

Ovulation Test

Ovulation Test

Veterinary diagnostic kit
For *in vitro* use only

■ CLINICAL APPLICATION:

• DETERMINATION OF THE FERTILE PERIOD

The physical signs of oestrus only provide an indication of ovulation and are not sufficient to determine the optimal timing of mating or insemination. Depending on the bitch, the exact timing of ovulation can be highly variable: 20% of bitches ovulate outside of the 10th to 14th days of heat. Vaginal smears, combined with progesterone assays, provide the most accurate determination of ovulation to enable scheduling of insemination or mating.

Progesterone level is low just prior to ovulation (between 0 to 1 ng/ml). It begins to increase as LH peak, reaching 6 to 8 ng/ml at the time of ovulation.

■ PRINCIPLE

Ovulation Test is a rapid, membrane-based, semi-quantitative ELISA test with visual reading for the determination of progesterone levels in the plasma or serum of bitches. It is essentially used to determine timing of ovulation. Ovulation Test is an ideal complement to a vaginal smear examination during oestrus monitoring.

■ PROCEDURE

► FOR EACH TEST YOU WILL NEED:

One test cup, one single-use pipette, the Substrate A, the Substrate B, the Wash Solution 1, the Wash Solution 2, the bottle for mixing the substrates, the Conjugate, and the colour chart.

Method:

Take the kit out from the refrigerator at least 2 hours before use to allow the reagents to come to room temperature. The kit can be left at room temperature all day long.

Do not mix reagents from different batches.

It is very important to respect the waiting times between each stage of the test (especially steps 1, 3 and 7) to be confident with the accuracy of the results.

1/ With a pipette, add 2 drops of sample (serum or plasma) to the centre of the cup. **Wait 2 minutes.**

2/ Add 2 drops of Wash solution 1 to the centre of the cup. Wait until the liquid has been completely absorbed.
Repeat this step once.

3/ Add 1 drop of conjugate (bottle with red cap) to the **centre of the cup.** **Wait 1 minute.**

4/ Add 6 drops of Wash solution 2 to the centre of the cup.
Wait until the liquid has been completely absorbed.

5/ Prepare a fresh substrate solution using the empty mixing bottle (blue label): add one volume of each substrate A and substrate B (black caps) by filling their droppers to the black line. Homogenize by shaking the freshly prepared substrate. Do not prepare the substrate in advance because it starts to deteriorate after 30 minutes.

6/ Add 2 drops of the freshly prepared substrate (blue label) to the centre of the cup. Discard any unused substrate solution after 30 minutes as it rapidly becomes unstable. Keep the empty vial for subsequent tests.

7/ Wait 9 minutes before reading the result.
Use the colour chart to interpret the result.

■ INTERPRETATION OF RESULTS

The colour corresponds to the progesterone concentration.

Colour	Progesterone concentration	Interpretation and action*
C1 Bright Blue	0 to 1 ng/ml	Baseline progesterone concentration. Repeat the test every 2 days until a light blue colour is obtained.
C2 Light Blue	1 to 2.5 ng/ml	LH peak. Progesterone level is increasing. Test again every day until the test result becomes C3 (faint blue).
C3 Faint Blue	2.5 to 8 ng/ml	Consistent with ovulation period. Mating or insemination is recommended twice between 1 and 3 days later (1, 3 and 5 days later with frozen semen)
C4 White	> 8 ng/ml	Mate or Inseminate immediately. Caution: the fertile period might be over.

* The veterinarian should interpret all test results in light of the patient's history, ultrasonography, and/or vaginal smears.

■ RECOMMENDATIONS

• SHELF LIFE:

- 14 months from the manufacturing date written on the box. Store between +2°C and +8°C. Do not freeze.
- The expiry date is printed on each box.

• SAMPLES:

- Collect blood samples into an EDTA or Heparin coated tube or a plain tube. Do not use tubes containing serum separator gel. Do not use whole blood.
- Immediately after collection, invert the tube several times to mix. Centrifuge or allow to clot by leaving at room temperature for 2 hours, then decant the serum or plasma into a clean glass tube. **Do not use a haemolysed or lipemic sample.**
- Testing within 24 hours: store serum or plasma at room temperature.
- Testing between 24 to 72 hours of sampling: store serum or plasma between +2°C and +8°C (refrigerator).
- Testing more than 72 hours after sampling: store serum or plasma at -20°C

EN-3

• **WHEN TO TEST:**

- Vaginal cytology can be used to identify the approach of the LH peak and thus when to start testing progesterone levels.

- 1 or 2 tests are usually sufficient if the first day of the onset of pro-oestrus is known (vaginal bleeding), given that ovulation occurs 2 days after the LH peak (between the 10th and 14th day after the beginning of oestrus).

- The frequency of use of the Ovulation Test depends on each case as a function of the timing of oestrus and the patient's history. In some cases, such as those with a fertility problem or irregular cycles, it is advisable to start testing from the 4th day of pro-oestrus and to repeat the test every 2 days until insemination.

• **PRECAUTIONS:**

- Store the kit in the fridge when not in use.

- Always reseal the plastic bag after removing a test cup.

- **Do not mix test cups or reagents from different kits.**

- To standardize the amount of sample recommended, only use the single-use pipettes supplied in the kit.

- To ensure that the sample and reagent are correctly applied, always hold the pipette vertically.

• **OTHER RECOMMENDATIONS:**

The above recommendations are only guidelines; no test is 100% accurate at all times and under all conditions. The purpose of this test is to assist practitioners in the detection of ovulation and in determining the optimal timing of mating or insemination. All test results should be interpreted in the light of the patient's history, clinical and gynaecological examination. The definitive diagnosis remains the veterinarian's prerogative and responsibility. Bio Veto Test and its distributors cannot be held responsible for the consequences of misuse or misinterpretation of the results given by the test.

Ovulation Test

Kit diagnostic vétérinaire
Usage *in vitro* uniquement

■ INTERET CLINIQUE:

• DETERMINATION DE LA PERIODE FERTILE CHEZ LA CHIENNE

Les signes physiques de chaleurs sont des indications approximatives qui ne suffisent pas à déterminer le moment optimal de la saillie chez la chienne. De plus, une grande variabilité individuelle complique les prévisions d'insémination : 20% des chiennes ovulent « en dehors » de la période comprise entre le 10ème et le 14ème jour des chaleurs. Ainsi, le frottis vaginal, et le dosage de la progestérone permettent de programmer la saillie ou l'insémination pour avoir un résultat optimal.

Avant ovulation, le taux de progestérone est compris entre 0 et 1 ng/ml. Au moment du pic de LH, la concentration de progestérone circulante va progressivement augmenter et atteindre 6 à 8 ng/mL au moment de l'ovulation.

■ PRINCIPE

Ovulation Test est un test ELISA semi-quantitatif rapide sur membrane à lecture visuelle pour déterminer le taux de progestérone dans le plasma ou le sérum chez la chienne. Ce dosage vous aide à préciser le moment de l'ovulation. Ovulation Test est un excellent complément du frottis vaginal pour suivre l'évolution des chaleurs dans le temps.

■ PROTOCOLE OPERATOIRE

► POUR CHAQUE TEST PREVOIR :

Une coupelle test, une pipette à usage unique, le Substrat A, le Substrat B, la Solution de Lavage 1, la Solution de Lavage 2, le flacon pour le mélange des substrats, le Conjugué et le nuancier de couleur.

Avant de commencer le test, laisser les échantillons et les réactifs revenir à température ambiante (2h). Il est possible de laisser le kit à température ambiante toute la journée.

Ne jamais mélanger des réactifs de lots différents.

Les temps d'attente des différentes étapes (surtout les étapes 1, 3 et 7) sont à respecter impérativement pour le bon fonctionnement du test et l'exactitude des résultats.

1/ Au moyen d'une pipette, **ajouter 2 gouttes de sérum ou de plasma** au centre de la coupelle. **Attendre 2 minutes.**

2/ **Ajouter 2 gouttes de Solution de Lavage 1** au centre de la coupelle. Attendre que le liquide soit totalement absorbé.
Répéter 1 fois ce lavage.

3/ **Ajouter 1 goutte de conjugué** (flacon à bouchon rouge) **au centre de la coupelle. Attendre 1 minute.**

4/ **Ajouter 6 gouttes de Solution de Lavage 2** au centre de la coupelle.
Attendre que le liquide soit totalement absorbé.

