

Инструкция за употреба LACTOSCAN SCC COMPACT

Прецизно броене на соматични клетки в три лесни стъпки
Опростено. Бързо. Точно. Надеждно.



Инструкцията за употреба на LACTOSCAN SCC COMPACT включва, стъпка-по-стъпка, указания за настройка, употреба и поддръжка на уреда, подготовка на пробата, събиране и обработка на данни от анализа.

Информацията в това упътване е описана възможно най-точно и е приложима за последните хардуерни, и софтуерни версии на LACTOSCAN SCC COMPACT, но може да бъде променена без предварително уведомление.

Последно обновена: 29.03.2019

Мерки за безопасност

1. Винаги се уверявайте, че захранването на входното напрежение съответства на това във вашия регион.
2. За „Условия на работната среда“, вижте страница 12.
3. Този уред е с въздушно охлаждане, повърхностите му се загряват по време на работа. Когато го монтирате, оставете повече от 10 см около него.
4. Никога не поставяйте метални предмети във вентилатора на уреда, защото това може да причини електрически удар, телесна повреда или щета по уреда.
5. Винаги изключвайте захранването на уреда (ключ на позиция OFF) преди да включите захранващия кабел в контакта.
6. Не докосвайте захранващия кабел с мокри ръце.
7. Проверете дали контактът, в който се включва уредът, е заземен.
8. В случай на повреда или изпускане на уреда, изключете захранването и се свържете с оторизиран сервиз. Не разглобявайте уреда. Ако уредът е отварян, гаранцията не се зачита.
9. Използвайте само оригинални аксесоари (захранване, USB памет, консумативи LACTOCHIP, безжична клавиатура и мишка).
10. Използвайте този уред само както е посочено в тази инструкция и в документите за неговите аксесоари, и консумативи. Всяко използване на уреда по различен начин може да доведе до щети или наранявания.

Символи за безопасност

Следните символи, посочени по-долу, се намират върху уреда и в този документ. Разучете значението на символите и винаги използвайте уреда по възможно най-безопасния начин.

Символ	Значение
	Внимание и Предупреждение
	Уредът покрива всички разпоредби на ЕС
	Защита от размяна на полюсите на захранването
	Плюс и минус на захранващата букса

Предупреждения

Артикул	Предупреждение
Вградена батерия на таблета	Тази батерия не се подменя от потребителя. Моля, обърнете се към квалифициран персонал.
Кутия	Не разглобявайте кутията на уреда. Няма регулируеми компоненти вътре в уреда. Ако е налице неизправност, моля, свържете се със сервизния център.
Ръководство за оператора	Не се опитвайте да работите с уреда, ако предварително не сте прочели и разбрали инструкциите.
Консумативи LACTOCHIP	Консумативите са за еднократна употреба. След използване ги изхвърляйте в подходящ контейнер.
Оператор	Трябва да има основни познания по процедурата по броене на клетки.

Съдържание

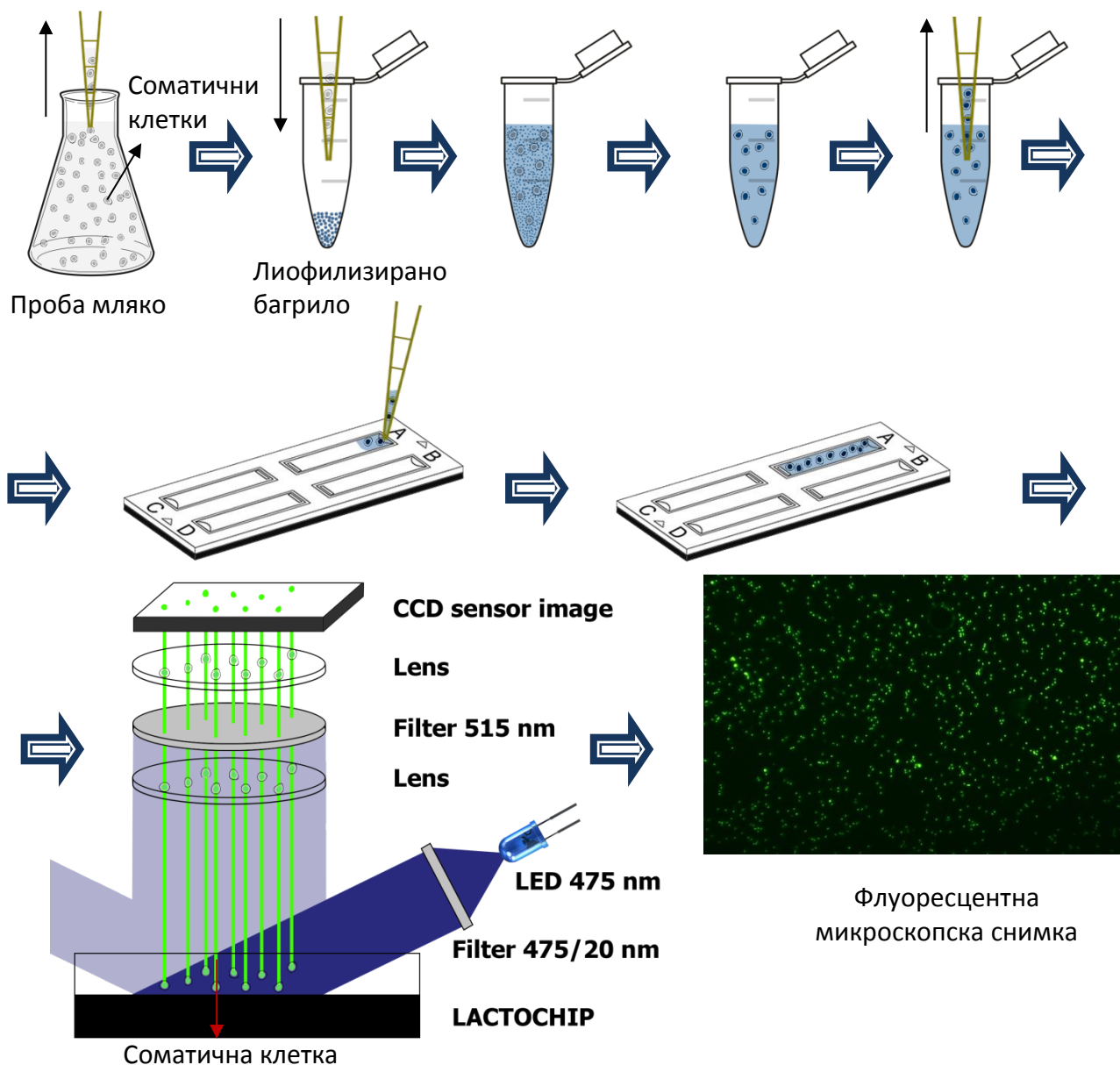
Въведение	5
Принцип на работа на LACTOSCAN SCC COMPACT	6
LACTOSCAN SCC COMPACT съпоставен със Стандартен метод за броене на соматични клетки	7
Разопаковане на LACTOSCAN SCC COMPACT	9
Съдържание на продукта	10
Условия на работната среда	11
Описание на LACTOSCAN SCC COMPACT	12
Описание на LACTOSCAN SCC COMPACT KIT	14
Описание на LACTOCHIP	15
Спецификации	16
Описание на основните екрани на софтуера	19
Подготовка за работа с LACTOSCAN SCC COMPACT	34
Подготвяне на проба за анализ	36
Анализ на проба	42
Въвеждане на данни за проби по време на анализа	48
Референтен анализ на проби	51
Съхраняване на снимката от анализа като .BMP файл	57
Задаване на параметри на анализа	59
Изтриване на резултат от базата данни	66
Почистване на Базата данни	67
Разпечатване на резултати от базата данни	69
Запазване на резултатите в Excel файл:	74
Фокусиране на LACTOSCAN SCC COMPACT	76
Работа в режим Advanced:	80
Обновяване на информация за видовете LACTOCHIP налични в софтуера	89
Излизане от програмата и изключване на LACTOSCAN SCC COMPACT	94
Поддръжка и почистване	95

LACTOSCAN SCC COMPACT – определяне на броя на соматични клетки в сурово мляко - метод	96
Откриване на дрождеви мастит в проби мляко с LACTOSCAN SCC COMPACT	113
Гаранционна карта	131
Сервизна карта.....	132
Контакти.....	133

Въведение

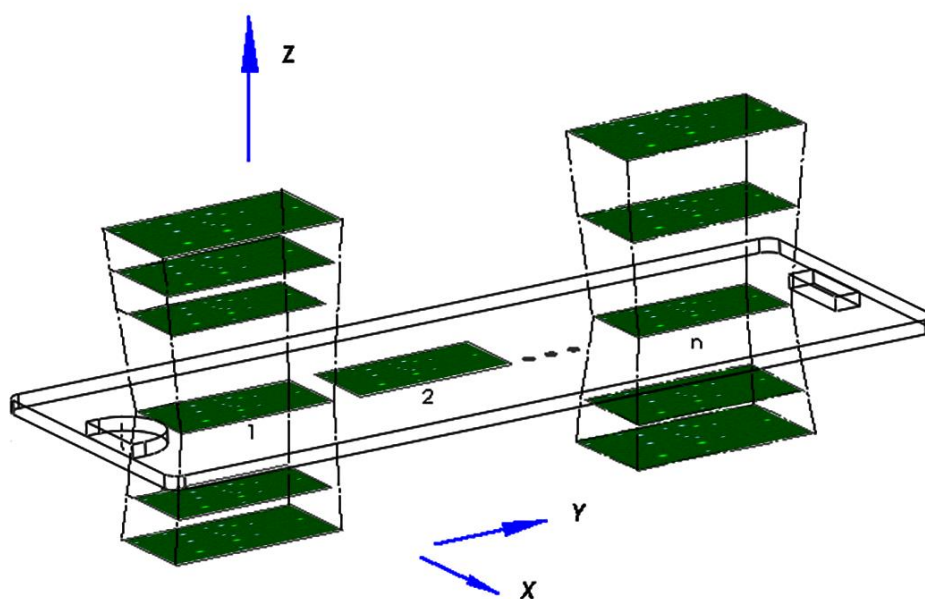
LACTOSCAN SCC COMPACT е базиран на флуоресцентна микроскопска техника за броене на клетки. Благодарение на флуоресцентното багрило, LED оптиката и CMOS технологиите на заснемане, анализът на соматичните клетки в млякото е точен, надежден и бърз.

За да се преброят соматичните клетки с LACTOSCAN SCC COMPACT, пробата мляко се смесва с багрило SOFIA GREEN. Само 8 μL от готовата проба директно се пипетират върху LACTOCHIP (за еднократна употреба). След това чипът се зарежда в уреда. За време от 10 секунди до 2 минути се извършва анализът, а продължителността зависи от броя на заснетите полета. Системата на LACTOSCAN SCC COMPACT автоматично се фокусира върху чипа и оцветените клетки се заснемат от чувствителната CMOS камера. Алгоритъмът за анализ на цифровите изображения определя броя на флуоресциращите клетки и изчислява тяхната концентрация и размер. Резултатът автоматично се показва на екрана.



Принцип на работа на LACTOSCAN SCC COMPACT

LACTOSCAN SCC COMPACT е бърз, точен и надежден брояч на соматични клетки. Той е уникален, 3D, многообразен, с приложение с патентна защита, с последователен процес на сканиране, на основата на прецизен микроскоп с флуоресцентна оптика и ниско увеличение, и софтуер за анализ на изображения. Чрез автоматично преместване на механизма по оси X - Y и с течни лещи по Z, уредът заснема максимално 60 изображения. След заснемането изображенията се обработват от вградения софтуер и чрез използване на формула по IDF/ISO 13366 усредненият резултат се показва на екрана. Целият процес след поставяне на LACTOCHIP с проба в каретката е автоматичен.

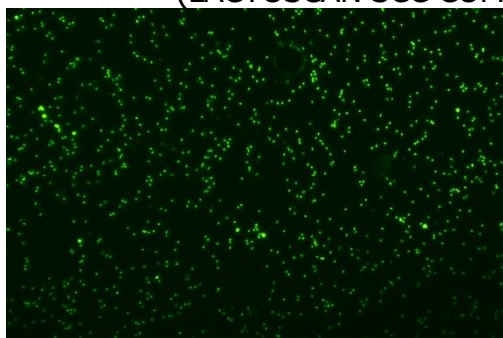


LACTOSCAN SCC COMPACT съпоставен със Стандартен метод за броене на соматични клетки

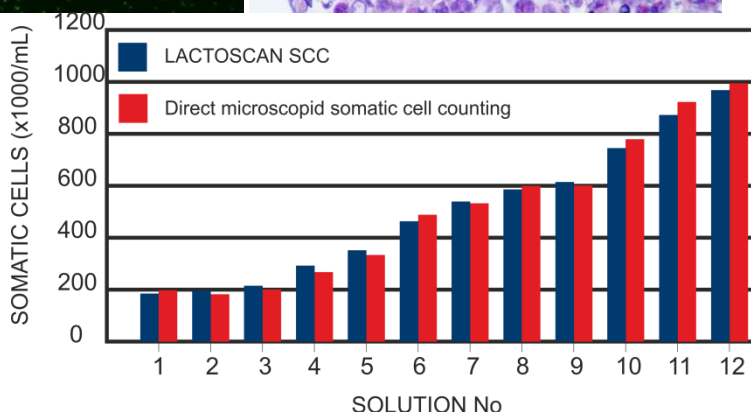
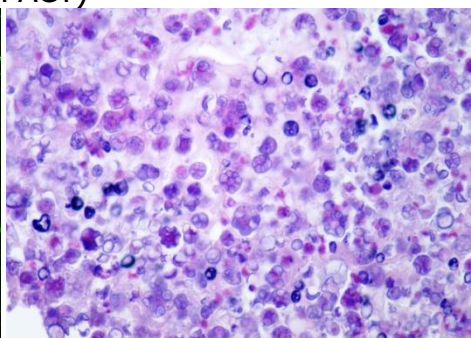
Описаните по-долу данни са на база валидация и проверка на LACTOSCAN SCC COMPACT, извършена от катедра "Биотехнологии" при Университет "Проф. Асен Златаров", България

- 1. Точност на анализа – сравнение между LACTOSCAN SCC COMPACT и Директно микроскопско броене на соматични клетки (ДМБСС)

Изображение на соматични клетки
(LACTOSCAN SCC COMPACT)



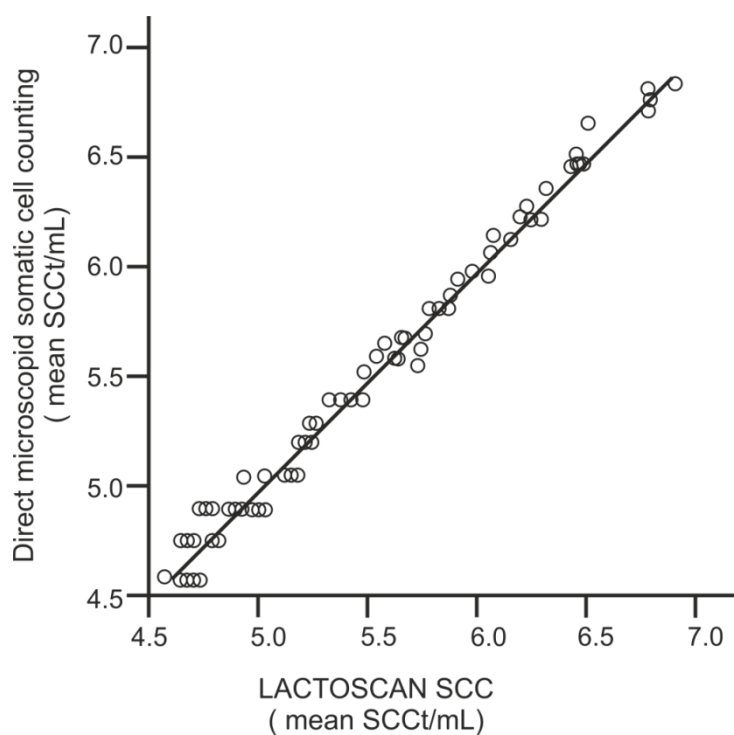
Изображение на соматични клетки
(ДМБСС)



