella vacca la morte embrionale è comune nelle prime fasi della gravidanza. I PAG possono circolare nelle vacche / giovenche per qualche tempo dopo la morte embrionale precoce. Se il valore S-N è pari o superiore a 0,300 e inferiore a 1,000, si consiglia di ripetere il test dopo 7-10 giorni.

IDEXX incoraggia i produttori a lavorare a stretto contatto con i veterinari per sviluppare un programma di gestione della riproduzione adatto al proprio allevamento.

Nota: IDEXX offre strumenti e software in grado di calcolare i risultati e di fornire riepiloghi dei risultati.

Assistenza tecnica:

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

IDEXX Europa Tel: +800 727 43399

Contattare il responsabile di zona o il distributore IDEXX o consultare il sito: idexx.com/contactlpd

IDEXX e Test With Confidence sono un marchio di proprietà di, e/o registrato da, IDEXX Laboratories, Inc. o dei suoi affiliati e protetti negli Stati Uniti e/o in altri paesi.

© 2017 IDEXX Laboratories, Inc. Tutti i diritti sono riservati.

WARNING / ATTENTION / ATENCIÓN / ATENÇÃO / ACHTUNG / ATTENZIONE



H319 / P280 / P337+P313

Positive control – Causes serious eye irritation. Wear eye protection. If eye irritation persists: Get medical advice/attention.

Contrôle positif – Provoque une sévère irritation des yeux. Porter un équipement de protection des yeux. Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin.

Controle Positivo – Provoca irritação ocular grave. Usar proteção ocular. Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

Control Positivo – Provoca irritación ocular grave. Llevar gafas de protección. Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

Positive Kontrolle – Verursacht schwere Augenreizung. Augenschutz tragen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

Controllo positivo – Provoca grave irritazione oculare. Indossare Proteggere gli occhi. Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.

H315 / H319 / P280 / P332+P313 / P337+P313

TMB Substrate – Causes skin irritation. Causes serious eye irritation. Wear protective gloves/eye protection/face protection. If skin irritation occurs: Get medical advice/attention. If eye irritation persists: Get medical advice/attention.

Substrat TMB – Provoque une irritation cutanée. Provoque une sévère irritation des yeux. Porter des gants de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. En cas d'irritation cutanée: consulter un médecin. Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin.

Substrato TMB – Provoca irritação cutânea. Provoca irritação ocular grave. Usar luvas de proteção/proteção ocular/proteção facial. Em caso de irritação cutânea: consulte um médico. Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

Substrato TMB – Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave. Llevar guantes/gafas/máscara de protección. En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico. Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

TMB-Substrat – Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizung. Schutzhandschuhe/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

Substrato TMB – Provoca irritazione cutanea. Provoca grave irritazione oculare. Indossare guanti/Proteggere gli occhi/il viso. In caso di irritazione della pelle: consultare un medico. Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.

Stop solution – Harmful if swallowed. Causes skin irritation. May cause an allergic skin reaction. Causes serious eye irritation. May cause respiratory irritation. Wear protective gloves/eye protection/face protection. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. If eye irritation persists: Get medical advice/attention. Wash contaminated clothing before reuse.

Solution d'arrêt – Nocif en cas d'ingestion. Provoque une irritation cutanée. Peut provoquer une allergie cutanée. Provoque une sévère irritation des yeux. Peut irriter les voies respiratoires. Porter des gants de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin. Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin. Laver les vêtements contaminés avant réutilisation.

Solução de Interrupção – Nocivo por ingestão. Provoca irritação cutânea. Pode provocar uma reação alérgica cutânea. Provoca irritação ocular grave. Pode provocar irritação das vias respiratórias. Usar luvas de proteção/proteção ocular/proteção facial. Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. Caso a irritação ocular persista: consulte um médico. Lavar a roupa contaminada antes de voltar a usar.

Solución de Frenado – Nocivo en caso de ingestión. Provoca irritación cutánea. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Provoca irritación ocular grave. Puede irritar las vías respiratorias. Llevar guantes/gafas/máscara de protección. En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico. Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas.

Stopplösung – Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. Verursacht Hautreizungen. Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Verursacht schwere Augenreizung. Kann die Atemwege reizen. Schutzhandschuhe/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.

EUH208

Detector Solution – Contains Kathon. May produce an allergic reaction.













Solution de détection – Contient Kathon. Peut produire une réaction allergique.

Solução Detectora – Contém Kathon. Pode provocar uma reação alérgica.

Solution de détection – Contiene Kathon. Puede provocar una reacción alérgica.

Detektorlösung – Enthält Kathon. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.

**Symbol Descriptions / Descriptions des symboles / Descrição dos símbolos
 Descripciones de los símbolos / Symbol-Beschreibungen / Descrizione dei simboli**

	Batch Code (Lot) / Numéro de lot / Código de lote (Lote) Número de Partida (Lote) / Chargenbezeichnung (Ch.-B.) / Codice del lotto (partita)
	Serial Number / Numéro de série / Número de série Número de serie / Seriennummer / Numero di serie
	Catalog Number / Numéro de catalogue / Número de catálogo Número de catálogo / Katalognummer / Numero di catalogo
	In vitro diagnostic / Diagnostic in vitro / Diagnóstico in-vitro Diagnóstico in-vitro / In-vitro-Diagnostikum / Diagnostico in vitro
	Authorized Representative in the European Community Représentant agréé pour la Communauté européenne Representante autorizado na Comunidade Européia Representante autorizado en la Comunidad Europea Autorisierte EG-Vertretung Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Positive Control / Contrôle positif / Controle Positivo Control Positivo / Positive Kontrolle / Controllo Positivo
	Negative Control / Contrôle négatif / Controle Negativo Control Negativo / Negative Kontrolle / Controllo Negativo
	Use by date / À utiliser avant la date / Data de Vencimento Usar antes de / Verwendbar bis / Usare entro
	Date of manufacture / Date de fabrication / Data de Fabricação Fecha de fabricación / Herstellungsdatum / Data di produzione
	Manufacturer / Fabricant / Fabricante Fabricante/ Hersteller / Ditta produttrice
	Temperature limitation / Limite de température Limite de temperatura / Límite de temperatura Zulässiger Temperaturbereich / Limite di temperatura
	Consult instructions for use / Consulter la notice d'utilisation Consulte instruções para o uso / Consultar las instrucciones de uso Gebrauchsinformation beachten / Consultare le istruzioni per l'uso
	Major change in the user instructions Modification majeure du mode d'emploi Modificações importantes nas instruções de uso Modificación importante en el manual de instrucciones Wesentliche Änderung der Gebrauchsinformation Modifica importante nell'inserto tecnico

IDEXX Laboratories, Inc.
One IDEXX Drive
Westbrook, Maine 04092
USA

Manufacturer
IDEXX Switzerland AG
Stationsstrasse 12
CH-3097 Liebefeld-Bern
Switzerland

EU-Representative
IDEXX Europe B.V.
P.O. Box 1334
2130 EK Hoofddorp
The Netherlands

idexx.com

IDEXX