5/ **Préparer un substrat frais** dans le flacon pour le mélange des substrats (étiquette bleue) : ajouter une mesure de chaque substrat A et B (flacons à capuchons noirs) en remplissant chaque compte-gouttes jusqu'au trait noir. Bien agiter. Il est déconseillé de préparer le substrat à l'avance car il se détériore après 30 minutes.

6/ **Ajouter 2 gouttes de substrat** fraîchement préparé au centre de la coupelle. Après 30 minutes, jeter toute solution inutilisée de substrat (flacon de mélange à étiquette bleue). Conserver ce flacon vidé pour les tests ultérieurs.

7/ **Attendre 9 minutes** pour lire le résultat. Lire le résultat à l'aide du nuancier coloré.

■ INTERPRETATION DES RESULTATS:

Les couleurs du test correspondent aux niveaux de progestérone.

Couleurs	Concentration de progestérone correspondante	Recommandations*
C1 Bleu vif	0 à 1 ng/ml	Niveau de base de la progestérone. Effectuer un nouveau test toutes les 48 heures jusqu'à obtention d'un résultat C2 (Bleu clair).
C2 Bleu clair	1 à 2,5 ng/ml	L'augmentation du taux de progestérone a débuté. Effectuer un nouveau test toutes les 24 heures jusqu'à l'obtention d'un résultat C3 (Bleu pâle).
C3 Bleu pâle	2,5 à 8 ng/ml	Correspond à la période d'ovulation. Saillir ou inséminer 2 fois entre 1 à 3 jours plus tard. Avec du sperme congelé, inséminer dans 1, 3 et 5 jours.
C4 Blanc	> 8 ng/ml	Saillir ou inséminer immédiatement. Attention, vous pouvez vous trouver en fin de période fertile.

*Le vétérinaire devra toujours tenir compte de l'historique, de l'examen clinique et/ou échographique et/ou de la cytologie vaginale de la chienne pour prendre une décision.

■ RECOMMANDATIONS

• STABILITE / CONSERVATION :

- 14 mois à partir de la date de fabrication. Conserver entre +2°C et +8°C. Ne pas congeler.
- La date de péremption est indiquée sur l'étiquette du kit.

• ECHANTILLONS :

- Prélever le sang dans un tube avec anticoagulant (héparine ou EDTA) ou dans un tube sec (sang total). Ne pas utiliser de tube de prélèvement à gel de séparation.
- Immédiatement après la prise de sang, homogénéiser les échantillons en retournant les tubes plusieurs fois. Centrifuger l'échantillon de sang ou laisser coaguler le sang total sur tube sec à température ambiante, séparer le sérum ou le plasma dans un tube propre. **L'échantillon ne doit être ni hémolysé, ni lipémique.**

FR-3

- Conservation des échantillons jusqu'à 24 heures : conserver sérum ou plasma à température ambiante.
- Conservation des échantillons jusqu'à 72 heures : conserver sérum ou plasma à entre +2°C et +8°C (réfrigérateur).
- Au-delà de 72 heures, conserver sérum et plasma à -20°C.

• **QUAND TESTER :**

- Vérifier l'exactitude du stade de pro-oestrus à l'aide d'un frottis vaginal. Le frottis vaginal vous aide à identifier l'approche du pic LH et ainsi de commencer à évaluer le taux de progestérone.
- Un à deux tests sont généralement suffisants en sachant que l'ovulation se produit vers le 2ème jour après le pic LH (entre le 10ème et le 14ème jour après le début des chaleurs).
- La fréquence de réalisation de l'Ovulation Test sera évaluée pour chaque cas en fonction du stade des chaleurs, et des antécédents connus de l'animal.

• **PRÉCAUTIONS DE MANIPULATION :**

- Conserver le coffret en entier au réfrigérateur lorsqu'il n'est pas utilisé. Ne pas congeler.
- Re-sceller toujours hermétiquement le sachet des coupelles après en avoir pris une.
- **Ne pas échanger les réactifs ou coupelles entre différents coffrets.**
- Afin de standardiser la quantité d'échantillon nécessaire, utiliser uniquement les pipettes présentes dans le coffret.
- Pour un dépôt correct de l'échantillon et du réactif, maintenir la pipette en position verticale.

• **AUTRES RECOMMANDATIONS :**

Ces recommandations constituent un guide, aucune méthode de diagnostic ne pouvant prétendre être précise à 100%. Ce test a pour but d'aider le vétérinaire praticien pour détecter le moment de l'ovulation et déterminer le moment optimal de saillie ou de l'insémination. L'interprétation du test par le vétérinaire devra toujours tenir compte des commémoratifs et de l'examen clinique et gynécologique de l'animal. La décision finale reste la prérogative et la responsabilité du vétérinaire traitant. Bio Vétro Test et ses distributeurs ne peuvent être tenus responsables des conséquences liées à une mauvaise utilisation ou une mauvaise interprétation des résultats donnés par ce test.

Ovulation Test

Kit de diagnóstico veterinario

Sólo para uso *in vitro*

■ INTERÉS CLINICO:

• DETERMINACION DEL PERIODO DE FERTILIDAD EN LA PERRA

Los cambios fisiológicos y de comportamiento durante el celo son indicadores aproximados que no bastan para establecer el momento más oportuno para realizar la monta. Además, existen variaciones individuales que complican las previsiones de inseminación: 20% de las perras ovulan “fuera” del 10° y el 14° día de celo. En consecuencia, el frotis vaginal y la medición del nivel de progesterona permiten programar la monta o la inseminación.

Antes de la ovulación, el nivel de progesterona se sitúa entre 0 y 1 ng/ml. En el momento de pico hormonal de LH, la concentración de progesterona circulante se eleva progresivamente y alcanza 6 -8 ng/ml durante la ovulación.

■ PRINCIPIO

Ovulation Test es un test ELISA semi-cuantitativo rápido sobre membrana de lectura visual que permite determinar el nivel de progesterona en el plasma o suero de la perra. Este test ayuda a precisar el momento de la ovulación. Ovulation Test es un excelente complemento del frotis vaginal para seguir la evolución del celo en el tiempo.

■ PROCEDIMIENTO

► PARA CADA TEST SE NECESITA:

Una cápsula, una pipeta desechable, el Sustrato A, el Sustrato B, la Solución de Lavado 1, la Solución de Lavado 2, el frasco para la mezcla de sustratos, el Conjugado y el muestrario de color.

Antes de empezar el test, dejar que las muestras y los reactivos alcancen la temperatura ambiente (2h). Es posible dejar el kit a temperatura ambiente todo el día.

No mezcle reactivos de diferentes lotes.

Respetar escrupulosamente los tiempos de espera de cada etapa (especialmente las etapas 1, 3 y 7) para asegurar el buen funcionamiento del test y la exactitud de los resultados.

1/ Con la ayuda de la pipeta desechable, depositar 2 gotas de suero o plasma en el centro de la cápsula. Esperar 2 minutos.

2/ Depositar 2 gotas de Solución de Lavado 1 en el centro de la cápsula. Esperar hasta que el líquido sea absorbido totalmente. Repetir 1 vez este lavado.

3/ Añadir 1 gota de conjugado (frasco con tapón rojo) en el centro de la cápsula. Esperar 1 minuto

4/ Depositar 6 gotas de Solución de Lavado 2 en el centro de la cápsula. Esperar hasta que el líquido sea absorbido totalmente.

5/ Preparar un sustrato nuevo en el frasco de mezcla de sustratos (etiqueta azul): añadir una medida de cada sustrato A y B (frascos con tapones negros) llenando el cuentagotas hasta la marca negra. Agitar bien. No se aconseja preparar el sustrato con mucha antelación ya que se estropea al cabo de 30 minutos.

6/ Añadir 2 gotas del sustrato preparado recientemente en el centro del pocillo. Pasados 30 minutos tirar el resto de solución de sustrato que no se ha utilizado (frasco de mezcla con etiqueta azul). Conservar este frasco vacío para otros test posteriores.

7/ Esperar 9 minutos antes de leer el resultado con ayuda de un muestrario de color.

■ INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

Los colores del test corresponden con los niveles de progesterona.