LACTOSCAN SCC COMPACT		Стандартен метод	
БСК (клетки/мл)	*КВ %	БСК (клетки/мл)	*КВ %
100 000	5%	100 000	7%
500 000	3%	400 000	5%
1 000 000	2%	600 000	4%

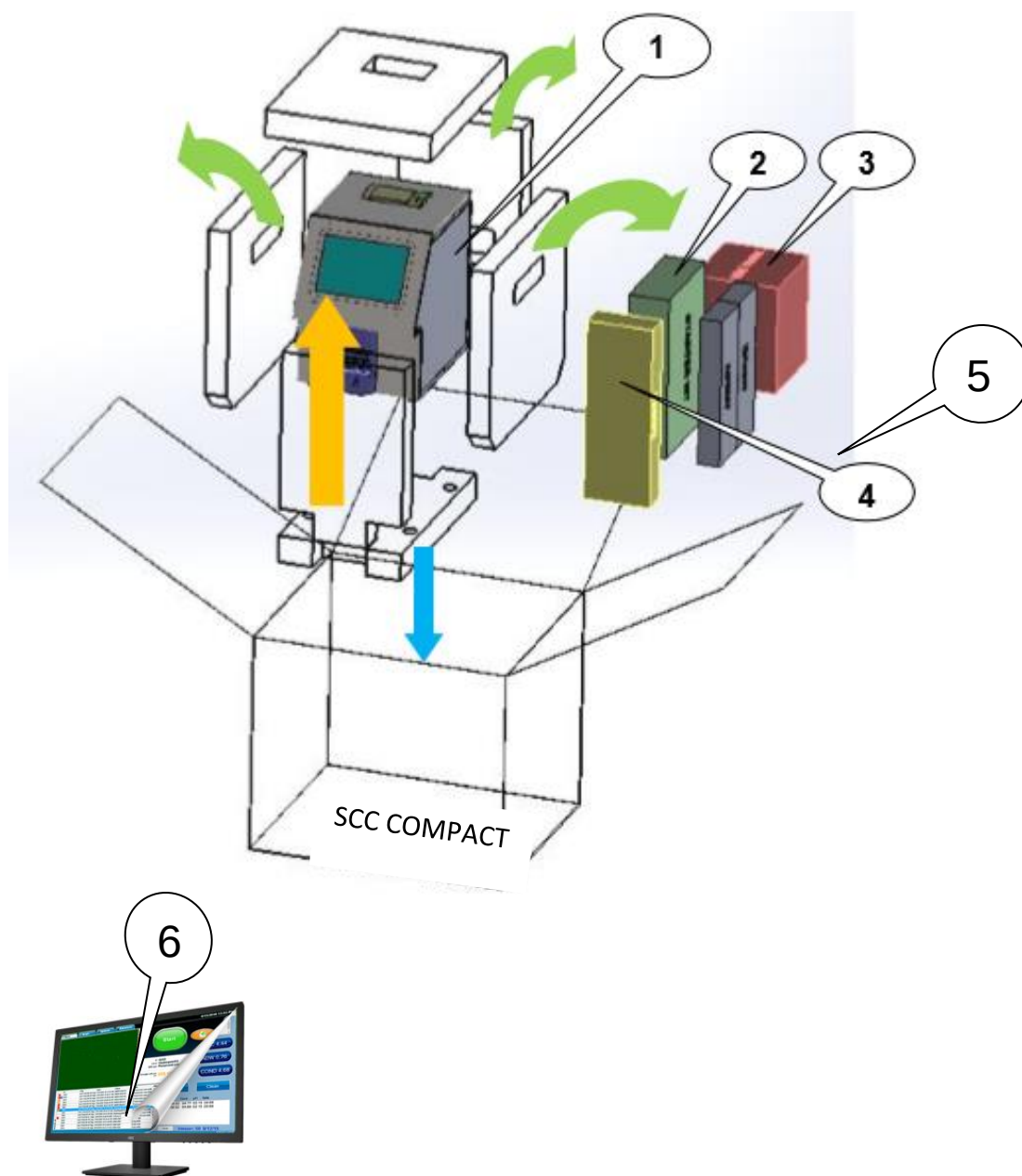
*Коефициент на вариация

- **2. Съвместимост – Съотношение на данните между LACTOSCAN SCC СОМРАСТ и Директно микроскопско броене на соматични клетки (ДМБСС)**



Разопаковане на LACTOSCAN SCC COMPACT

Внимателно разопаковайте LACTOSCAN SCC COMPACT, като спазвате последователността, илюстрирана по-долу:



Легенда:

1. LACTOSCAN SCC COMPACT
2. LACTOSCAN стартов комплект
3. Миксер Mini Vortex
4. Безжична мишка и клавиатура
5. Автоматични пипети
6. Външен монитор (идва с всеки LACTOSCAN SCC COMPACT в отделна кутия)

Съдържание на продукта

Броячът на соматични клетки LACTOSCAN SCC COMPACT се изпраща в комплект със следните артикули:

Артикул	Количество
LACTOSCAN SCC COMPACT соматичен брояч	1 брой
LACTOSCAN SCC COMPACT стартов комплект	1 комплект
LACTOSCAN SCC COMPACT 12V захранващ кабел	1 брой
LACTOSCAN SCC COMPACT Бързо ръководство	1 брой
Автоматична пипета от 10 до 100 µL – настроена на 8 µL	1 брой
Автоматична пипета от 20 до 200 µL - настроена на 100 µL	1 брой
USB безжична клавиатура с батерии	1 брой
USB безжична мишка с батерии	1 брой
Миксер MiniVortex	1 брой
LACTOSCAN FARM ECO млекоанализатор (опция)	1 брой
Външен монитор	1 брой

При получаване на уреда, моля прегледайте го внимателно за щети, получени по време на транспортирането. Уверете се, че всички части на уреда (посочени по-горе) са налични. Искове за щети трябва да бъдат заявени към куриерската фирма. Гаранцията не покрива щети, получени по време на транспортирането.



Внимание:

Непремахването на всички части от опаковката може да доведе до повреда на уреда.

С цел предотвратяването на щети при транспортиране, при изпращане на уреда стиропорите трябва да бъдат върнати на същите места, на които са били при получаване на уреда.

Регистрация на уреда:

Всеки клиент може да регистрира своя LACTOSCAN SCC COMPACT, като посети www.lactoscan.com/device_registration. За целта е необходимо да се попълни серийният номер на уреда, името на притежателя на уреда и данни за контакт. След регистриране на уреда ще се получават известия за актуализации на софтуера и информация за нови анализи, които могат да бъдат правени с LACTOSCAN SCC COMPACT.

Предназначение на уреда:

LACTOSCAN SCC COMPACT е предназначен само за анализ на мляко в млекосъбирателни пунктове, ферми за мляко, лаборатории и др. Не е предназначен за терапевтично или диагностично използване при хора и животни.

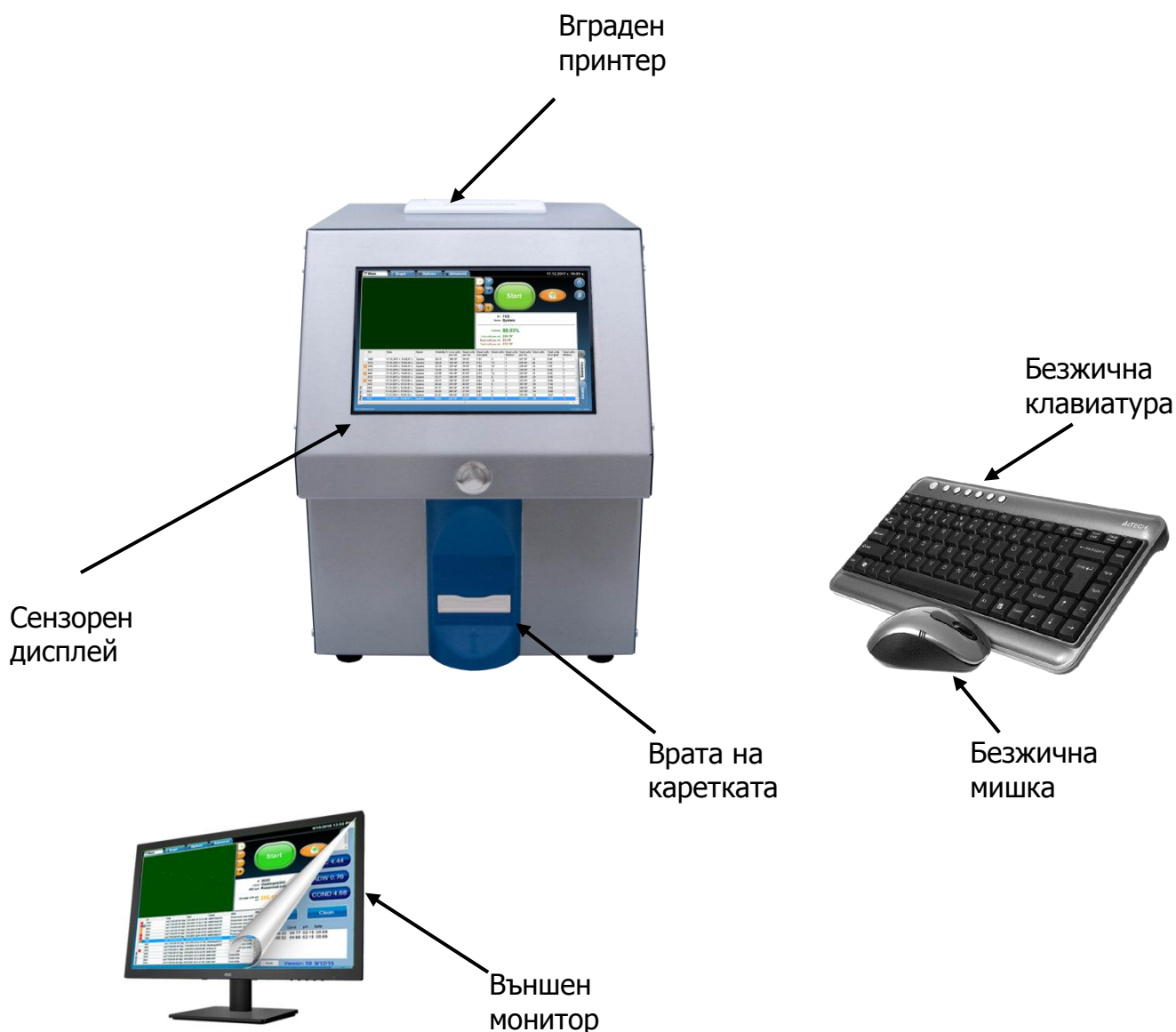
Условия на работната среда

За да работи правилно и стабилно за продължителен период от време, LACTOSCAN SCC COMPACT трябва да е в помещение със следните условия на околната среда:

- Стайна температура между 15-35 °C. Не се препоръчва уредът да работи в помещение с температура на въздуха под 4° C.
- Относителна влажност 0-95%.
- В пространство без корозивни газове или други корозивни субстанции.
- В слабо запрашено пространство.
- 10 см минимално отстояние от уреда за правилен въздушен поток.
- Да не се излага на пряка слънчева светлина.
- Да не се подлага на пряка или продължителна вибрация.
- Да не се поставят тежки предмети върху уреда.

Описание на LACTOSCAN SCC COMPACT

1. Преден панел, горен панел и аксесоари:



Врата на каретката - отваря се автоматично и от нея се подава поставката за LACTOCHIP-а с пробата за анализ.

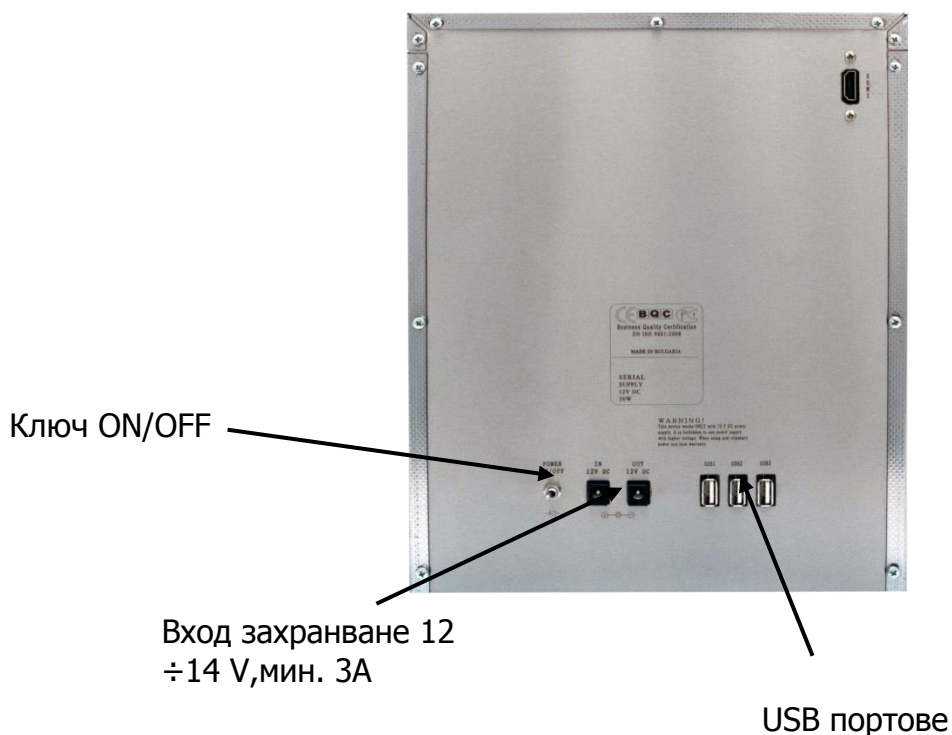
Сензорен дисплей – за работа с уреда. Съдържа всички необходими функции и показва данните от анализа на клетките.

Вграден принтер – за отпечатване на резултата след края на анализа или на вече извършени анализи.

Безжична клавиатура и мишка – за по-лесно въвеждане на данните на пробата за анализ.

Външен монитор – идва с всеки LACTOSCAN SCC COMPACT.

2. Заден панел



Ключ ON/OFF – включване и изключване на уреда.

Вход захранване 12 ÷ 14 V, мин. 3A - за включване на захранването. Да се използва само захранването, което е включено в комплектовката на уреда.



Внимание!

Не включвайте уреда към захранването, ако ключ ON/OFF не е изключен.



USB портове - за включване на USB външна памет, безжична клавиатура и мишка.

Внимание!

Не изваждайте USB външната памет по време на работа на устройството.

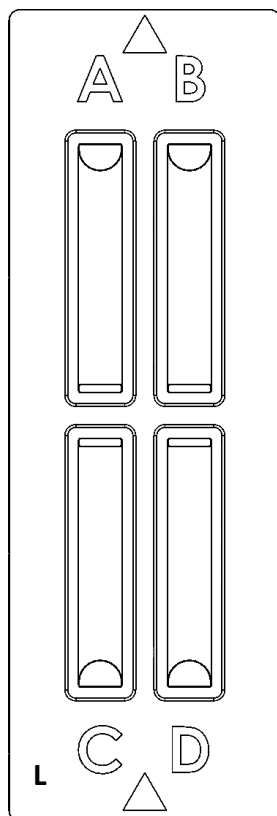
Описание на LACTOSCAN SCC COMPACT KIT

Видове LACTOSCAN SCC COMPACT KIT:

- LACTOSCAN SCC COMPACT STARTER KIT- 100 теста (стартов комплект) – съдържа 25 броя LACTOCHIP x4 за еднократна употреба, 100 микроепруветки с лиофилизирано багрило SOFIA GREEN и 200 броя накрайници за автоматичната пипета. Комплектът има срок на годност 1 година от датата на производство.
- LACTOSCAN SCC COMPACT KITx4 - 400 теста - съдържа 100 броя LACTOCHIP x4 за еднократна употреба, 400 броя микроепруветки с лиофилизирано багрило SOFIA GREEN и 800 броя накрайници за автоматичната пипета. Комплектът има срок на годност 1 година от датата на производство.

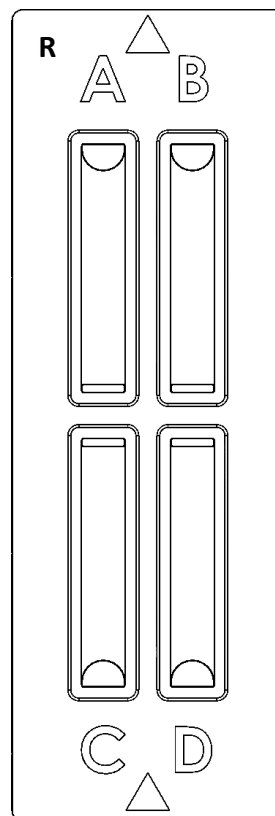
Описание на LACTOCHIP

LACTOCHIP са еднократни чипове, специално проектирани да се използват с LACTOSCAN SCC COMPACT. Изработени са от ABS и PMMA.



LACTOCHIP 4L

LACTOCHIPx4 има четири отделни затворени камери (A, B, C и D), които позволяват анализ на четири различни проби. Всяка камера има вместимост 8 μ L. LACTOSCAN SCC COMPACT заснема по 16 изображения на пробата във всяка камера и след това, с помощта на специален алгоритъм, извършва анализа.



LACTOCHIP 4R



Внимание!

Преди да започнете работа с LACTOSCAN SCC COMPACT KIT, винаги проверявайте буквата на LACTOCHIP. Тя може да бъде L или R. Буква L означава LACTOCHIP 4L и буква R означава LACTOCHIP 4R. Буквите на LACTOCHIP съвпадат с вече зададените в програмата данни за LACTOCHIP-овете. Един LACTOSCAN SCC COMPACT KIT съдържа чипове само с буква L или само с буква R.

Спецификации

LACTOSCAN SCC COMPACT

ФИЗИЧЕСКИ ХАРАКТЕРИСТИКИ	Вид на уреда:	Брояч на соматични клетки		
	Размери (ВхШхД):	25.5 см x 38 см x 30 см		
	Тегло:	7.300 кг		
	Работно напрежение на захранването:	100-230 VAC, 2.5A, 120V		
	Честота:	50/60 Hz		
	Ел. захранване:	12 V, 5A, 60W		
	Място на монтаж:	Използване	само	на
		закрито!		
ТЕХНИЧЕСКА СПЕЦИФИКАЦИЯ	Работна температура:	15-35 °C		
	Работна влажност:	0-95 %		
	Време на анализ:	От 10 секунди до 2 минути, в зависимост от броя на заснетите полета		
	Концентрация на клетки в пробата:	0 ÷ 1x10 ⁷ клетки/мл		
	Необходимо количество проба:	8 µL		
	Фърмуер:	LACTOSCAN SCC COMPACT (за актуализации: www.lactoscan.com/updates)		

ОПТИКА	USB:	4 GB
	Обектив:	4 x
	LED:	5 W син LED, 465 nm
	Филтър:	Възбуждащ филтър и емисионен филтър
	Камера:	CMOS камера
	IEC 60825-1:	1993+A1; 1997+A2; 2001

LACTOSCAN SCC COMPACT STARTER KIT - 100 теста

ФИЗИЧЕСКИ ХАРАКТЕРИСТИКИ	Размери (ВxШxД):	355 мм x 255 мм x 135 мм
	Тегло:	1.500 кг
	Брой LACTOCHIP x4:	25 бр.
	Брой лиофилизирано багрило SOFIA GREEN:	100 бр.
	Брой накрайници за автоматичната пипета:	200 бр.

LACTOSCAN SCC COMPACT KIT x4 - 400 теста

ФИЗИЧЕСКИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Размери (ВхШхД): 355 мм x 255 мм x 135 мм

Тегло: 1.500 кг

Брой LACTOCHIP x4: 100 бр.

Брой SOFIA GREEN
лиофилизирано
багрило: 400 бр.

Брой накрайници за
автоматичната пипета: 800 бр.

LACTOCHIP x4

ФИЗИЧЕСКИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Материал: ABS и PMMA

Размери (ВхШхД): 2 мм x 25 мм x 75 мм

Тегло: 0.005 кг

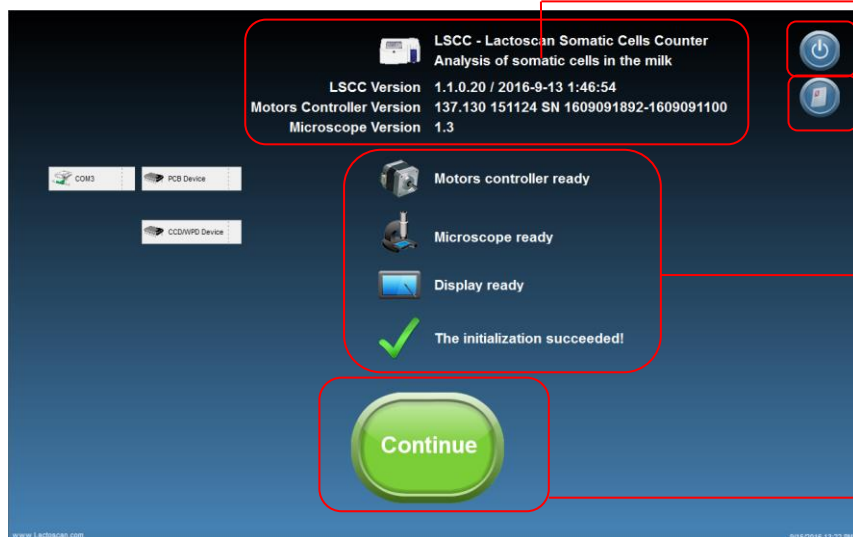
Обем на камерата: 8 µL

Дебелина на
микрофлуидната
камера: 50 µm

Описание на основните екрани на софтуера

Софтуерът на LACTOSCAN SCC COMPACT включва следните основни екрани:

- Начален екран



Идентификация на уреда

Бутон „Изход“

Бутон „Ръководство за оператора“

Готовност на модулите

Бутон „Продължи“

Начален екран

Идентификация на уреда

Съдържа информация за софтуерните версии на уреда.

Бутон „Изход“

При натискане, потребителят преминава към меню Изключване Захранване / Операционна система, от което може да се избере дали да се изключи уредът или само програмата.



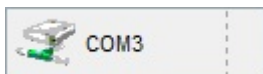
При натискане, ръководството за оператора се отваря в PDF файл.

Готовност на модулите

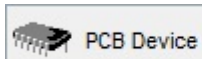
Съдържа информация за състоянието на уреда след самостоятелния диагностичен тест.



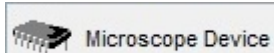
При натискане се преминава към основния екран на софтуера.



За нормална работа на апарата трябва да бъде избран COM 3

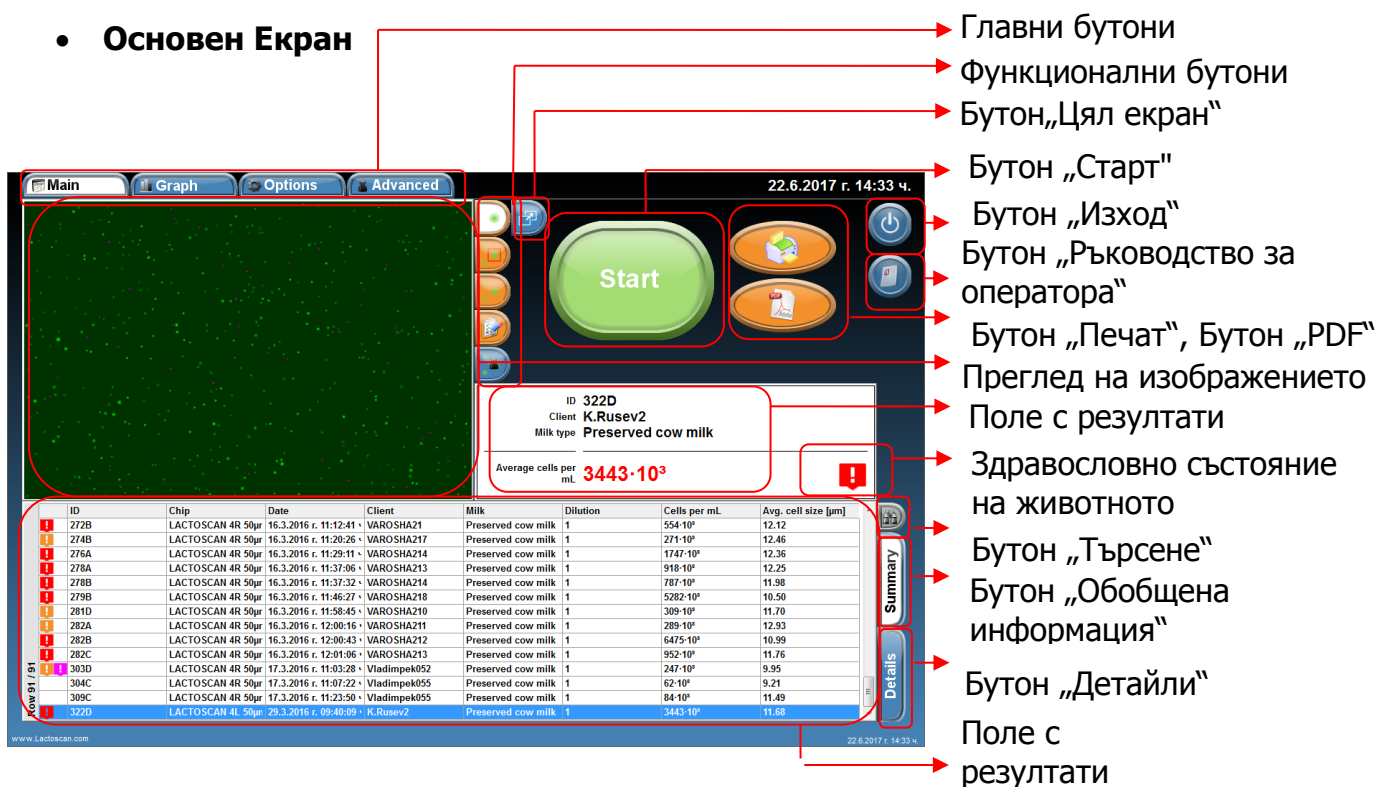


За нормална работа на апарата трябва да бъде избран PCBDevice. Ако е избран режим Simulator, само софтуерът може да бъде използван за демонстративни цели, но апаратът не функционира.



За нормална работа на апарата трябва да бъде избран Microscope Device. Ако е избран режим Simulator, само софтуерът може да бъде използван за демонстративни цели, но апаратът не функционира.

• Основен Екран



Екран „Основен“

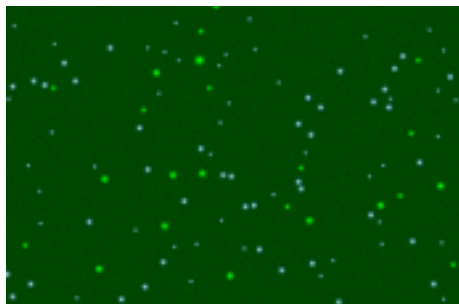
Главни бутони

Превключват основните екрани на софтуера.

Функционални бутони

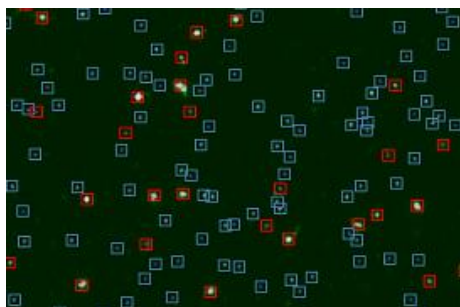
Позволяват на потребителя да маркира и демаркира клетки, да избира клетки, да увеличава изображението.

Показва софтуерно обработена снимка, на която маститните клетки са оцветени в зелено, дрождевите клетки са оцветени в синьо и фонът е представен напълно изчистен.

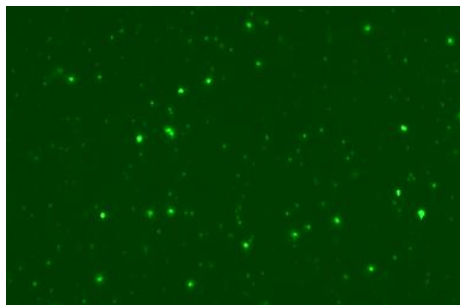




Софтуерът маркира всички преброени клетки. Маститните клетки са маркирани с червен квадрат, дрождевите клетки със син квадрат.



Показва реална снимка.

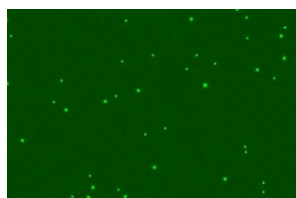
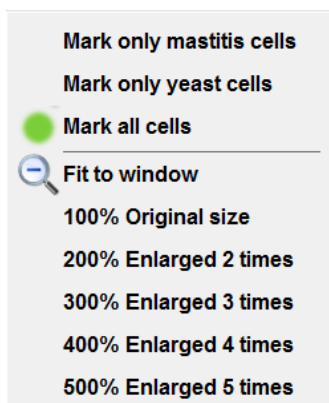


Позволява на потребителя да избира дали да вижда само маститни клетки, само дрождеви клетки или всички клетки, и приближава изображението:

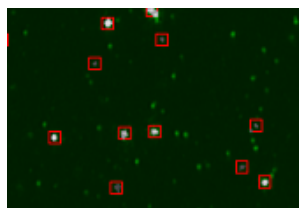


Маркирани само маститни клетки

Софтуерно обработено изображение

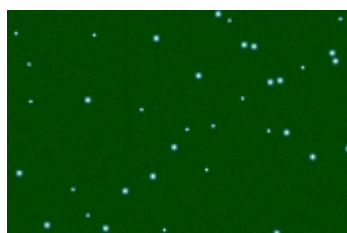


Реално изображение

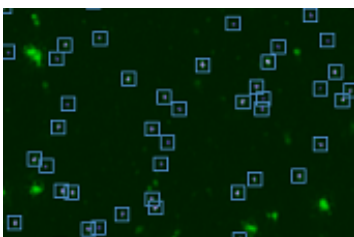


Маркирани само дрождеви клетки

Софтуерно обработено изображение

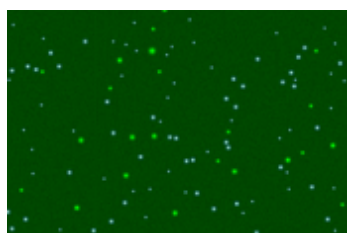


Реално изображение

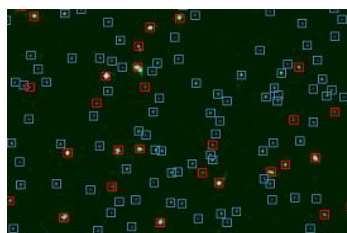


Маркирани всички клетки

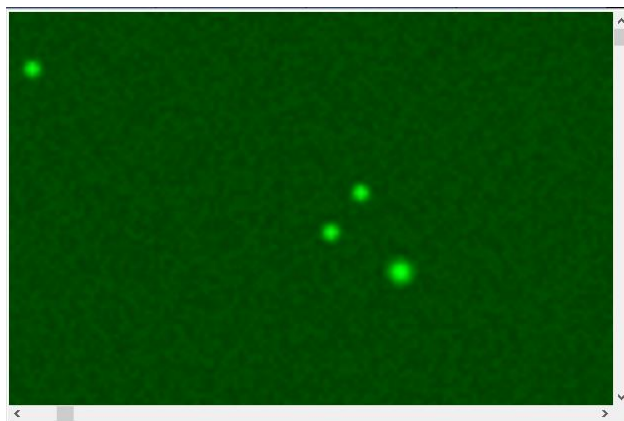
Софтуерно обработено изображение



Реално изображение



Приближение



Отваря изображението на цял екран и връща изображението в „Основен режим“ (Main mode).