Colores	Concentración de progesterona correspondiente	Recomendaciones *
C1 Azul oscuro	0 a 1 ng/ml	Nivel de progesterona bajo. Efectuar un nuevo test cada 48 horas hasta la obtención de un resultado C2 (Azul claro).
C2 Azul claro	1 a 2,5 ng/ml	Aumento del nivel de progesterona. Realizar un nuevo test cada 24 horas hasta la obtención del resultado C3 (Azul pálido).
C3 Azul pálido	2,5 a 8 ng/ml	Consistente con el período de ovulación. Se recomiendan dos montas o inseminaciones entre 1 y 3 días después. Con espermatozoides congelados, inseminar al día siguiente, al tercero y al quinto día.
C4 Blanco	> 8 ng/ml	Proceder a la monta o inseminar inmediatamente. Atención, puede ser el final del período fértil.

*El veterinario deberá tener en cuenta el historial, el examen clínico del paciente y/o ecográfico y/o la citología vaginal para poder tomar una decisión.

■ RECOMENDACIONES

• ESTABILIDAD / CONSERVACIÓN:

- 14 meses a partir de la fecha de fabricación. Conservar entre +2°C y +8°C. No congelar.
- La fecha de caducidad está indicada sobre la etiqueta del kit.

• MUESTRAS:

- Tomar las muestras con un tubo con anticoagulante (heparina o EDTA) o en un tubo seco (sangre entera). No utilizar tubos de muestra con gel de separación.
- Inmediatamente después de extraer la sangre, homogeneizar las muestras, girando los tubos varias veces. Centrifugar la muestra de sangre o dejar coagular la sangre entera en un tubo seco a temperatura ambiente, separar suero o plasma en un tubo limpio. **La muestra no debe estar ni hemolizada ni lipémica.**

- Conservación de las muestras hasta 24 horas: mantener el suero o el plasma a temperatura ambiente.
- Conservación de las muestras hasta 72 horas: mantener el suero o el plasma entre +2°C y +8°C (en refrigeración).
- Conservación de las muestras durante más de 72 horas: mantener el suero o el plasma a -20°C (en el congelador).

• **CUANDO REALIZAR EL TEST:**

- Comprobar la exactitud del estado de proestro con un frotis vaginal. Este ayuda a identificar la proximidad del pico hormonal de LH y a evaluar el nivel de progesterona.
- Generalmente, uno o dos test son suficientes ya que la ovulación se produce alrededor del 2º día después del pico de LH (entre el 10º y el 14º día después del inicio del celo).
- La frecuencia de realización del Ovulation test será evaluada en cada caso en función del periodo del celo, y de los antecedentes conocidos del animal.

• **PRECAUCIONES:**

- Conservar el kit entero en refrigeración cuando no sea utilizado. No congelar.
- Cerrar siempre herméticamente el sobre con las pocillos después de haber cogido uno
- **No mezcle los reactivos o los pocillos de diferentes lotes.**
- Para estandarizar la cantidad de muestra necesaria para la prueba, utilizar únicamente las pipetas desechables abastecidas en el kit.
- Para añadir correctamente la muestra o el reactivo, mantener en posición vertical la pipeta desechable.

• **OTRAS RECOMENDACIONES:**

Estas recomendaciones son una guía, ya que ningún test es 100% efectivo todo el tiempo y en todas las condiciones. Este kit pretende ayudar al veterinario a detectar el momento de la ovulación y en consecuencia a prever la fecha óptima de la monta o de la inseminación. Por esta razón, el veterinario deberá tener en cuenta el historial y el examen clínico y ginecológico del animal. La decisión final es responsabilidad del veterinario. Bio Veto Test y sus distribuidores no se hacen responsables de las consecuencias de un mal uso del test o de una mala interpretación de los resultados obtenidos.

ES-4

Ovulation Test

Kit de diagnóstico médico-veterinário
Para utilização *in vitro*

■ APLICAÇÃO CLÍNICA

• DETERMINAÇÃO DO PERÍODO FÉRTIL:

Os sinais físicos de estro apenas fornecem uma indicação aproximada da ovulação e não são suficientes para determinar o momento ideal de acasalamento ou inseminação. Dependendo da cadela, o momento exacto da ovulação pode variar muito: em 20% das cadelas, a ovulação ocorre fora do período entre o 10º e 14º dias do cio. O esfregaço vaginal, combinado com testes de progesterona, permite a determinação mais exacta da ovulação com vista a possibilitar a calendarização da inseminação ou do acasalamento, na altura ideal, para a obtenção dos melhores resultados.

O nível de progesterona é baixo imediatamente antes da ovulação (entre 0 e 1 ng/ml). Começa a aumentar à medida que a LH se aproxima do seu pico, atingindo 6 a 8 ng/ml no período de ovulação.

■ PRINCIPIO

O Ovulation Test é um teste ELISA semi-quantitativo rápido, em membrana e de leitura visual para determinação dos níveis de progesterona no plasma ou soro de cadelas. É essencialmente utilizado para calcular o período de ovulação. O Ovulation Test é um excelente complemento do exame do esfregaço vaginal durante a monitorização do ciclo éstrico.

■ PROCEDIMENTO

► PARA CADA TESTE, SERÁ NECESSÁRIO:

Um copo de teste, uma pipeta descartável, o Substrato A, o Substrato B, a Solução de Lavagem 1, o Solução de Lavagem 2, o frasco para misturar os substratos, o frasco do Conjugado e o gráfico de cores.

Método:

Retire o kit do frigorífico pelo menos 2 horas antes de ser utilizado, de forma a permitir que os reagentes fiquem à temperatura ambiente. O kit pode permanecer à temperatura ambiente durante todo o dia.

Não misture reagentes de lotes diferentes.

É extremamente importante respeitar os tempos de espera entre cada fase do teste (especialmente as etapas 1, 3 e 7) para ter a certeza da fiabilidade dos resultados.

1/ Com uma pipeta, **adicione 2 gotas de amostra** (soro ou plasma) no centro do copo. Aguarde 2 minutos.

2/ **Adicione 2 gotas da Solução de lavagem 1** no centro do copo. Aguarde até o líquido ter sido completamente absorvido.
Repita este passo uma vez.

3/ **Adicione 1 gota do conjugado** (frasco com tampa vermelha) **no centro do copo.** Aguarde 1 minuto.

4/ **Adicione 6 gotas da Solução de lavagem 2** no centro do copo. Aguarde até o líquido ter sido completamente absorvido.

5/ **Prepare uma solução de substrato fresca**, utilizando o frasco de mistura vazio (rótulo azul): adicione um volume do substrato A e um volume do substrato B (tampas pretas), enchendo os respectivos contagotas até à linha preta. Homogenize, agitando o substrato acabado de preparar. Não prepare o substrato com antecedência, dado que se deteriora após 30 minutos.

6/ **Adicione 2 gotas do substrato acabado de preparar** (rótulo azul) no centro do copo. Elimine qualquer solução de substrato não utilizada após 30 minutos, pois rapidamente se torna instável. Guarde o frasco vazio para testes posteriores.

7/ **Aguarde 9 minutos antes de proceder à leitura do resultado.** Utilize o gráfico de cores para interpretar o resultado.

■ INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

A cor corresponde à concentração de progesterona.

Cor	Concentração de progesterona	Interpretação e acção*
C1 Azul Vivo	0 a 1 ng/ml	Linha de base da concentração de progesterona. Repita o teste a cada 2 dias até obter uma cor azul clara.
C2 Azul Claro	1 a 2,5 ng/ml	Pico de LH. O nível de progesterona está a aumentar. Efectue o teste diariamente até obter o resultado C3 (azul pálido).
C3 Azul Pálido	2,5 a 8 ng/ml	Consistente com o período de ovulação. Recomenda-se o acasalamento ou inseminação, duas vezes, entre 1 e 3 dias depois (1, 3 e 5 dias depois com sêmen congelado).
C4 Branco	> 8 ng/ml	Acasalamento ou inseminação de imediato. Precaução: o período fértil pode ter terminado.

* O veterinário deve interpretar todos os resultados de teste com base no historial do doente, nos exames de ecografia e/ou no esfregaço vaginal, antes de tomar quaisquer decisões.

■ RECOMENDAÇÕES

• PERÍODO DE VALIDADE:

- 14 meses a partir da data de fabrico, indicada na caixa. Conserve entre +2 °C e 8 °C. Não congele.
- A data de validade está impressa em cada caixa.