Прехвърляне на изображението в режим „Advanced“, където може да се разгледа в детайли.



Стартира процеса по анализ на пробата.



Изключване на уреда.



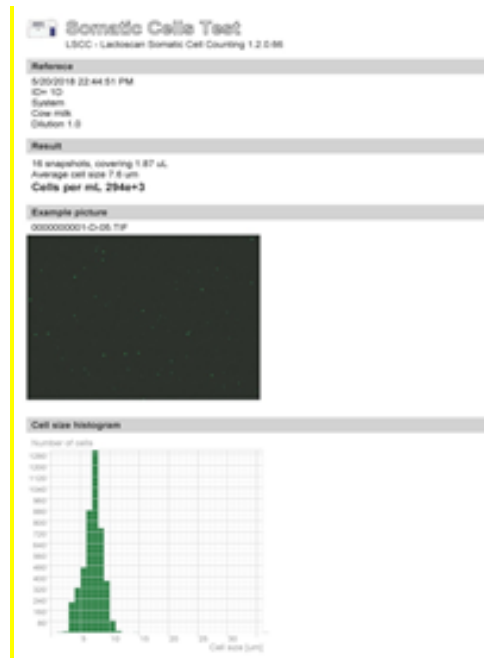
Отваря ръководството за оператора.



Преминане към страница за печат.



Показва отчет от проведения анализ в PDF формат.



**Преглед
изображението**

на Показва наситеността на соматичните клетки в избраната проба.

Поле с резултати

Резюме на избрания анализ.

Предупредителните знаци показват здравословното състояние на животното:



1.  - Доклиничен мастит
2.  - Клиничен мастит
3.  - Наличие на дрождеви клетки.
Възможен дрождеви мастит. Необходим е тест за дрождеви мастит.



Отваря панела за търсене.

Summary

Превключва към таблица с обобщена

информация за направените анализи.

Details

Превключва към таблица с детайлна информация за направените анализи.

• Екран „Опции“

Позволява на потребителя да зададе настройки на анализа спрямо местните и регионални изисквания за различните видове мляко.



Главни бутони

Параметри на измерване

Предупредителни нива

Лабораторен офсет

Приложи и съхрани

Фабрични настройки

Фокусиране

Допълнителни опции

Екран „Опции“

Главни бутони

Превключват основните екрани на софтуера.

Параметри на измерване

Задаване на минимална и максимална големина на изброените клетки за различните проби мляко.

Предупредителни нива

Задаване на предупредителни нива за доклиничен и клиничен мастит според вида, и породата животни.

Лабораторен офсет

Коефициент на корекция.

Приложи и съхрани

Прилагане на направените настройки и съхраняване.

Фабрични настройки

Задаване на фабрични настройки за параметри на измерването и предупредителни нива.

Допълнителни опции Отваря меню с опции за сервизни нужди.

Фокусиране Чрез натискане на бутона се преминава към меню „Задаване на фокус“.

- **Екран „Графики“**



Екран Графики

Главни бутони Превключват основните екрани на софтуера.

Резюме Резюме на данните, използвани за създаването на графиките.



Сменя източника на информация, който е използван при създаването на графиките.

Полета мин. и макс. големина на клетката Чрез натискане на стрелките се задават границите за големина на клетките, които да попаднат в крайния резултат от анализа.

Графики Графично представяне на данните от анализа. Графиката „Големина на клетката“ представя данни за броя на клетките в зависимост от големината им. Графиката „Проба“ показва големината и броя на клетките, които са взети под внимание при

изчисляване на резултата от анализа.

Средна големина

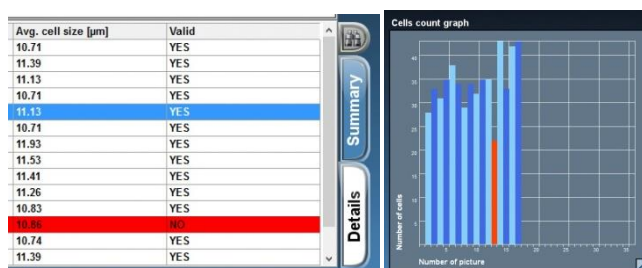
Средната големина на клетките.

Зелена черта

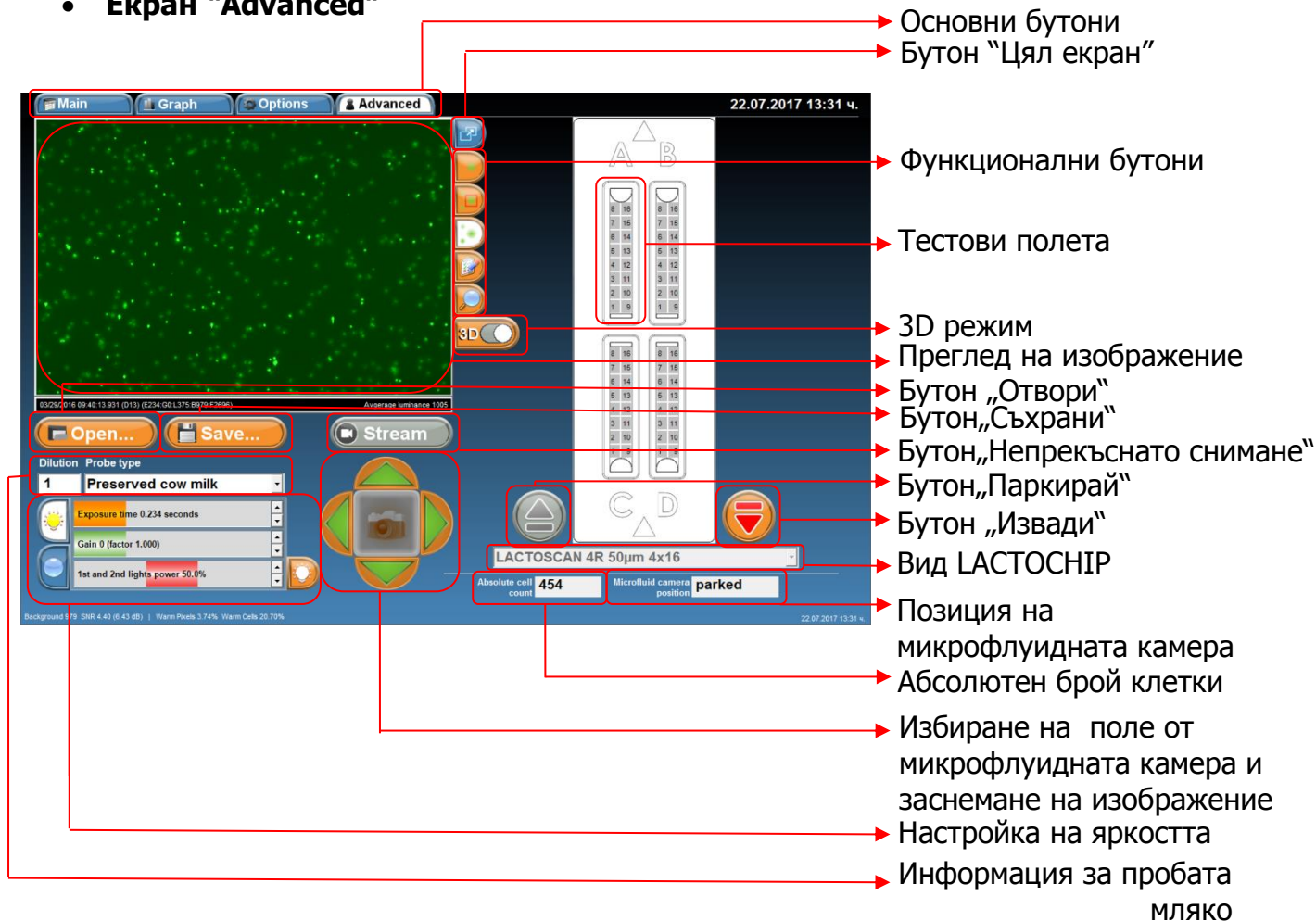
Показва средната големина на клетките.

Снимка, която не е включена при калкулиране на крайния резултат, в таблицата с детайли за съответния анализ е отбелязана с NO в графа VALID, поради недопустимо отклонение от средната стойност на резултатите, получени от останалите снимки.

Червена колона



• Екран "Advanced"



Екран Advanced

Основни бутони

Превключват основните екрани на софтуера.



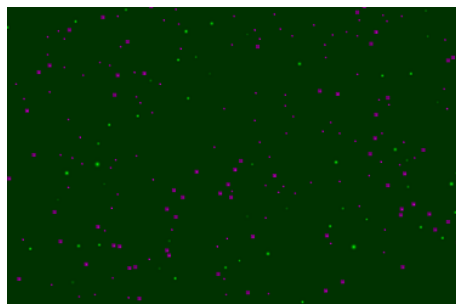
Отваря изображението в цял екран и го връща обратно в основен режим.



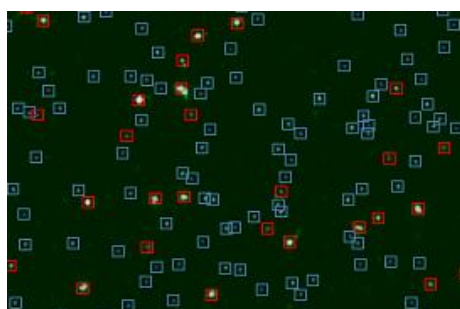
Функционални бутони

Позволяват на потребителя да маркира и демаркира клетки, да избира клетки, да увеличава изображението.

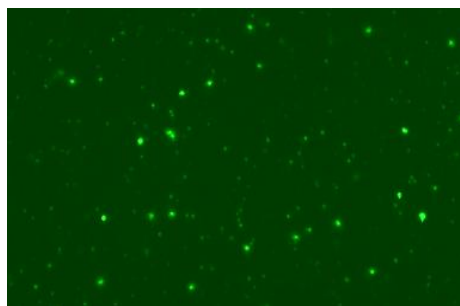
Показва софтуерно обработена снимка, на която маститните клетки са оцветени в зелено, дрождевите клетки са оцветени в синьо и фонът е представен напълно изчистен.

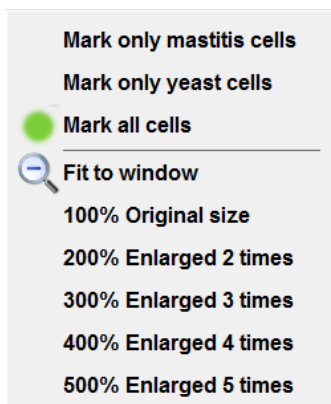


Софтуерът маркира всички преброени клетки. Маститните клетки са маркирани с червен квадрат, дрождевите клетки – със син квадрат.



Показва реална снимка.



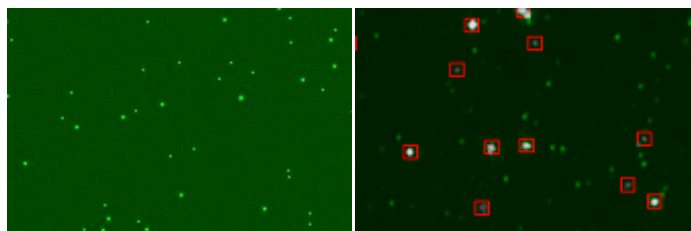


Позволява на потребителя да избира дали да вижда на изображението само маститни клетки, само дрождеви клетки или всички клетки, и приближава изображението:

Маркирани само маститни клетки

Софтуерно обработено изображение

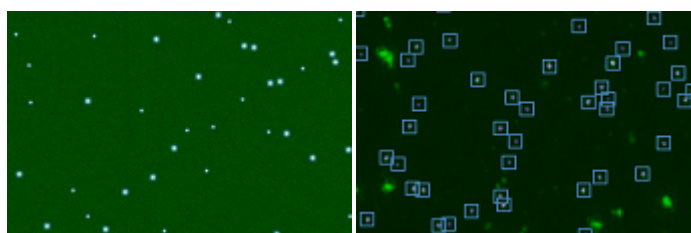
Реално изображение



Маркирани само дрождеви клетки

Софтуерно обработено изображение

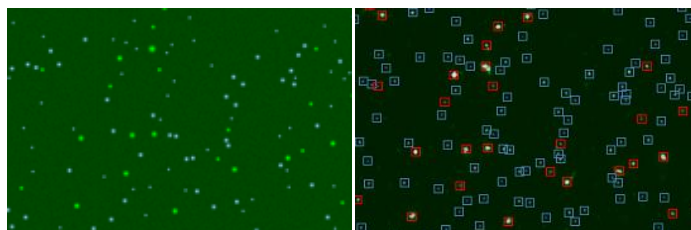
Реално изображение



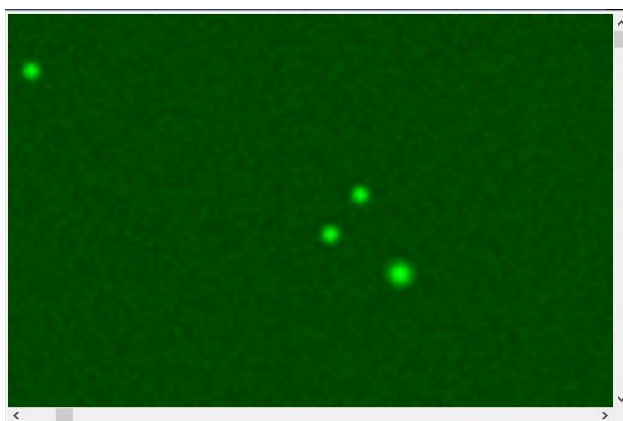
Маркирани всички клетки

Софтуерно обработено изображение

Реално изображение



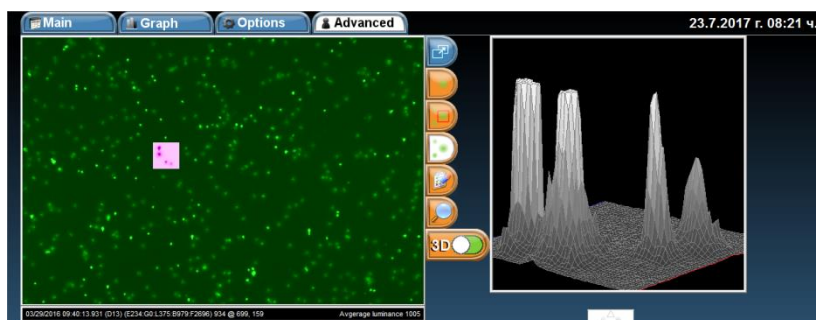
Приближение



Тестови полета

Позволяват на потребителя да избира точното поле от микрофлуидната камера, което иска да тества и разгледа в режим „Advanced“.

Преглед на тестовото изображение в 3D.



**Преглед на
изображението**

Показва наситеността на соматични клетки в избрания сектор.



Отваря изображение от предходен тест за допълнителен преглед в режим „Advanced“.



Съхранява показаното изображение в полето за преглед на изображението.



Паркира каретката със заредения LACTOCHIP.



Изважда каретката с LACTOCHIP.

LACTOSCAN 4R 50µm 4x16

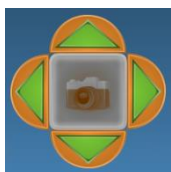
Избира вида LACTOCHIP.

Microfluid camera
position **parked**

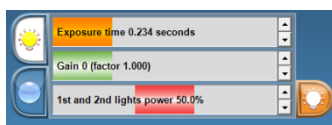
Показва позицията на каретката с микрофлуидната камера (LACTOCHIP).

Absolute cell
count **454**

Показва изброените клетки на изображението от избрания сектор.



Чрез използване на стрелките, потребителят може да избере сектор на микрофлуидната камера, който иска да тества и след това, чрез натискане бутона за заснемане, да направи снимка на сектора.



Позволява ръчни и автоматични промени на яркостта, силата на светлината и фокуса.

Dilution Probe type
1 **Preserved cow milk**

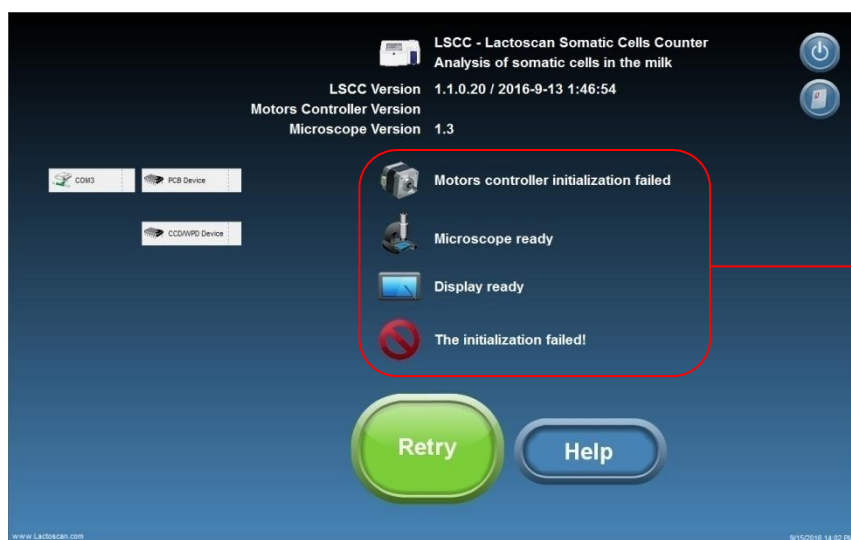
Попълване на информация за разреждането и вида на анализираната проба.

Подготовка за работа с LACTOSCAN SCC COMPACT

По-долу е описана последователността при подготовката за работа с LACTOSCAN SCC COMPACT:

1. Уредът трябва да бъде поставен на гладка, нивелирана, суха повърхност и да има свободно разстояние от минимум 10 cm от всички страни.
2. Уверете се, че захранването е същото като доставеното с уреда и включете накрайника на захранващия кабел към "Inlet" порта, намиращ се на гърба на уреда. Захранването на уреда с неподходящо напрежение може да доведе до щети.
3. Включете към електрическата мрежа.
4. Включете "ON/OFF" ключа, разположен на задния панел на соматичния брояч и изчакайте 1 минута, докато уредът се зареди.
5. Включете дисплея чрез бутона "ON/OFF", разположен на горната му страна.
6. LACTOSCAN SCC COMPACT зарежда софтуера и извършва самостоятелен диагностичен тест, включващ всички оптични компоненти.

Ако по време на теста се установи проблем с някой от компонентите на уреда, програмата не позволява да се продължи към Основния екран с менюта и посочва в кой компонент на уреда е проблемът.



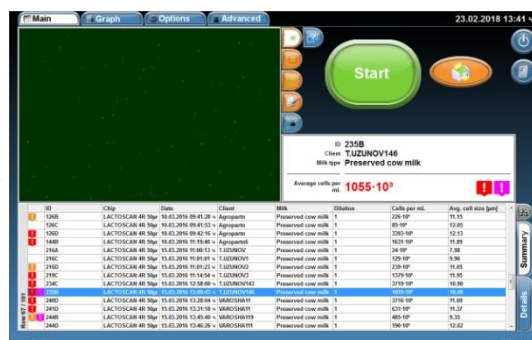
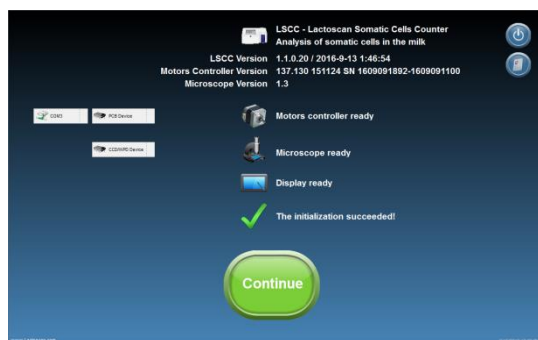
Проблеми,
свързани с
оптиката,
механиката и
задвижването

Проблемите може да се дължат на разкачени кабели, липса на захранване или софтуерна грешка при стартиране на уреда. За отстраняването им е необходимо да обновите програмата чрез натискане на бутон "Retry" (опитай отново).

7. Натиснете бутон  , за да отворите инструкцията, описваща как да проверите кабелите.

Ако проблемите не могат да бъдат отстранени, моля, свържете се с местен дистрибутор или с Милкотроник ООД на адрес www.lactoscan.com/service.

8. Преминане към екран „Основен“ чрез натискане на бутона “Continue” (продължи).



Подготвяне на проба за анализ

За приготвянето на пробата за анализ са необходими:

- Сурово мляко;
- LACTOSCAN SCC COMPACT KIT;
- 2 бр. автоматични пипети.

Внимание!



За получаване на резултати с референтна точност трябва да се спазват изискванията за правилно вземане на проби, указани в стандарта ISO 707|IDF 50.



Внимание!

Точността на измерването зависи от правилното и последователно изпълнение на всички етапи от подготовката, и от доброто разбъркване на пробата. За свеждане до минимум на разликата при отчитане на резултатите при няколкократно тестване на една и съща проба мляко, пробата трябва винаги да се разбърква добре преди да се вземе част от нея за анализ. Пробата е представителна само и единствено, когато е разбъркана добре.

Етапи:

1. Подготовка на сурово мляко:

Задължително е да се използва сурово мляко, което може да бъде току-що издоено или с консерванти, със стайна температура 15-25° C. Необходимото количество е мин. 30 mL.



Внимание!

Според международния стандарт **ISO 13366-1|IDF 148-1:2008**, за да се получат най-добри резултати, трябва да се спазват следните принципи:

- **Анализът да се извърши в рамките на до 6 часа след издояване, ако пробите мляко не са консервирани. В противен случай е необходима консервация на пробите.**
- **За консервиране на проби сурово мляко трябва да се използват консерванти формалин (CH_2O), бронопол ($\text{C}_3\text{H}_6\text{BrNO}_4$) или калиев бихромат ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) в количества, описани в стандартите за вземане на проби за анализ. Крайната концентрация на Бронопол не трябва да надвишава 0,05 г на 100 мл от тестовата проба. Крайната концентрация на калиевия бихромат не трябва да надвишава 0,1г на 100мл от тестовата проба. След това могат да се съхраняват в хладилник при температура 4 °C.**
- **Препоръчително е използването на Бронопол като консервант за млякото!**
- **Преди да се измерват, пробите мляко трябва да се нагреят до 40° C и да се охладят до 20° C, след това да се разбъркат много добре с миксер MiniVortex. Когато млякото се съхранява в хладилник, то се осметанява - маслените клъбца изплуват отгоре. Към тях се прилепва**

по-голямата част от левкоцитите и затова заедно с мастните клъбца изплуват, и соматичните клетки. Често, ако не се загрее млякото до 40 °C и охлади до 20 °C, не е възможно добре да се размеси и това довежда до неравномерно разпределение на соматичните клетки по обема на пробата. Тогава измерванията ще варират.

- Консервираните и съхранявани в хладилник проби мляко са годни за измерване не повече от 5-6 дни.
- Пробата мляко трябва да е не повече от 50 мл и да не запълва до капачката контейнера за проба, за да позволи по-лесно размесване с MiniVortex или на ръка.



Внимание!

Ако не се извърши анализ на млякото до 3-4 часа след доене, то трябва да бъде консервирано. За консервиране на сурово мляко се препоръчва използването на **формалин, бронопол** или **калиев бихромат**.



Внимание!

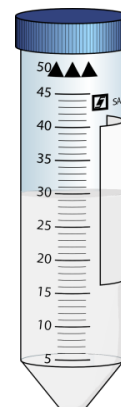
Ако консервираното мляко е охладено под 10 °C по естествен начин, то трябва да се темперира до стайна температура 15-25 °C . Прясно издоеното мляко не е необходимо да се темперира.



Внимание!

Да не се използва за анализ сурово или консервирано мляко с киселинност над:

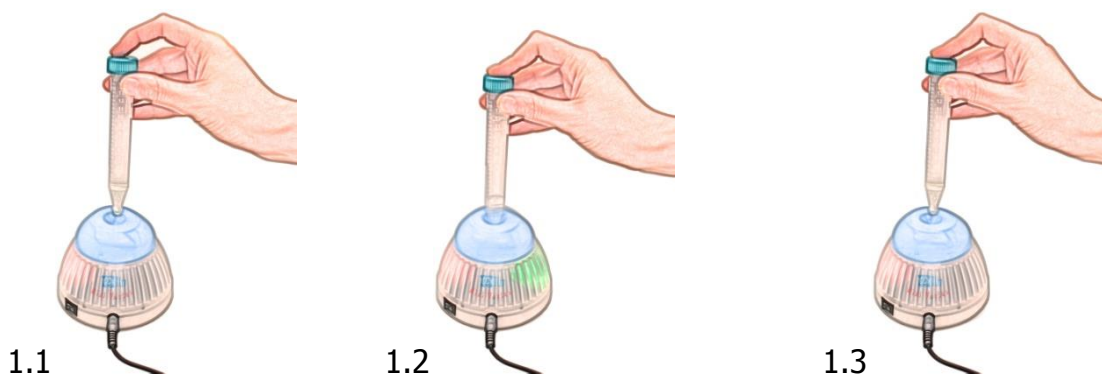
- 18 °Т (по Тьорнер) за краве мляко
- 17 °Т за биволско мляко
- 16 °Т за козе мляко
- 22 °Т за овче мляко



Внимание!

При мляко с масленост над 5 %, например при биволските млека, е необходимо пробата да се разрежи 1:1 с вода. След това от нея се вземат 100 µL и да се добавят към лиофилизираното багрило. Добавянето на вода премахва риска от възможно затруднено навлизане на пробата в микрофлуидната камера.

С помощта на MiniVortex се разбърква контейнера с пробата сурово мляко. Разбъркването става като се постави върха на контейнера в отвора на миксера, натисне се и се задържи 1-2 секунди (виж 1, 2, 3.). Повтаря се 3-4 пъти, като се внимава по време на разбъркването течността да не достига до капака на контейнера.



2. Пипетиране на 100 μ L сурово мляко в микроепруветка с лиофилизирано багрило **SOFIA GREEN**:

Вземете една микроепруветка, съдържаща лиофилизирано багрило **SOFIA GREEN**, отворете я и я поставете на статива.

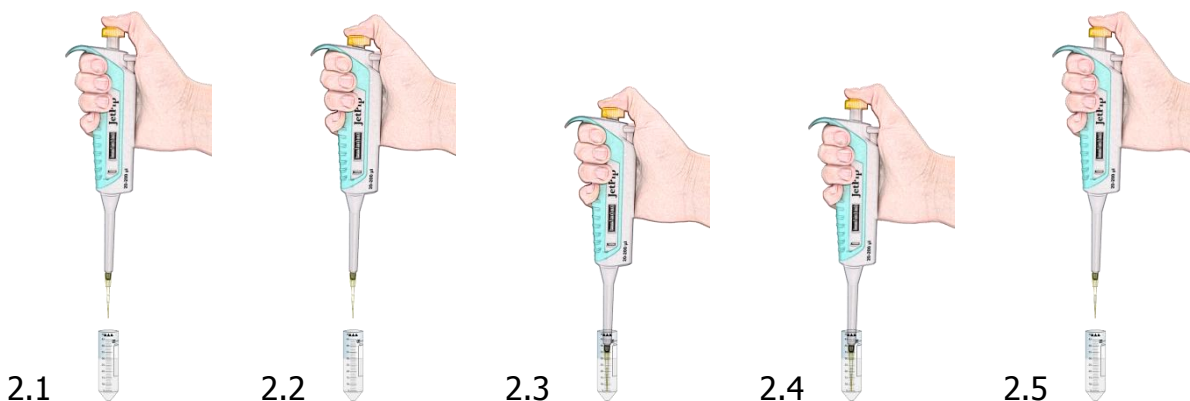


Внимание!

Преди да започнете работа с автоматичните пипети, внимателно прочетете упътванията за употребата им. Направете няколко опита да засмучете и пипетирате вода, с цел да усетите кога достигате първи и втори стоп на работния бутон.

Вземете предварително установена на 100 μ L автоматична пипета. Уверете се, че предният конус на пипетата е чист. Поставете я вертикално над накрайник от кутията с накрайници за автоматичната пипета и вкарайте конуса на пипетата в отвора на накрайника чрез леко натискане.

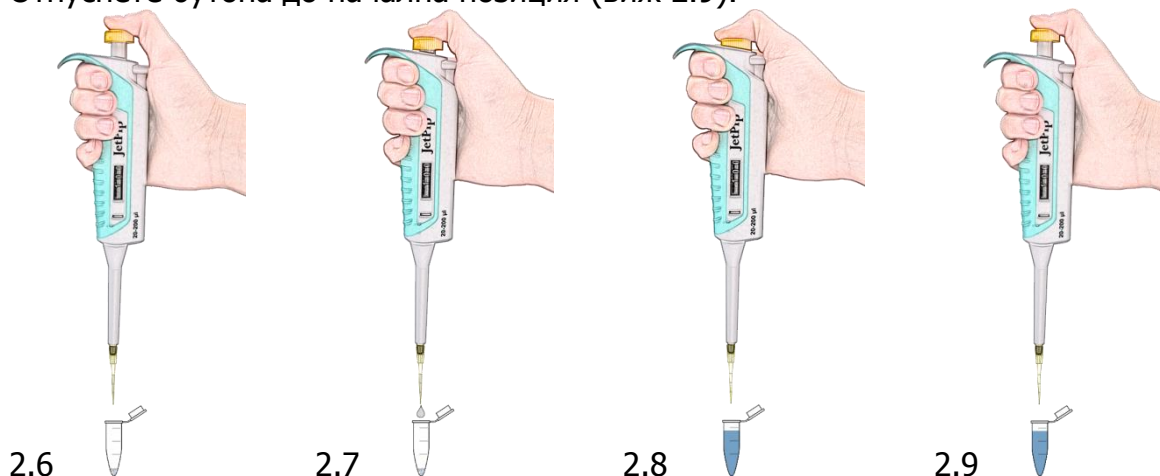
От начална позиция (виж 2.1), натиснете работния бутон на пипетата до първия стоп (виж 2.2), задръжте го натиснат и потопете на 5-6 мм накрайника ѝ в млякото (виж 2.3). Плавно отпуснете работния бутон и извадете накрайника от течността, като докосвате стените на бутилката, за да отстраните излишното мляко (виж 2.4, 2.5).



Пипетирайте млякото от накрайника в отворената микроепруветка на статива чрез плавно натискане на работния бутон на пипетата от начална позиция до първи стоп (виж 2.6, 2.7). След малка пауза, натиснете бутон до втория стоп (виж 2.8). По този начин ще изпразните напълно накрайника и ще си гарантирате прецизно пипетиране.

Винаги пипетирайте млякото без да потапяте накрайника в лиофилизираното багрило.

Отпуснете бутона до начална позиция (виж 2.9).



3. Разбъркване на пробата:

Затворете микроепроветката със SOFIA GREEN багрило и пробата мляко. Вземете я от статива и поставете върха на микроепроветката в отвора на MiniVortex. Натиснете и задръжте натиснат върха за 1-2 секунди, и след това отдръпнете. Повторете 8-9 пъти, като внимавате по време на разбъркването разтворът да не достига до капака на микроепроветката. (виж 3.1, 3.2 и 3.3)



4. Взаимодействие на пробата мляко с багрилото:

Необходимо е около 1 минута време за взаимодействие на разтвора с багрилото. Ако времето за взаимодействие е по-кратко от 1 минута или по-дълго от 20 минути, резултатът от анализа може да има отклонение в рамките на 2-3%.

5. Повторно разбъркване на пробата:

Вземете микроепроветката с пробата от статива и поставете върха ѝ в отвора на MiniVortex. Натиснете и задръжте натиснат върха за 1-2 секунди, и след това отдръпнете. Повторете 2-3 пъти, като внимавате, по време на разбъркването, разтворът да не достига до капака на микроепроветката. (виж 3.1, 3.2 и 3.3)



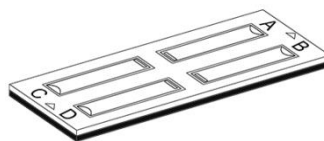
Внимание!