• AMOSTRAS:

- Recolha amostras de sangue para um tubo de EDTA, heparina ou seco. Não utilize tubos que contenham gel de separação de soro. Não utilize sangue total.
- Imediatamente após a recolha, inverta o tubo várias vezes para misturar. Centrifugue ou deixe coagular à temperatura ambiente durante 2 horas e, em seguida, decante o soro ou plasma para um tubo de vidro limpo. **Não utilize uma amostra hemolizada ou lipémica.**
- Para testes no prazo de 24 horas: conserve o soro ou plasma à temperatura ambiente.
- Para testes entre 24 a 72 horas após a recolha da amostra: conserve o soro ou plasma entre +2 °C e 8 °C (frigorífico).
- Para testes de mais de 72 horas após a recolha da amostra: conserve o soro ou plasma a -20 °C.

PT-3

• QUANDO TESTAR:

- A citologia vaginal pode servir para identificar a aproximação do pico de LH e, conseqüentemente, quando deverá começar a testar os níveis de progesterona.

- 1 ou 2 testes são geralmente suficientes se o primeiro dia do início do pró-estro for conhecido (corrimento vaginal sanguinolento), dado que a ovulação ocorre 2 dias depois do pico de LH (entre o 10º e o 14º dias após o início do ciclo éstrico).

- A frequência da utilização do Ovulation Test depende de cada caso, em função do ciclo éstrico e do historial do doente. Em certos casos, em que existem problemas de fertilidade ou ciclos irregulares, é aconselhável iniciar os testes a partir do 4º dia do pró-estro e repetir o teste a cada 2 dias até à inseminação.

• PRECAUÇÕES:

- Conserve o kit no frigorífico quando não estiver a ser utilizado.

- Volte sempre a vedar a bolsa de plástico após retirar o copo de teste.

- **Não misture copos de teste nem reagentes de kits diferentes.**

- Para que o volume de amostra recomendado seja sempre o mesmo, utilize apenas as pipetas descartáveis fornecidas no kit.

- Para garantir que a amostra e o reagente são aplicados correctamente, segure sempre a pipeta.

• OUTRAS RECOMENDAÇÕES:

As recomendações acima são apenas directrizes; nenhum teste é 100% rigoroso em todas as circunstâncias e sob todas as condições. O objectivo do presente teste é auxiliar os veterinários a detectar o período de ovulação e a determinar o momento ideal para o acasalamento ou a inseminação. Todos os resultados de teste devem ser interpretados com base no historial do doente e nos exames físico e ginecológico. O diagnóstico definitivo continua a ser da competência e da responsabilidade do veterinário. A Bio Veto Test e os seus distribuidores não podem ser responsabilizados pelas conseqüências de uma utilização indevida ou má interpretação dos resultados do teste.

Ovulation Test

Kit di diagnosi veterinaria

Solo per uso *in vitro*

■ INTERESSE CLINICO

• DETERMINAZIONE DEL PERIODO FERTILE NELLA CAGNA

I segni fisici rappresentano un'indicazione solo approssimativa del calore, insufficiente per determinare il momento ottimale per far accoppiare o inseminare la cagna. La determinazione del periodo migliore per l'inseminazione è inoltre complicata da una grande variabilità individuale: il 20% delle cagne ovula al di fuori del periodo compreso tra il 10° e il 14° giorno dell'estro. Lo striscio vaginale e il dosaggio del progesterone, permettono di programmare l'accoppiamento o l'inseminazione in modo da ottenere un risultato ottimale.

Prima dell'ovulazione, il tasso di progesterone è compreso tra 0 e 1 ng/ml. Al momento del picco di LH, la concentrazione di progesterone in circolo aumenta progressivamente e raggiunge da 6 a 8 ng/ml al momento dell'ovulazione.

■ PRINCIPIO

L'Ovulation Test è un test ELISA semi-quantitativo rapido su membrana a lettura visiva per determinare il tasso di progesterone nel plasma o nel siero della cagna. Il dosaggio permette di definire con precisione il momento dell'ovulazione. L'Ovulation Test è una metodica eccellente associata allo striscio vaginale per seguire l'evoluzione dell'estro nel tempo.

■ PROTOCOLLO OPERATIVO

► PER OGNI TEST PREVEDERE:

Una coppetta test, una pipetta monouso, il substrato A, il substrato B, la soluzione di lavaggio 1, la soluzione di lavaggio 2, il flacone per miscelare i substrati, il coniugato e il legenda dei colori.

Prima di iniziare il test, lasciare che i campioni e i reagenti raggiungano la temperatura ambiente (2 ore). Si può lasciare il kit a temperatura ambiente tutto il giorno.

Non mescolare mai reagenti di lotti diversi.

Per il buon funzionamento del test e per ottenere risultati precisi si devono obbligatoriamente rispettare i tempi di attesa tra i diversi passaggi (in particolare i passaggi 1, 3 e 7).

1/ Con una pipetta, aggiungere 2 gocce di siero o di plasma al centro della coppetta test. **Attendere 2 minuti.**

2/ Aggiungere 2 gocce di soluzione di lavaggio 1 al centro della coppetta test.

Attendere che il liquido sia stato completamente assorbito.

Ripetere 1 volta questo lavaggio.

3/ Aggiungere 1 goccia di coniugato (flacone con tappo rosso) **al centro della coppetta test. Attendere 1 minuto.**

4/ Aggiungere 6 gocce di soluzione di lavaggio 2 al centro della coppetta test.

Attendere che il liquido sia stato completamente assorbito.

5/ Preparare un substrato fresco nel flacone per miscelare i substrati (etichetta blu): aggiungere un volume di substrato A e uno di substrato B (flaconi con tappi neri) riempiendo i contagocce fino alla riga nera. Agitare bene. Si consiglia di non preparare il substrato in anticipo in quanto si degrada in 30 minuti.

6/ Aggiungere 2 gocce del substrato appena preparato al centro della coppetta test. Dopo 30 minuti, gettare la parte inutilizzata del substrato (flacone per miscelazione con etichetta blu). Conservare il flacone vuoto per test successivi.

7/ Attendere 9 minuti per leggere il risultato. Leggere il risultato utilizzando il legenda dei colori.

■ INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I colori che compaiono nel test corrispondono ai livelli di progesterone.

Colore	Concentrazione di progesterone corrispondente	Raccomandazioni*
C1 Blu chiaro	da 0 a 1 ng/ml	Livello di base del progesterone. Effettuare un nuovo test ogni 48 ore fino all'ottenimento di un risultato C2 (blu chiaro).
C2 Azzurro	da 1 a 2,5 ng/ml	Il tasso di progesterone ha iniziato ad aumentare. Effettuare un nuovo test ogni 24 ore fino all'ottenimento di un risultato C3 (blu pallido).
C3 Blu pallido Celeste	da 2,5 a 8 ng/ml	Coerente con il periodo di ovulazione. Far accoppiare o inseminare 2 volte: dopo 1 e 3 giorni. Con sperma congelato, inseminare dopo 1, 3 e 5 giorni.
C4 Bianco	> 8 ng/ml	Far accoppiare o inseminare immediatamente. Attenzione, il periodo fertile può volgere al termine.

*Il veterinario dovrà quindi tenere sempre conto dell'anamnesi, dell'esame clinico e/o ecografico e/o dell'esame citologico vaginale della cagna per prendere una decisione.

■ RACCOMANDAZIONI

• STABILITÀ / CONSERVAZIONE:

-14 mesi a partire dalla data di fabbricazione. Conservare tra +2°C e +8°C. Non congelare.

- La data di scadenza è riportata sull'etichetta del kit.

• CAMPIONI:

- Raccogliere il sangue in una provetta contenente anticoagulante (eparina o EDTA) o in una provetta asciutta (sangue intero). Non utilizzare provette con gel separatore. Immediatamente dopo il prelievo, omogeneizzare i campioni capovolgendo diverse volte le provette. Centrifugare il campione di sangue o lasciare coagulare il sangue intero in una provetta asciutta a temperatura ambiente, separare il siero o il plasma in una provetta pulita. **Il campione non deve essere né emolizzato né lipemico.**

- Conservazione dei campioni fino a 24 ore: conservare siero o plasma a temperatura ambiente.

IT-3

- Conservazione dei campioni fino a 72 ore: conservare siero o plasma tra +2°C e +8°C (in frigorifero).
- Oltre le 72 ore, conservare siero e plasma a -20°C.

• **QUANDO EFFETTUARE IL TEST:**

- Verificare che la cagna si trovi nello stadio di pro-estro mediante uno striscio vaginale. Lo striscio vaginale permette di identificare l'avvicinarsi del picco di LH e quindi di cominciare a valutare il tasso di progesterone.
- Sono solitamente sufficienti uno-due test, sapendo che l'ovulazione ha luogo intorno al 2° giorno dopo il picco di LH (tra il 10° e il 14° giorno dall'inizio del calore).
- La frequenza di esecuzione dell'Ovulation Test verrà valutata caso per caso in funzione della fase del calore e dei precedenti noti dell'animale.

• **PRECAUZIONI PER LA MANIPOLAZIONE:**

- Conservare la confezione intera in frigorifero quando non la si utilizza. Non congelare.
- Richiudere sempre ermeticamente il sacchetto contenente le coppette test dopo averne presa una.
- **Non scambiare i reagenti o le coppette test di confezioni diverse.**
- Per standardizzare la quantità di campione necessaria, utilizzare esclusivamente le pipette presenti nella confezione.
- Per deporre correttamente il campione e il reagente, mantenere la pipetta in posizione verticale.

• **ALTRE RACCOMANDAZIONI:**

Queste raccomandazioni costituiscono solo una guida, in quanto non si può pretendere che alcun metodo diagnostico sia preciso al 100%. Questo test ha lo scopo di aiutare il veterinario a rilevare il momento dell'ovulazione e a determinare il momento ottimale per l'accoppiamento o l'inseminazione. L'interpretazione del test da parte del veterinario dovrà sempre tenere conto dell'anamnesi e dell'esame clinico e ginecologico dell'animale. La decisione finale resta una prerogativa del veterinario curante ed è sotto la sua responsabilità. Bio Veto Test e suoi distributori non possono essere ritenuti responsabili delle conseguenze legate a un utilizzo scorretto o a un'interpretazione scorretta dei risultati forniti da questo test.

Ovulation Test

Κτηνιατρικό διαγνωστικό kit
μόνο για χρήση *in vitro*

■ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ:

• ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΓΟΝΙΜΗΣ ΠΕΡΙΟΔΟΥ:

Τα φυσικά σημάδια του οίστρου αποτελούν μόνο κατά προσέγγιση ένδειξη της ωοθυλακιορρηξίας και δεν αρκούν για να καθορίσουν τη βέλτιστη χρονική στιγμή του ζευγαρώματος ή της σπερματέγχυσης. Ανάλογα με το θηλυκό σκύλο, η ακριβής χρονική στιγμή της ωοθυλακιορρηξίας διαφέρει. Σε ποσοστό 20% των θηλυκών σκύλων, η ωοθυλακιορρηξία σημειώνεται εκτός της 10ης και της 14ης ημέρας του οίστρου. Κολπικά επιχρίσματα σε συνδυασμό με μετρήσεις προγεστερόνης, παρέχουν ακριβή προσδιορισμό της ωοθυλακιορρηξίας και προγραμματισμό της γονιμοποίησης ή του ζευγαρώματος την ιδανική στιγμή για βέλτιστα αποτελέσματα.

Τα επίπεδα της προγεστερόνης είναι χαμηλά λίγο πριν την ωοθυλακιορρηξία (μεταξύ 0 και 1 ng / ml). Τα επίπεδα αυξάνουν, όταν η τιμή της LH είναι στο μέγιστο, φτάνοντας 6 έως 8 ng / ml κατά τη στιγμή της ωοθυλακιορρηξίας.

■ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Το Ovulation Test είναι μια ταχεία, ημι-ποσοτική δοκιμή ELISA οπτικής ανάγνωσης επί μεμβράνης, για τον προσδιορισμό των επιπέδων της προγεστερόνης στο πλάσμα ή στον ορό του θηλυκού σκύλου. Επιτρέπει τον προσδιορισμό του χρόνου που σημειώνεται η ωοθυλακιορρηξία και κατά συνέπεια την πρόβλεψη της ημερομηνίας που ενδείκνυται για ζευγάρωμα ή γονιμοποίηση. Το Ovulation Test συμπληρώνει ιδανικά την κολπική εξέταση κατά την παρακολούθηση του οίστρου.

■ ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

► ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΔΟΚΙΜΗ, ΘΑ ΧΡΕΙΑΣΤΕΙΤΕ:

Μία συσκευή δοκιμής, μία πιπέτα μιας χρήσης, το υπόστρωμα A, το υπόστρωμα B, το διάλυμα έκπλυσης 1, το διάλυμα έκπλυσης 2, το φιαλίδιο ανάμιξης των υποστρωμάτων, το φιαλίδιο του συζεύγματος και τον χρωματικό οδηγό.

Βγάλτε τη συσκευασία δοκιμής από το ψυγείο 2 ώρες πριν κάνετε τη δοκιμή, ώστε τα δείγματα και τα αντιδραστήρια να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου. Μπορείτε να αφήσετε τη συσκευασία δοκιμής σε θερμοκρασία δωματίου καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας.

Μην αναμειγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικούς αριθμούς παρτίδας.

Είναι πολύ σημαντικό να σεβόμαστε τους χρόνους αναμονής μεταξύ των φάσεων της δοκιμής για τη διασφάλιση της ακρίβειας των αποτελεσμάτων.

1/ Με την πιπέτα, προσθέστε 2 σταγόνες δείγματος (ορός ή πλάσμα) στο κέντρο του κυπέλλου.

Περιμένετε 2 λεπτά.

2/ Προσθέστε 2 σταγόνες από το διάλυμα έκπλυσης 1 στο κέντρο του κυπέλλου. Περιμένετε μέχρι να απορροφηθεί εντελώς το υγρό.

Επαναλάβετε αυτό το βήμα 1 φορά.

3/ Προσθέστε 1 σταγόνα από το διάλυμα του συζεύγματος (φιαλίδιο με κόκκινο πώμα) στο κέντρο του κυπέλλου.

Περιμένετε 1 λεπτό.

4/ Προσθέστε 6 σταγόνες από το διάλυμα έκπλυσης 2 στο κέντρο του κυπέλλου.

Περιμένετε μέχρι να απορροφηθεί εντελώς το υγρό.

5/ Ετοιμάστε ένα φρέσκο διάλυμα υποστρώματος χρησιμοποιώντας το άδειο φιαλίδιο ανάμιξης (μπλε ετικέτα): προσθέστε ένα μέρος από κάθε φιαλίδιο υποστρώματος Α και υποστρώματος Β (φιαλίδια με μαύρα πώματα) γεμίζοντας μέχρι τη μαύρη γραμμή. Αναδέψτε καλά. Δε συνιστάται να ετοιμάζεται το διάλυμα νωρίτερα, επειδή μετά από 30 λεπτά αρχίζει να αποσυντίθεται.

6/ Προσθέστε 2 σταγόνες από το διάλυμα του υποστρώματος που μόλις ετοιμάσατε (μπλε ετικέτα) στο κέντρο του κυπέλλου. Μετά από 30 λεπτά, απορρίψτε τυχόν υπολείμματα από το διάλυμα υποστρώματος. Φυλάξτε το άδειο φιαλίδιο για μελλοντικές χρήσεις.

7/ Περιμένετε 9 λεπτά για να αναγνώσετε το αποτέλεσμα.

Χρησιμοποιήστε τον χρωματικό οδηγό για να ερμηνεύσετε το αποτέλεσμα.

■ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Το χρωματικό αποτέλεσμα αντιστοιχεί στα επίπεδα προγεστερόνης.

Χρώμα	Συγκέντρωση προγεστερόνης	Κατανόηση και συστάσεις *
C1 Φωτεινό μπλε	0 έως 1 ng/ml	Αρχικό επίπεδο προγεστερόνης. Επαναλάβετε το τεστ κάθε 2 ημέρες μέχρι να είναι εμφανές το ανοιχτό μπλε.
C2 Ανοιχτό μπλε	1 έως 2.5 ng/ml	Μέγιστη LH τιμή. Τα επίπεδα της προγεστερόνης αυξάνονται. Επαναλάβετε το τεστ καθημερινά μέχρι να γίνει ανοιχτό γαλάζιο C3.
C3 Ανοιχτό γαλάζιο	2.5 έως 8 ng/ml	Συνάδει με την περίοδο ωοθυλακιορρηξίας. Το ζευγάριωμα ή η γονιμοποίηση συνιστάται δύο φορές, έπειτα από 1 έως 3 ημέρες (1, 3, και 5 ημέρες μετά με κατεψυγμένο σπέρμα).
C4 Λευκό	> 8 ng/ml	Άμεσα ζευγάριωμα ή γονιμοποίηση. Προσοχή: μπορεί να βρισκόσθε στο τέλος της γόνιμης περιόδου.