Ако са изминали повече от 5 минути от поставянето на млякото в микроепроветката с багрило SOFIA GREEN, преди да напълните LACTOCHIP, пробата трябва да бъде разбъркана отново с MiniVortex.

6. Пипетиране на 8 μL проба в микрофлуидна камера на LACTOCHIP

x4:

Разопакувайте един LACTOCHIP x4.



Внимание!

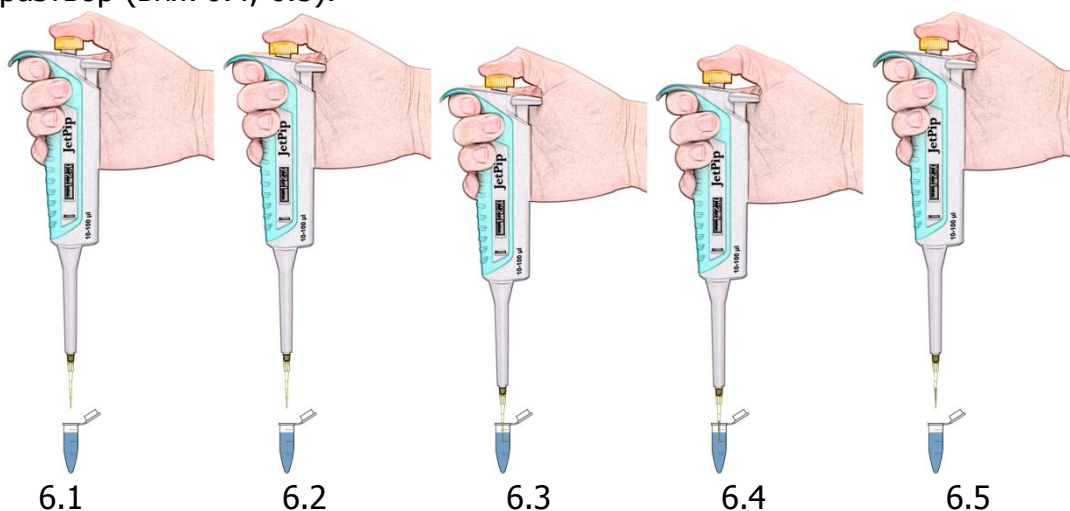
Не докосвайте горната повърхност на LACTOCHIP x4. Винаги го дръжте за страничните ръбове.

За да заредите пробата в микрофлуидната камера на LACTOCHIP x4, вземете предварително установената на 8 μL автоматична пипета.

Уверете се, че предният конус на пипетата е чист. Поставете го над накрайник от наредените на работния статив накрайници и вкарайте конуса на пипетата в отвора на накрайника чрез леко натискане.

Отворете микропруветката с пробата.

От начална позиция (виж 6.1) натиснете работния бутон на пипетата до първия стоп (виж 6.2), задръжте го натиснат и потопете на 5-6 мм накрайника ѝ в разтвора (виж 6.3). Плавно отпуснете работния бутон до начална позиция. Извадете накрайника от разтвора, като докосвате стените на микропруветката, за да отстраните излишния разтвор (виж 6.4, 6.5).



В накрайника има засмукани 8 μL от пробата.

Вземете LACTOCHIP x4, като го държите за страничните ръбове.

Пипетирайте разтвора под ъгъл от приблизително 80° спрямо отвора за зареждане с форма на полукръг. Пипетирането става чрез плавно натискане на работния бутон на пипетата от начална позиция до първи стоп (виж 6.6, 6.7). Задръжте бутоната на първия стоп, отдръпнете пипетата от LACTOCHIP x4 и след това плавно отпуснете бутоната до начална позиция (виж 6.8).

По този начин се изпразва напълно накрайникът и се гарантира прецизно пипетиране. Отпуснете бутона до начална позиция.



Внимание!

Не използвайте втория стоп, за да не попадне въздух в микрофлуидната камера.



Внимание!

Избягвайте образуването на балончета в микрофлуидната камера и пръски по време на пипетиране на разтвора.



6.6



6.7



6.8

За да заредите останалите микрофлуидни камери на LACTOCHIP x4, повторете процедурата, описана в точки от 1 до 6, като последователно зареждате микрофлуидните камери от A-D.



Внимание!

Желателно е да използвате всички микрофлуидни камери едновременно. Ако използвате само 1 или 2, съхранете LACTOCHIP x4, като внимавате да не попадне прах или други замърсявания по него. Наличието им ще доведе до фалшиви резултати на последвалия анализ.



Внимание!

Препоръчително е да поставите заредения LACTOCHIP x4 в апарата и да стартирате анализа в рамките на 60 секунди. Ненавременното поставяне на LACTOCHIP x4 в апарата и стартирането на анализа ще доведе до неточни резултати, поради изпаряване на пробата и попадане на въздух в нея.

7. Начало на анализа:

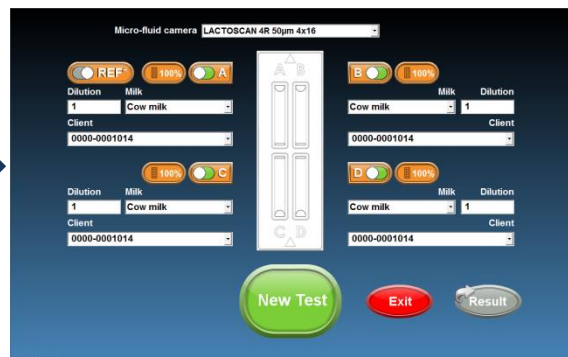
Поставете заредения с проба LACTOCHIP x4 в каретката на LACTOSCAN SCC COMPACT. С помощта на софтуера преминете към анализ на пробата.

8. Изхвърляне на отпадъците:

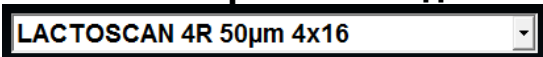
С помощта на бутона за отстраняване на накрайника, отстранете върха вътре в микроеприветка с пробата. Изхвърлете микроеприветката с останалото количество проба, накрайника и използвания за анализ LACTOCHIP, в подходящ контейнер.

Анализ на проба

1. Натиснете  на Основния екран, за да преминете към въвеждане на данните на пробата.

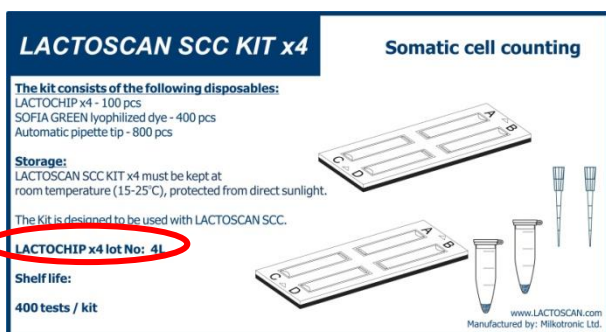
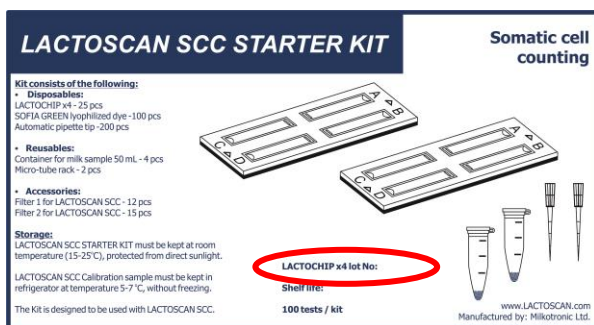


2. Изберете вида на чипа от падащото меню

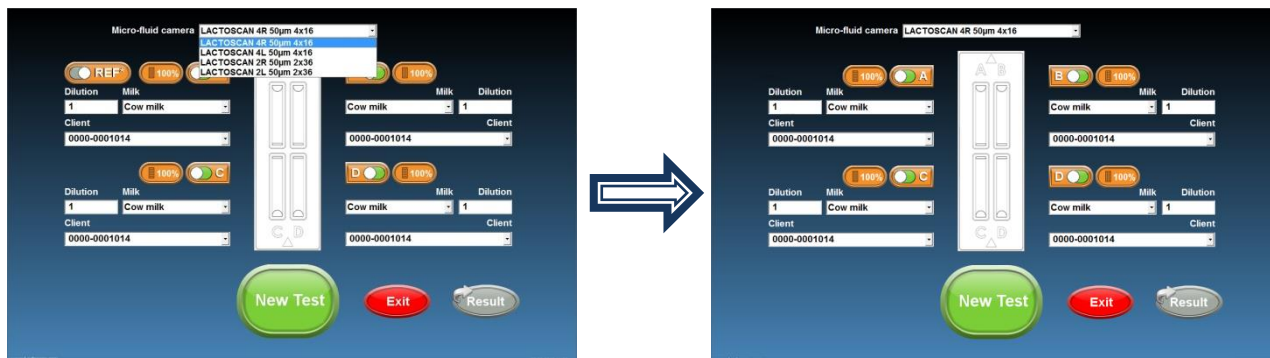


Внимание!

Преди да започнете работа с LACTOSCAN SCC COMPACT KIT, винаги проверявайте буквата на LACTOCHIP. Тя може да бъде L или R. Буква L означава LACTOCHIP 4L и буква R означава LACTOCHIP 4R. Буквите на LACTOCHIP съвпадат във вече зададените в програмата данни за LACTOCHIP-овете. Един LACTOSCAN SCC COMPACT KIT съдържа чипове само с буква L или само с буква R.

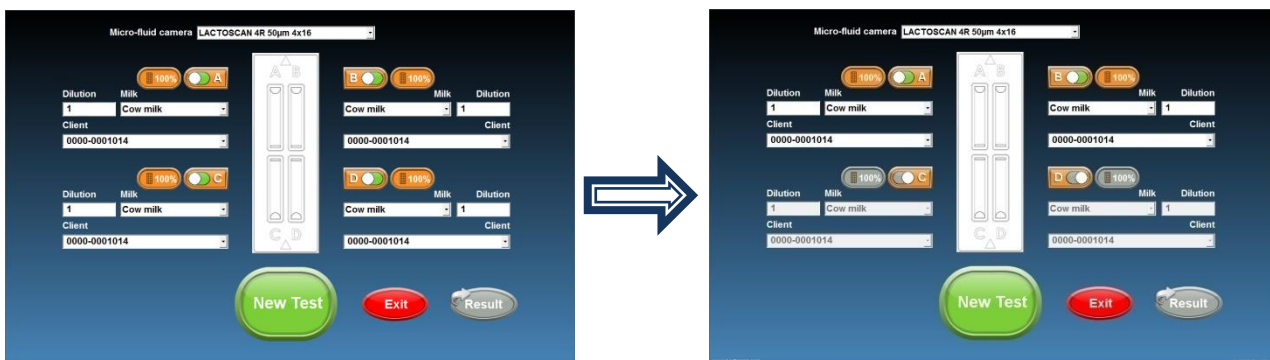


В нашия пример избираме **LACTOSCAN 4R 50µm 4x16** за LACTOCHIP 4X16 с дебелина на четирите микрофлуидни камери от 50µm.

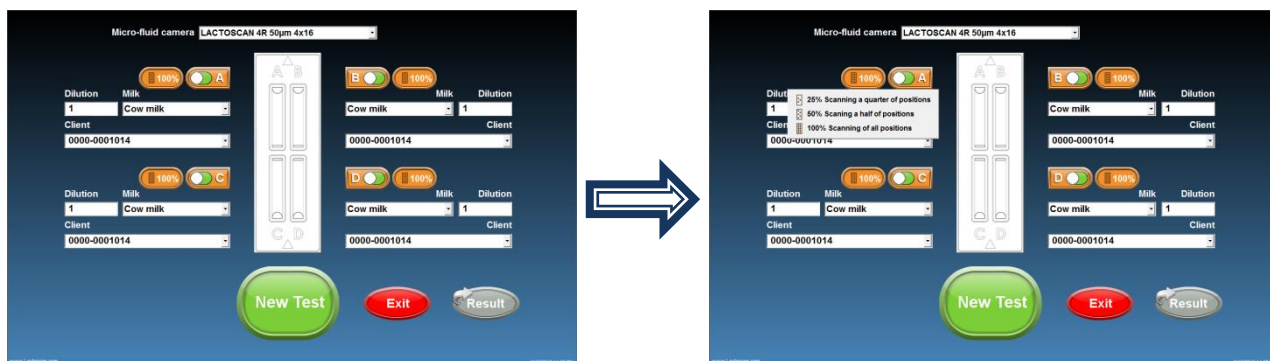


3. Всички микрофлуидни камери на LACTOCHIP са избрани. Ако искате да използвате само 1 или 2 камери, като използвате бутон , махнете отметката на камерите, които няма да използвате в този тест.

В нашия пример сме махнали отметките на камери C и D.



4. За бърз анализ, натиснете бутона  и изберете тест от падащото меню. Можете да изберете от "Сканиране на 25%", „Сканиране на 50%" и "Сканиране на 100%".



5. Попълнете стойността на множителя на разреждане в полето под Dilution (Разреждане).

1



Внимание!

Стойността на множителя на разреждане зависи от маслеността на млякото.

При мляко с масленост:

- До 5%, стойността на множителя на разреждане е 1, тъй като млякото се добавя директно към лиофилизираното багрило в микроепруветката.

- Над 5%, стойността на множителя на разреждане е 2, тъй като, например, при биволските млека, е необходимо пробата да се разрежи 1:1 с вода. След това, от нея се вземат 100 µL и се добавят към лиофилизираното багрило. Добавянето на вода премахва риска от затруднено навлизане на пробата в микрофлуидната камера.

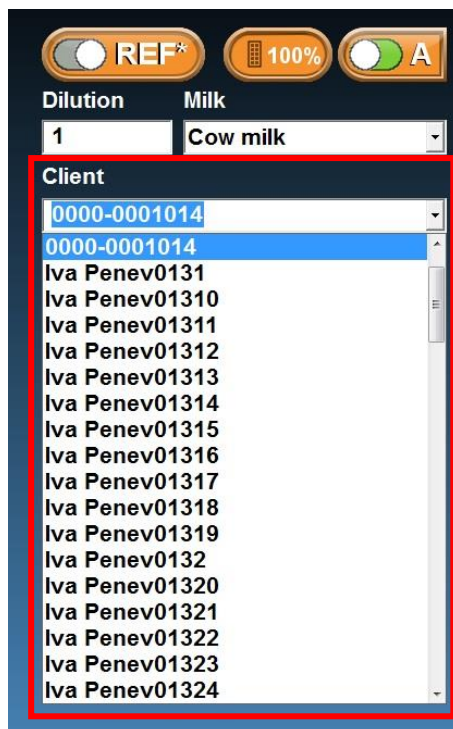


Внимание!

Не забравяйте да промените множителя на разреждане в полето Dilution, когато работите с мляко с масленост над 5% и добавяте дестилирана вода към лиофилизираното багрило.

6. Изберете тип мляко от падащото меню.

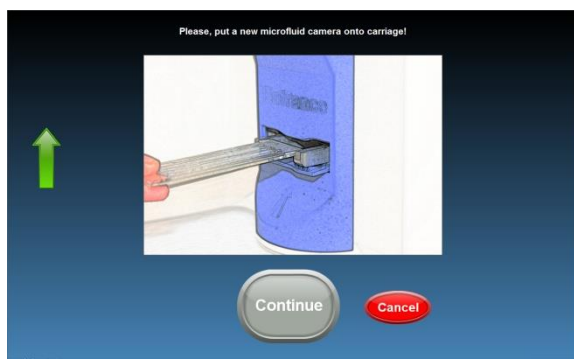
7. Въведете името на клиента или изберете от падащото меню.