* Όλα τα αποτελέσματα των δοκιμών πρέπει να ερμηνευθούν υπό το φως της κλινικής εξέτασης του σκύλου, υπερηχογραφικών εξετάσεων και / ή κολπικών επιχρισμάτων, πριν προβούμε στη λήψη αποφάσεων.

■ ΕΙΔΙΚΕΣ ΣΥΣΤΑΣΕΙΣ

• ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ:

- 14 μήνες από την ημερομηνία παρασκευής που αναγράφεται στο κουτί της συσκευασίας. Φυλάξτε μεταξύ +2°C και +8°C. Μην καταψύχετε.
- Η ημερομηνία λήξης αναγράφεται στο κουτί της συσκευασίας.

• ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ:

- Συλλέξτε τα δείγματα αίματος σε φιαλίδιο συλλογής με EDTA ή ηπαρίνη, ή σε ένα απλό φιαλίδιο συλλογής αίματος. Μη χρησιμοποιείτε φιαλίδια με γέλη διαχωρισμού. Μη χρησιμοποιείτε πλήρες αίμα.
- Αμέσως μετά την αιμοληψία, αναδέψτε καλά το δείγμα αναστρέφοντας το φιαλίδιο πολλές φορές. Φυγοκεντρήστε το δείγμα ή αφήστε το να πήξει σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες, μετά μεταγγίστε τον ορό ή το πλάσμα σε έναν καθαρό γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα. **Μην χρησιμοποιείτε αιμολυμένα ή λιπαιμικά δείγματα.**
- Χρήση εντός 24 ωρών: φυλάξτε τον ορό ή το πλάσμα σε θερμοκρασία δωματίου.
- Χρήση μεταξύ 24 έως 72 ωρών: φυλάξτε τον ορό ή το πλάσμα σε θερμοκρασία μεταξύ +2°C και +8°C (ψυγείο).
- Χρήση πέραν των 72 ωρών: φυλάξτε τον ορό ή το πλάσμα στους -20°C.

EL-3

• ΠΟΤΕ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΓΙΝΕΤΑΙ Η ΔΟΚΙΜΗ:

- Η κυτταρολογική εξέταση του κόλπου μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως οδηγός για να διαπιστώσουμε εάν η LH πλησιάζει στο μέγιστο επίπεδο, ώστε να προσδιοριστούν στη συνέχεια τα επίπεδα της προγεστερόνης.
- 1 ή 2 δοκιμές συνήθως επαρκούν, εάν η πρώτη ημέρα από την έναρξη του προ-οίστρου είναι γνωστή (κολπική αιμορραγία), λαμβάνοντας υπόψη πως η ωοθυλακιορρηξία σημειώνεται 2 ημέρες μετά τη μέγιστη τιμή της LH (μεταξύ 10ης και 14ης ημέρας από την έναρξη του οίστρου).
- Η συχνότητα χρήσης του Ovulation Test εξαρτάται από τη φάση του οίστρου και το ιστορικό του ζώου. Σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως εκείνες με πρόβλημα γονιμότητας ή ακανόνιστους κύκλους, είναι σκόπιμο να ξεκινήσουν οι δοκιμές από την 4η ημέρα του προ-οίστρου και να επαναλαμβάνονται κάθε 2 ημέρες μέχρι τη γονιμοποίηση.

• ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ:

- Φυλάξτε τη συσκευή δοκιμής στο ψυγείο εάν δε χρησιμοποιηθεί.
- Κλείνετε ερμητικά το πλαστικό σακουλάκι μετά την αφαίρεση του κυπέλλου.
- **Μην αναμιγνύετε κύπελλα ή αντιδραστήρια από διαφορετικούς αριθμούς παρτίδας**
- Για να προσθέσετε την ακριβή ποσότητα δείγματος, χρησιμοποιήστε μόνο την πιπέτα μιας χρήσης που βρίσκεται στη συσκευασία.
- Για να βεβαιωθείτε ότι το δείγμα και το αντιδραστήριο έχουν προστεθεί σωστά, κρατάτε την πιπέτα κατακόρυφα.

• ΆΛΛΕΣ ΣΥΣΤΑΣΕΙΣ:

Οι συνιστώμενες ενέργειες που αναφέρθηκαν αποτελούν κατευθυντήρια γραμμή, καθώς καμία δοκιμή δεν είναι 100% ακριβής πάντα και υπό οποιοδήποτε συνθήκες. Στόχος της παρούσας συσκευής δοκιμής είναι να βοηθήσει τους κτηνιάτρους να ανιχνεύσουν τη στιγμή της ωοθυλακιορρηξίας και να καθορίσουν την βέλτιστη στιγμή για γονιμοποίηση. Ως εκ τούτου, όλα τα αποτελέσματα των δοκιμών πρέπει να ερμηνευθούν υπό το φως της κλινικής εξέτασης του σκύλου, των πληροφοριών του ιστορικού και των αποτελεσμάτων από άλλες κλινικές δοκιμές. Η οριστική διάγνωση παραμένει προνόμιο και ευθύνη του κτηνιάτρου.

Η Bio Veto Test και οι αντιπρόσωποί της, δεν μπορούν να θεωρηθούν υπεύθυνοι για τις συνέπειες της κακής χρήσης ή παρερμηνείας των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από τη δοκιμή.

EL-4

Ovulation Test

Veterinär-Diagnostik-Kit Nur zur *In-vitro*-Diagnostik

■ KLINISCHE BEDEUTUNG

BESTIMMUNG DER FRUCHTBARKEITSPERIODE:

Die äußerlich erkennbaren Zeichen des Östrus liefern nur einen ungefähren Hinweis auf den Zeitpunkt der Ovulation und reichen für das Festlegen des optimalen Deck- bzw. Besamungstermins nicht aus. Der genaue Zeitpunkt der Ovulation kann von Hündin zu Hündin stark variieren: Bei 20 % der Hündinnen erfolgt die Ovulation außerhalb des Zeitraums zwischen dem 10. und dem 14. Tag der Läufigkeit. Die Vaginalzytologie zur Bestätigung, in Kombination mit der Progesteronbestimmung stellen die präziseste Methode dar, den Ovulationszeitpunkt zu ermitteln und somit den optimalen Deck- bzw. Inseminationstermin festzulegen zu können.

Der Progesteronspiegel ist unmittelbar vor der Ovulation niedrig (0–1 ng/ml), beginnt ab dem LH-Peak zu steigen und erreicht zum Zeitpunkt der Ovulation Werte von 6–8 ng/ml.

■ TESTPRINZIP

Der Ovulation Test ist ein visuell abzulesender, membranbasierter, semiquantitativer ELISA-Schnelltest zur Bestimmung der Progesteronkonzentration im Plasma oder Serum von Hündinnen. Er wird hauptsächlich zur Bestimmung des Ovulationszeitpunktes eingesetzt. Der Ovulationstest ist die ideale Ergänzung zur vaginalzytologischen Untersuchung im Rahmen der Östrusüberwachung.

■ DURCHFÜHRUNG DES TESTS

► BENÖTIGTE MATERIALIEN:

1 Testzylinder, 1 Einmalpipette, Substrat A, Substrat B, Waschlösung 1, Waschlösung 2, das Fläschchen zum Vermischen der Substrate, Konjugat, Farbkarte.

Methode:

Den Testkit mindestens zwei Stunden vor Testdurchführung aus dem Kühlschrank nehmen, damit die Reagenzien Raumtemperatur annehmen können. Alle Testkomponenten können während eines ganzen Tages bei Raumtemperatur gelagert werden.

Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen nicht untereinander austauschen.

Um verlässliche, genaue Ergebnisse zu erhalten, müssen die Wartezeiten zwischen den einzelnen Schritten der Testdurchführung unbedingt eingehalten werden (insbesondere die Schritte 1, 3 und 7).