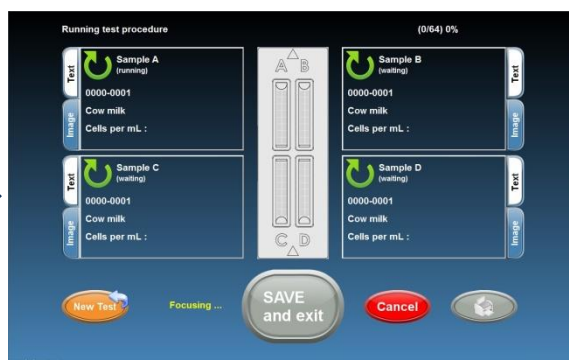
8. След като сте попълнили информацията за всички проби, натиснете **New Test**, за да продължите с анализа. На екрана се изписва съобщение, че каретката за поставяне на LACTOCHIP излиза през вратичката. Ако натиснете **Cancel**, ще се върнете към Основния екран.



9. Поставете LACTOCHIP в каретката и натиснете .

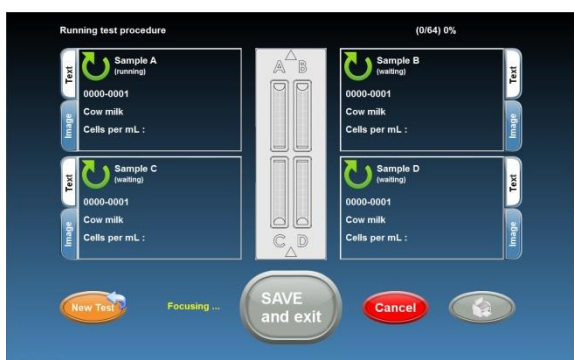


10. Уредът извършва анализа на пробите.



11. Ако искате да видите снимка от теста в реално време, кликнете върху

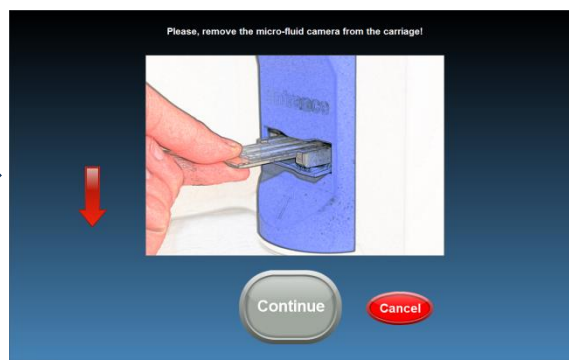
бутона .



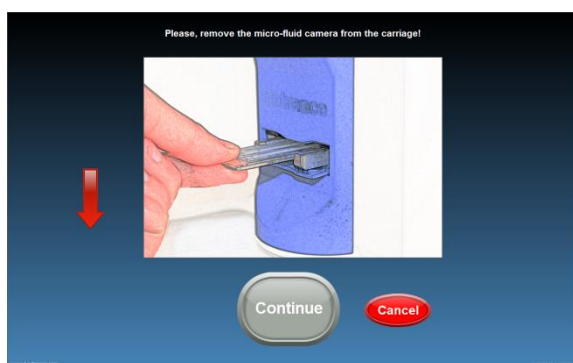
12. За да отпечатате резултатите, натиснете .

13. За да съхраните резултатите и да продължите анализа на нови проби, натиснете  или натиснете , за да

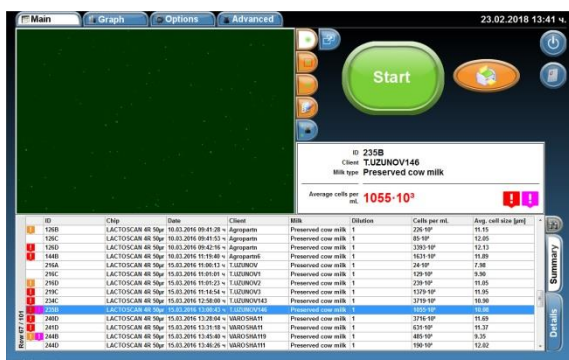
продължете с анализа на нови проби без да съхранявате резултатите.



14. Извадете LACTOCHIP-а.



15. За да се върнете към Основния екран, натиснете

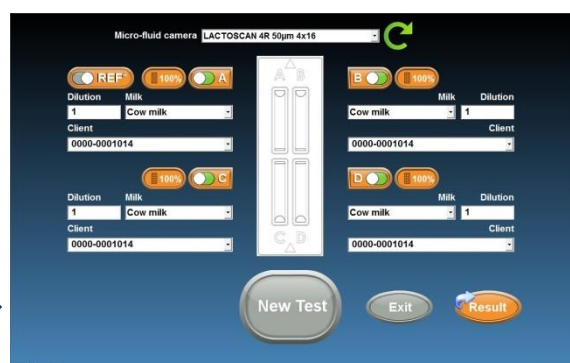


Въвеждане на данни за проби по време на анализа

Софтуерът на LACTOSCAN SCC COMPACT позволява да се въвеждат данни за проби по време на процеса по анализиране на пробите, заредени на LACTOCHIP-а, поставен в уреда.

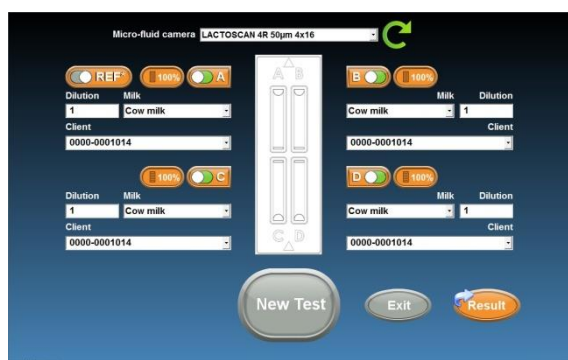
За да направите това:

1. Натиснете  и ще преминете към формата за въвеждане на данни за пробите.



Във формата са запазени данните на пробите, които в момента се анализират, с цел улеснение на работата на потребителя, който има да направи анализ на еднотипни проби на различни клиенти или еднакви по вид животни.

2. Въведете данните за новите проби

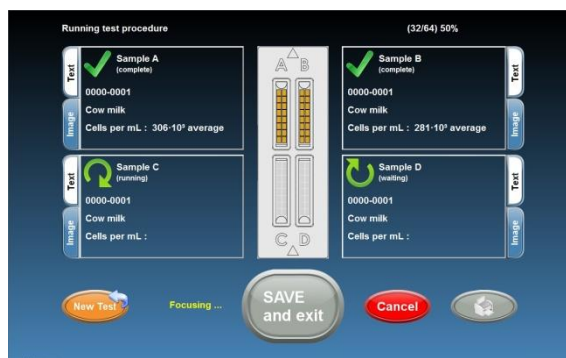
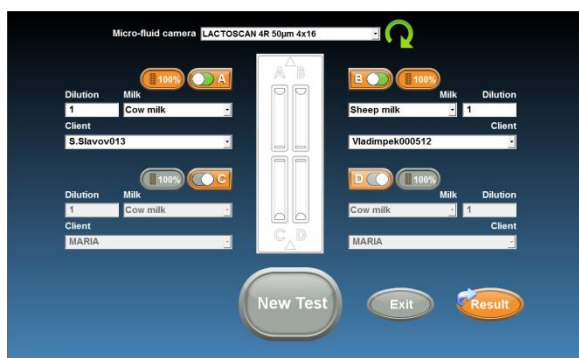


Ако  е сив, това означава, че предходният анализ не е завършил. В този случай можете да изчакате анализът да завърши и  да стане активен, или да се върнете към екрана с текущия анализ.

3. Натиснете



, за да се върнете обратно към екрана с текущия анализ.



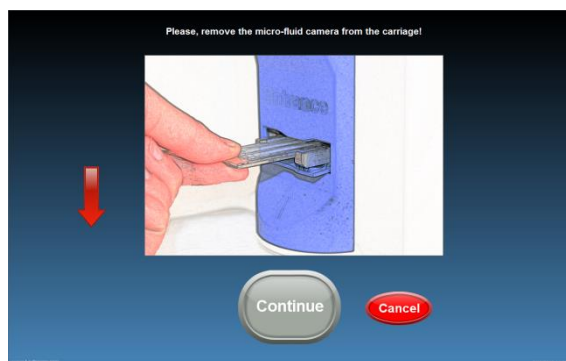
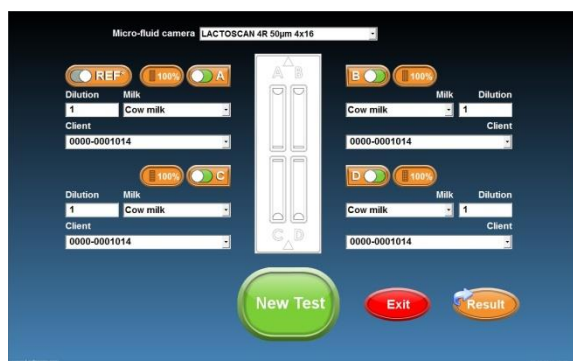
4. Натиснете



, за да преминете директно към новия анализ.



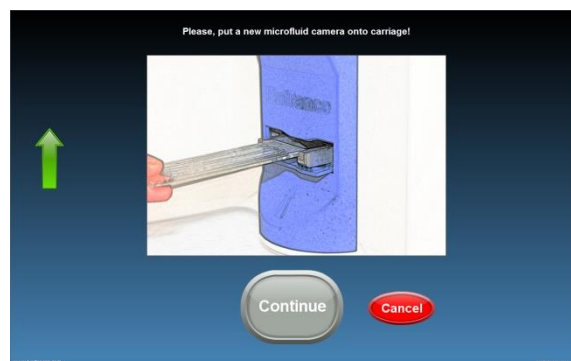
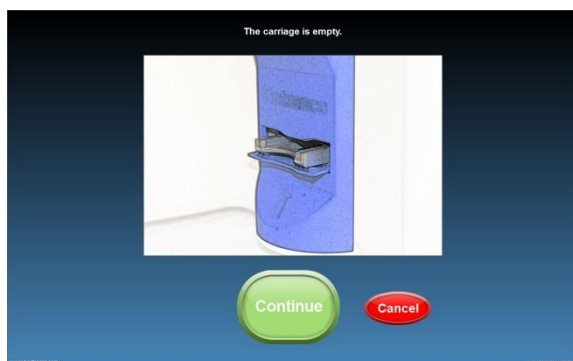
С натискането на , резултатите автоматично се съхраняват в базата данни на уреда, а софтуерът подканва да извадите LACTOCHIP-а с пробите от предходния анализ.



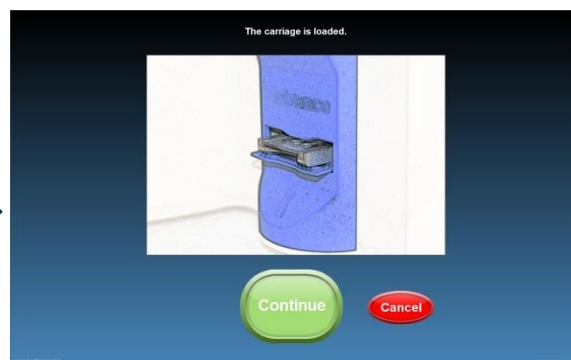
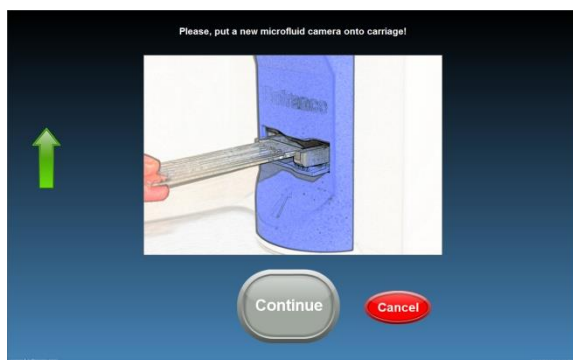
5. Извадете LACTOCHIP-а с пробите от предходния анализ.



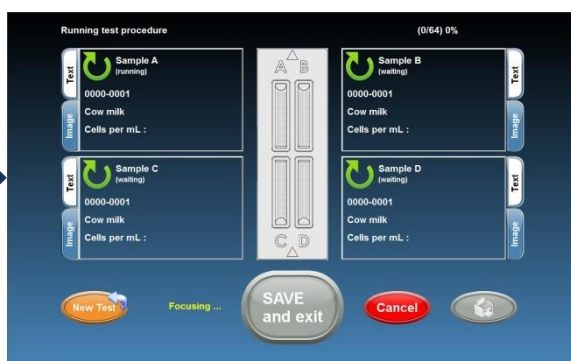
6. Натиснете  . Софтуерът ви подканва да поставите LACTOCHIP-а с пробите, за които сте въвели данни.



7. Поставете LACTOCHIP-а с пробите, за които сте въвели данните.



8. Натиснете  , за да стартирате анализа.



Референтен анализ на проби

За да получите резултати от броенето на соматични клетки с референтна точност с LACTOSCAN SCC COMPACT, спазвайте следната последователност:

1. Вземане на пробите:

Пробите трябва да бъдат взети според препоръчания метод за вземане на проба, описан в ISO 707|IDF 50.

2. Съхранение на пробите:

Пробите трябва да се съхраняват според препоръките на ISO 13366-1 | IDF 148-1:2008, страница 4:

“7.1 Съхранение

Преди тестване или консервиране, съхранете тестовите проби при температура $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Анализирайте тестовите проби до 6 часа след вземането им. В случай на по-продължително съхраняване, добавете химически консервант като бронопол или калиев бихромат. Крайната концентрация на бронопол не трябва да превишава 0,05 g на 100 ml тестова проба. Крайната концентрация на калиев бихромат не трябва да превишава 0,1 g на 100 ml тестова проба. Съхранете така консервираните тестови проби при температура $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ за период не по-дълъг от 6 дни.

По екологични причини се препоръчва да се ограничи използването на калиев бихромат само за проби, за които се изисква дълъг срок на годност.

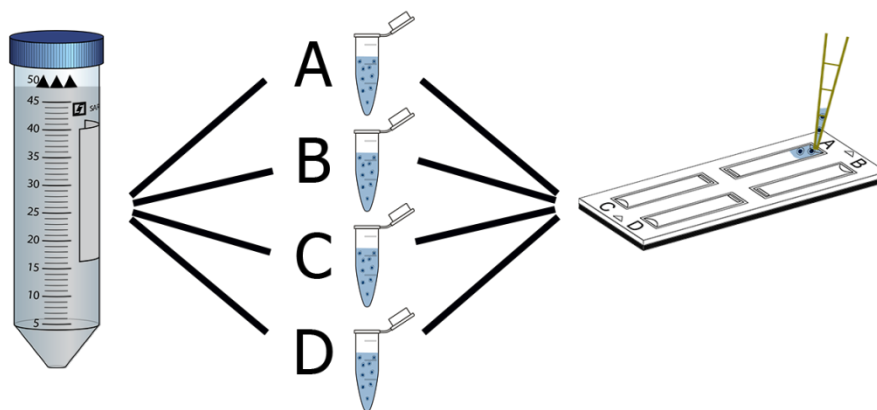
Внимание! Бронополът е консервант за подготовка на проби за анализ с LACTOSCAN SCC COMPACT.

3. Процедура за подготовка на проби, препоръчана от IDF Референтна лаборатория:

Нагрейте пробата на водна баня с температура между 38 и 40° C (100 – 104° F) за 10 минути. Разклатете енергично 2 минути и след това потопете шишето във водната баня за още 10 минути. Охладете пробата до температура 20 °C.

4. Анализиране:

За да направите анализ, са необходими следните консумативи: 1 x LACTOCHIP X4, 4 x епендорфки с багрило SofiaGreen и 8 x накрайника за пипетата.