1/ Mit der Einmalpipette **2 Tropfen der Probe** (Serum oder Plasma) in der Mitte des Zylinders auftragen. **2 Minuten warten.**

2/ **2 Tropfen der Waschlösung 1 hinzufügen** (ebenfalls in die Mitte des Zylinders).

Warten, bis die Flüssigkeit vollständig absorbiert wurde.

Diesen Schritt einmal wiederholen.

3/ **1 Tropfen des Konjugats** (Flasche mit roter Verschlusskappe) **hinzufügen (ebenfalls in die Mitte des Zylinders).** **1 Minute warten.**

4/ **6 Tropfen der Waschlösung 2 hinzufügen** (ebenfalls in die Mitte des Zylinders).

Warten, bis die Flüssigkeit vollständig absorbiert wurde.

5/ **Frische Substratlösung herstellen**, unter Verwendung der leeren Flasche zum Vermischen der Substrate (blaues Etikett): Jeweils einen Teil Substrat A und Substrat B (schwarze Verschlusskappen) hinzufügen, indem man den Tropfenzähler des Fläschchens bis zur schwarzen Linie füllt. Das frisch hergestellte Substrat durch behutsames Schütteln gründlich mischen. Das Substrat darf nicht auf Vorrat hergestellt werden, da es nach 30 Minuten zu verderben beginnt.

6/ **2 Tropfen des frisch hergestellten Substrats** (Mischfläschchen, blaues Etikett) **hinzufügen** (ebenfalls in die Mitte des Zylinders). Nicht verwendetes Substrat ist nach 30 Minuten zu verwerfen, da es rasch instabil wird. Das entleerte Mischfläschchen für spätere Tests aufbewahren.

7/ **9 Minuten warten und danach das Ergebnis ablesen.**

Zur Interpretation des Testergebnisses die beigegefügte Farbkarte verwenden.

DE-2

■ INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die Farbnuancen entsprechen der jeweiligen Progesteronkonzentration.

Farbe	Progesteronkonzentration	Interpretation und weitere Aktionen*
C1 Leuchtendblau	0 bis 1 ng/ml	Baseline-Progesteronkonzentration. Test alle 2 Tage wiederholen, bis eine hellblaue Farbe erhalten wird.
C2 Hellblau	1 bis 2,5 ng/ml	LH-Peak. Progesteronspiegel im Steigen. Täglich den Test wiederholen, bis eine blassblaue Farbe (C3) erhalten wird.
C3 Blassblau	2,5 bis 8 ng/ml	Übereinstimmend mit dem Ovulationszeitraum. Hündin binnen ein bis drei Tagen zweimalig decken lassen bzw. besamen. (1, 3 und 5 Tage später mit tiefgefrorenem Sperma)
C4 Weiß	> 8 ng/ml	Sofort belegen/besamen. Achtung: Der optimale Deckzeitpunkt kann bereits vorbei sein.

* Bevor eine endgültige Entscheidung hinsichtlich des Belegens der Hündin getroffen wird, sollte der Tierarzt alle Testergebnisse in Verbindung mit den anamnestischen Angaben zum Tier und den Befunden von Ultraschalluntersuchung und/oder Vaginalzytologie interpretieren.

■ EMPFEHLUNGEN

• HALTBARKEIT:

- 14 Monate ab dem auf der Packung vermerkten Herstellungsdatum. Bei +2°C bis +8°C lagern. Nicht einfrieren.
- Das Verfallsdatum ist auf jedem Karton aufgedruckt.

• PROBEN:

- Zur Blutentnahme können EDTA-Röhrchen, heparinbeschichtete oder normale Probenröhrchen verwendet werden. Keine Monovetten mit Separationsgel verwenden. Kein Vollblut verwenden.
- Sofort nach der Probenahme den Inhalt des Röhrchens durch mehrmaliges Umdrehen vermischen. Probe zentrifugieren oder bei Raumtemperatur während 2 Stunden gerinnen lassen, danach Überstand (Serum oder Plasma) in ein sauberes Glasröhrchen überführen. **Keine hämolysierten oder lipämischen Proben verwenden.**
- Bei Testdurchführung binnen 24 Stunden nach Probennahme: Serum oder Plasma bei Raumtemperatur lagern.
- Bei Testdurchführung 24–72 Stunden nach Probennahme: Serum oder Plasma +2°C bis +8°C lagern (Kühlschrank).
- Bei Testdurchführung später als 72 Stunden nach Probennahme: Serum oder Plasma bei -20°C (Tiefkühlschrank) lagern.

DE-3

• **WANN SOLL GETESTET WERDEN:**

- Die Vaginalzytologie kann verwendet werden, um den Zeitpunkt des nahenden LH-Peaks zu ermitteln und in der Folge mit der Progesteronbestimmung zu beginnen.

- In der Regel reicht eine ein- bis zweimalige Durchführung des Tests aus, wenn der erste Tag des beginnenden Proöstrus (Vaginalblutung) bekannt ist, da die Ovulation zwei Tage nach dem LH-Peak erfolgt (zwischen Tag 10 und 14 nach Beginn der Läufigkeit).

- Die Häufigkeit der Durchführung des Ovulationstests richtet sich je nach Läufigkeitsphase und bekannter Vorgeschichte des individuellen Patienten. In manchen Fällen, wie z. B. bei Hündinnen mit Fertilitätsproblemen oder unregelmäßigen Zyklen, ist es ratsam, mit dem Testen ab dem 4.Tag des Proöstrus zu beginnen und den Test alle zwei Tage bis zum Belegen durchzuführen.

• **VORSICHTSMASSNAHMEN UND HINWEISE:**

- Den Kit im Kühlschrank lagern, wenn er nicht verwendet wird.

- Kunststoffbeutel nach Entnahme eines Testzylinders stets wieder gut verschließen.

- **Testzylinder oder Reagenzien aus verschiedenen Kits nicht untereinander austauschen.**

- Um die empfohlene Probenmenge zu standardisieren, sind nur die im Lieferumfang enthaltenen Einmalpipetten zu verwenden.

- Um ein korrektes Auftragen von Probe und Reagenzlösung zu gewährleisten, müssen Pipette stets senkrecht gehalten werden.

• **SONSTIGE EMPFEHLUNGEN:**

Diese Empfehlungen können lediglich als Leitfaden dienen. Kein diagnostisches Verfahren ist immer und unter allen Umständen hundertprozentig genau. Ziel dieses Tests ist es, den Praktiker bei der Ermittlung des Ovulationszeitpunkts und der Festlegung des optimalen Deck- bzw. Besamungstermins zu unterstützen. Alle Testergebnisse sind daher stets in Verbindung mit den anamnestischen Daten des Patienten und den Befunden der klinischen und gynäkologischen Untersuchung zu interpretieren. Die definitive Diagnosestellung ist das Vorrecht des Tierarztes und liegt allein in dessen Verantwortungsbereich.

Bio Veto Test und seine Vertreter können nicht für Konsequenzen, die sich aus der falschen Handhabung des Tests oder einer Fehlinterpretation der Testresultate ergeben, haftbar gemacht werden.

DE-4

Ovulation Test

Veterinaire diagnostische kit

Alleen voor *in-vitro* diagnostiek

■ KLINISCHE TOEPASSING

• BEPALING VAN DE VRUCHTBARE PERIODE:

De lichamelijke verschijnselen van oestrus vormen slechts een onnauwkeurige indicatie voor ovulatie en zijn niet voldoende om het optimale tijdstip voor dekking of inseminatie te bepalen. Per teef kan het precieze tijdstip van ovulatie erg variëren: 20% van de teven ovuleert buiten de periode die dag 10 t/m 14 van de loopsheid bestrijkt. Vaginale uitstrijkjes, zijn in combinatie met progesteronbepalingen de meest accurate methode om het moment van ovulatie te bepalen en zo het optimale tijdstip voor een inseminatie of dekking vast te stellen en optimale resultaten te behalen.

Vlak voor de ovulatie is de concentratie progesteron laag (tussen 0 en 1 ng/ml). Ze begint te stijgen ten tijde van de LH-piek, waarbij op het moment van ovulatie een waarde van 6 tot 8 ng/ml bereikt wordt.

■ HET PRINCIPE

De Ovulation Test is een snelle, membraangekoppelde, semi-kwantitatieve ELISA-test, waarmee de progesteronspiegel in het plasma of serum van honden door middel van aflezen bepaald kan worden. Het wordt met name gebruikt om het tijdstip van ovulatie vast te stellen. In het kader van oestruscontrole is de Ovulation Test een ideale aanvulling op een vaginaal uitstrijkpreparaat.

■ DE PROCEDURE

► VOOR ELKE TEST HEBT U NODIG

een testcup, een wegwerppipet, een substraat A, een substraat B, een spoelvoeistof 1, een spoelvoeistof 2, een fles voor het mengen van substraten A en B, een conjugaat en een kleurenkaart.

Methode:

Neem de kit minimaal 2 uur voor gebruik uit de koelkast, zodat de reagentia de tijd krijgen om op kamertemperatuur te komen. De kit kan de hele dag bij kamertemperatuur worden bewaard.

Meng geen reagentia met elkaar die niet hetzelfde lotnummer hebben! Om zeker te zijn van de nauwkeurigheid van de resultaten is het erg belangrijk dat de wachttijden tussen de verschillende teststadia worden aangehouden (met name de stappen 1, 3 en 7).

1/ Breng met een pipet **2 druppels monster** (serum of plasma) over in het midden van de cup. **Wacht 2 minuten.**

2/ Voeg **2 druppels van spoelvloeistof 1** toe in het midden van de cup. Wacht tot de vloeistof geheel geabsorbeerd is.
Herhaal deze stap eenmaal.

3/ Voeg **1 druppel conjugaat** (fles met rode dop) **toe in het midden van de cup. Wacht 1 minuut.**

4/ Voeg **6 druppels van spoelvloeistof 2** toe in het midden van de cup.
Wacht tot de vloeistof geheel geabsorbeerd is.

5/ **Maak een verse substraatoplossing** met behulp van de lege mengfles (blauw etiket): voeg gelijke hoeveelheden substraat A en substraat B toe (zwarte doppen) door hun druppelaars te vullen tot aan de zwarte lijn. Homogeniseer de vloeistof door het nieuwe substraat te schudden. Maak het substraat niet van tevoren klaar, omdat het al na 30 minuten achteruit gaat in kwaliteit.

6/ Voeg **2 druppels van het vers bereide substraat** (blauw etiket) toe in het midden van de cup. Substraatoplossing die na 30 minuten nog niet gebruikt is, moet worden weggegooid omdat die snel onstabiel wordt. Bewaar het lege flesje voor volgende tests.

7/ **Wacht 9 minuten voordat u het resultaat afleest.**
Gebruik de kleurenkaart om het resultaat te interpreteren.

NL-2

■ INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN

De kleur correspondeert met de progesteronconcentratie.

Kleur	Progesteronconcentratie	Interpretatie en vervolg*
C1 Helderblauw	0 – 1 ng/ml	Basale progesteronconcentratie. Herhaal de test om de 2 dagen, tot u een lichtblauwe kleur waarneemt.
C2 Lichtblauw	1 – 2,5 ng/ml	LH-piek. De progesteronspiegel stijgt. Herhaal de test elke dag, totdat het testresultaat C3 (fletsblauw) is.
C3 Fletsblauw	2,5 – 8 ng/ml	In overeenstemming met de ovulatieperiode. Dekking of inseminatie wordt 1 tot 3 dagen later geadviseerd (1, 3 en 5 dagen later met diepvries sperma).
C4 Wit	> 8 ng/ml	Onmiddellijk laten dekken of insemineren. Waarschuwing: de vruchtbare periode is mogelijk al voorbij.

* De dierenarts dient alle testresultaten te beoordelen in het licht van de ziektegeschiedenis van de patiënt, een echografisch onderzoek en/of een vaginaaluitstrijkje voordat hij een beslissing neemt.

■ AANBEVELINGEN

• HOUDBAARHEID:

- 14 maanden vanaf de productiedatum die vermeld staat op de doos. Bewaren bij +2°C tot +8°C. Niet aan bevrozing blootstellen.
- De vervaldatum staat op elke doos afgedrukt.

• MONSTERS:

- Verzamel bloedmonsters in een EDTA- of heparinebuis of in een gewone bloedbuis. Gebruik geen buisjes die serum separator gel bevatten. Gebruik geen vol bloed.
- Onmiddellijk nadat het monster is afgenomen, moet de buis enige malen worden omgekeerd. Centrifugeer het monster of laat het stollen door het 2 uur bij kamertemperatuur te laten staan. Giet vervolgens het serum of plasma over in een schone glazen buis. **Gebruik geen gehemolyseerd of lipemisch monster.**
- Voor testen binnen 24 uur na monsterneming: bewaar serum of plasma bij kamertemperatuur.
- Voor testen 24 – 72 uur na monsterneming: bewaar serum of plasma bij een temperatuur tussen +2°C en +8°C (koelkast).

NL-3

- Voor testen meer dan 72 uur na monsterneming: bewaar serum of plasma bij -20°C.

• **WANNEER TESTEN:**

- Vaginaal cytologisch onderzoek kan worden gebruikt om het naderen van de LH-piek vast te stellen, en daarmee het moment waarop het progesteronniveau moet worden bepaald.

- Als de eerste dag van de pro-oestrus bekend is (vaginale bloeding), zijn 1 of 2 tests meestal voldoende, uitgaande van het gegeven dat ovulatie in het algemeen 2 dagen na de LH-piek plaatsvindt (10 – 14 dagen na het begin van de oestrus).

- De frequentie waarmee de Ovulation Test moet worden gedaan, is per geval afhankelijk van het tijdstip waarop de oestrus plaatsvindt en van de ziektegeschiedenis. In sommige gevallen, zoals bij vruchtbaarheidsproblemen of een onregelmatige cyclus, is het aan te raden om vanaf de vierde dag van de pro-oestrus te beginnen met testen en dit elke 2 dagen te herhalen, tot het tijdstip van inseminatie.

• **VOORZORGSMAATREGELEN:**

- Bewaar de kit in de koelkast als ze niet gebruikt wordt.

- Nadat er een testcup uit de plastic zak is gehaald, moet deze steeds opnieuw worden dichtgemaakt.

- **Gebruik geen testcups of reagentia van verschillende kits door elkaar.**

- Gebruik alleen de met de kit meegeleverde wegwerppipetten, zodat elke test met dezelfde, aanbevolen hoeveelheid monster wordt uitgevoerd.

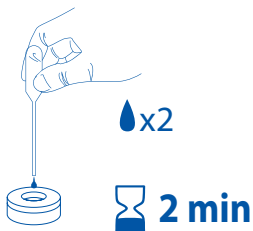
- Om ervoor te zorgen dat monster en reagens correct worden toegevoegd, moeten pipetten altijd verticaal worden gehouden.

• **OVERIGE ADVIEZEN:**

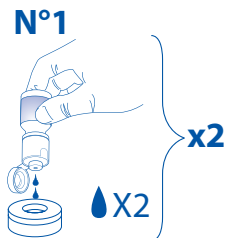
Bovenstaande aanbevelingen zijn slechts richtlijnen; geen enkele test is altijd en onder alle omstandigheden 100% accuraat. Doel van deze test is om praktici te helpen bij het bepalen van het moment van ovulatie en daarmee van het optimale moment voor een dekking of inseminatie. Alle testresultaten moeten daarom worden beoordeeld in het licht van de ziektegeschiedenis van de patiënt en de resultaten van het klinisch en gynaecologisch onderzoek. Het stellen van de definitieve diagnose blijft de taak en de verantwoordelijkheid van de dierenarts. Bio Veto Test en haar distributeurs kunnen niet verantwoordelijk worden gehouden voor de gevolgen van verkeerd gebruik of verkeerde interpretatie van de resultaten van de test.

NL-4

①



②



③



④



5

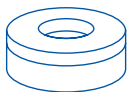


6

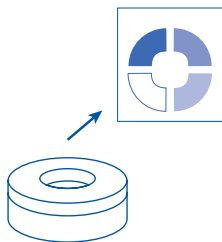


7

 **9 min**



8



Manufactured by / Fabriqué par / Fabricado por / Manufacturado
por / Prodotto da / Κατασκευάζεται από την / Hergestellt von /
Vervaardigd door :

BIO VETO TEST
285, AVENUE DE ROME
83500 LA SEYNE SUR MER - FRANCE

XPROTOOVT.VV6