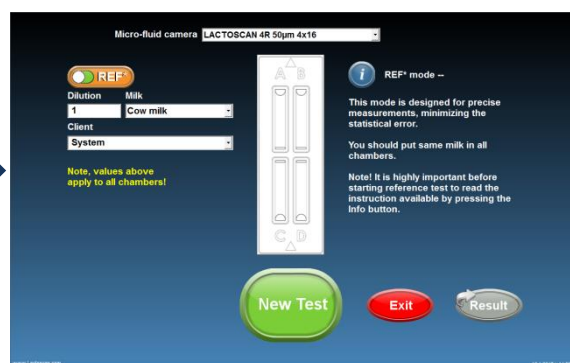
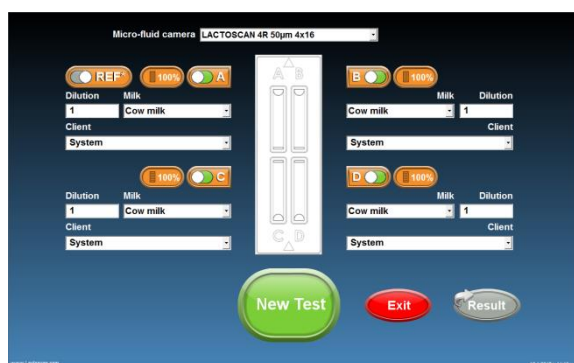
- След подготовката на пробата, вземете 100 µL от нея и я поставете в епендорфка. Направете това общо 4 пъти за четирите камери на чипа.
- Инкубирайте за 5 минути, като разбърквате периодически.
- След инкубацията, направете последно разбъркване, вземете 8 µl от готовата проба, и я поставете в LACTOSHIP X4 – направете това общо 4 пъти, като всеки път вземате проба от нова епендорфка.

Процедурата за подготовка на единична проба за анализ е описана в раздел **Подготовка на пробата за анализ**.

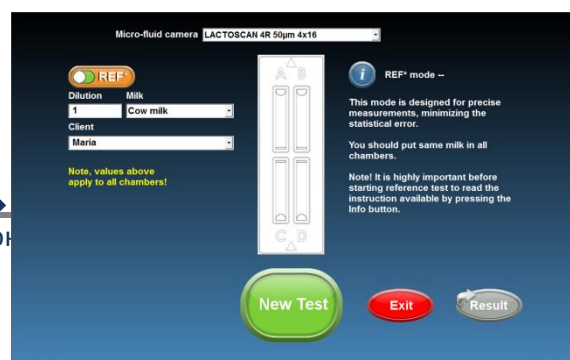
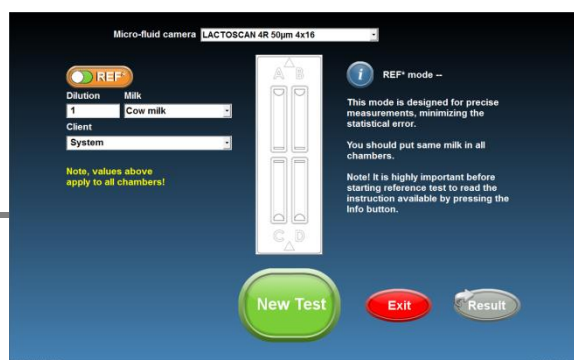
Внимание! Използвайте нов крайник за пипета за подготовка на всяка от 4-те проби и при всяко пипетиране на пробата в камерите A, B, C, D.

- Преди да започнете анализа, оставете LACTOSHIP X4 неподвижен настрани за 30 секунди, за да могат клетките да спрат да се движат вътре в камерите.

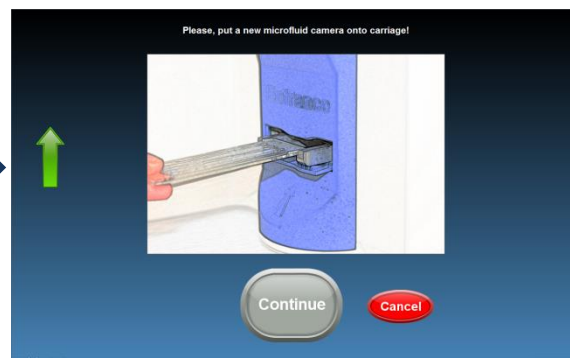
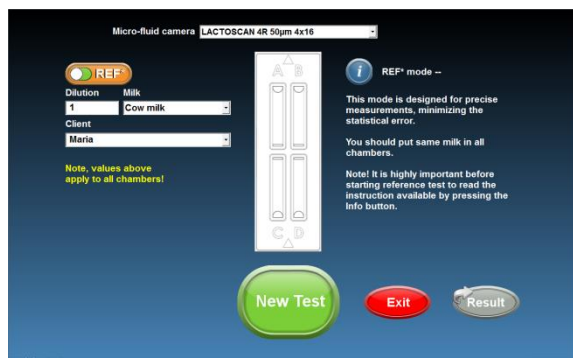
- В режим Анализ, натиснете бутон  , за да изберете “Референтен режим на анализ”.



- Попълнете данните на анализираната проба мляко.



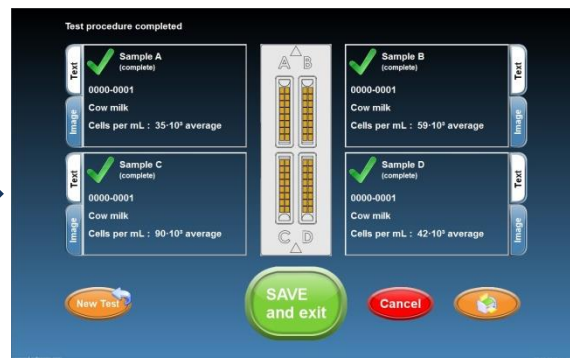
- Натиснете бутон  , за да стартирате анализа.



- Поставете LACTOCHIP в каретката и натиснете  .



- Уредът анализира пробата.



LACTOSCAN SCC COMPACT извършва анализ и показва крайния резултат. Крайният резултат е автоматично изчислен среден резултат от резултатите на анализиранияте проби в камерите A, B, C, D.

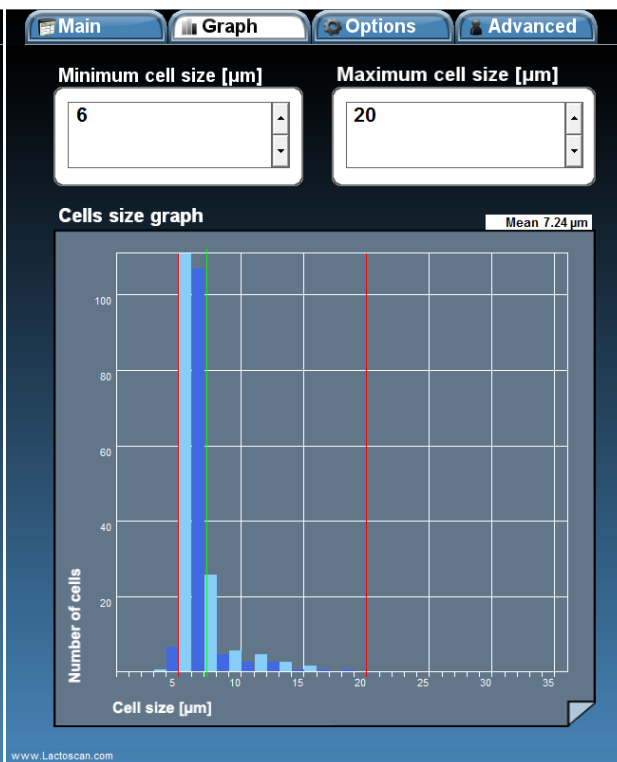
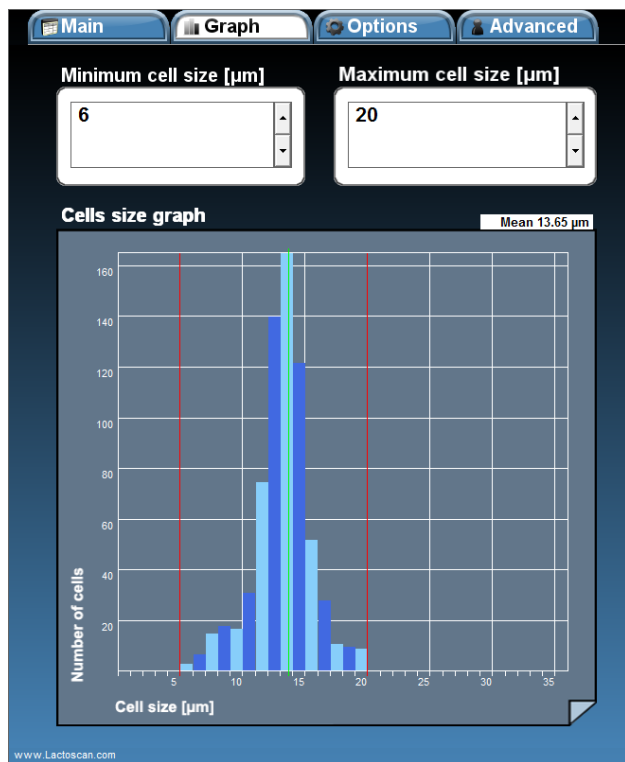
5. Коефициент на вариация (CV) %:

Коефициентът на вариация (CV) % се измерва в Референтен режим, като се спазва инструкцията за референтен анализ. Определя се чрез анализ на стандартизирани референтни проби мляко от **сертифицирани за анализ на мляко лаборатории**. За да определите референтния коефициент на вариация (CV) %, трябва да използвате само такива стандартизирани референтни проби мляко. Ако се използват нестандартизирани проби мляко, може да се получи отклонение от CV %. В

стандартизираните референтни проби няма голямо количество клетъчни фрагменти и няма дрождеви клетки. Наличието на дрождеви клетки може лесно да бъде определено, като се изследва графиката на анализирания проба мляко. По-долу ще намерите примери за графика на нормално мляко без дрождеви клетки и графика на мляко с дрождеви клетки:

Нормално мляко

Мляко с дрождеви клетки



6. Изчисление на Коефициента на вариация (CV) %:

За да изчислите Коефициента на вариация (CV) %, следвайки процедурата, трябва да тествате 10 пъти проба мляко с концентрация на соматични клетки 50000-200000 клетки/mL; да тествате 10 пъти проба мляко с концентрация на соматични клетки 400000-600000 клетки/mL и да тествате 10 пъти проба мляко с концентрация на соматични клетки 800000-1400000 клетки/mL. След това трябва да попълните получените резултати в таблицата по-долу.

Примерни таблици:

Празна

Попълнена

Raw data	Sample 50000- 200000 cell/mL 1	Sample 400000- 600000 cell/mL 2	Sample 800000- 1400000 cell/mL 3	Raw data	Sample 50000- 200000 cell/mL 1	Sample 400000- 600000 cell/mL 2	Sample 800000- 1400000 cell/mL 3
Measurement 1				Measurement 1	142 000	571 000	1 153 000
Measurement 2				Measurement 2	161 000	563 000	1 164 000
Measurement 3				Measurement 3	147 000	548 000	1 146 000
Measurement 4				Measurement 4	157 000	530 000	1 142 000
Measurement 5				Measurement 5	142 000	543 000	1 146 000
Measurement 6				Measurement 6	145 000	584 000	1 122 000
Measurement 7				Measurement 7	151 000	558 000	1 100 000
Measurement 8				Measurement 8	150 000	584 000	1 154 000
Measurement 9				Measurement 9	140 000	539 000	1 120 000
Measurement 10				Measurement 10	145 000	570 000	1 155 000
Mean value				Mean value	148000	559000	1140200
Standard deviation				Standard deviation	6815	18708	19904
Coefficient of variation %				Coefficient of variation %	4,60	3,35	1,75

Формули за изчисление:

Средна стойност - Всичките 10 измервания се сумират и след това се разделят на 10 (броя на пробите).

Стандартното отклонение в статистиката, обикновено обозначено със σ , е мярка за вариация или дисперсия (отнася се до степента на разпространение на разтягане или изстискване) между стойностите в даден набор от данни. Колкото по-ниско е стандартното отклонение, толкова по-близо са информационните точки до средната стойност (или очакваната стойност), μ . И обратно, по-високото стандартно отклонение означава по-широк диапазон от стойности.

$$s = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2},$$

Където:

x_i е стойността на една проба

$\bar{x}$ е средната стойност на пробата

N е размерът на пробата

Коефициент на вариация: $CV, \% = \text{Стандартно отклонение} \times 100 / \text{средната стойност}$

Горната таблица може да бъде изтеглена от <https://autocellcount.com/page/coefficient-of-variation>

7. Настройки на LACTOSCAN SCC COMPACT:

За измерване на стандартни референтни проби мляко от сертифицирани лаборатории и изчисление на Коефициента на вариация (CV) %, LACTOSCAN SCC COMPACT трябва да бъде настроен по следния начин:

- Minimum cell size in micrometer : 6
- Maximum cell size in micrometer : 20

Меню Опции позволява на потребителя да зададе параметрите на анализ за различните видове мляко.

Съхраняване на снимката от анализа като .BMP файл

LACTOSCAN SCC COMPACT позволява на потребителите да съхраняват снимка от вече извършен анализ във файл .BMP. Файлт .BMP е лесен за последваща обработка и може да бъде отворен или импортиран във всяка Windows програма.

За да направите това:

1. Изберете анализ от базата данни:



2. Отидете върху снимката и натиснете десен бутон на мишката.

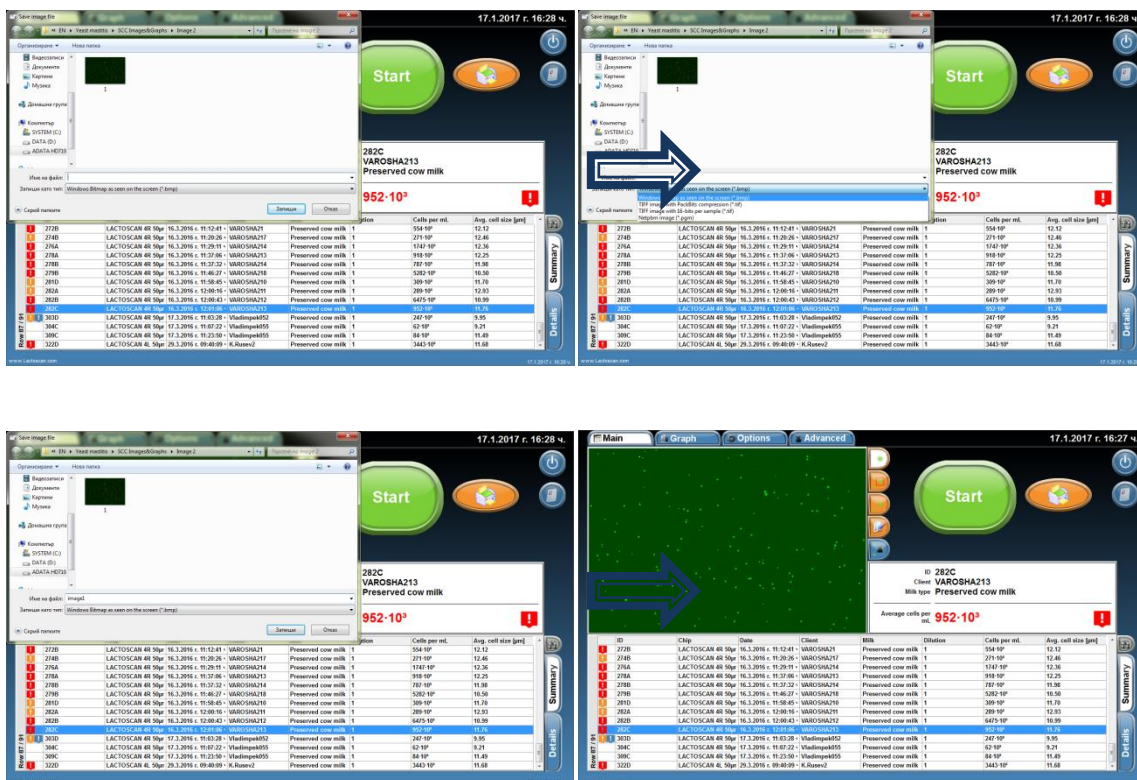


3. Натиснете бутон

Save As ...



4. Изберете папката, в която искате да съхраните снимката, напишете име на снимката, изберете .BMP файлов формат от падащото меню и натиснете бутон SAVE за окончателно съхранение на снимката като .BMP файл.

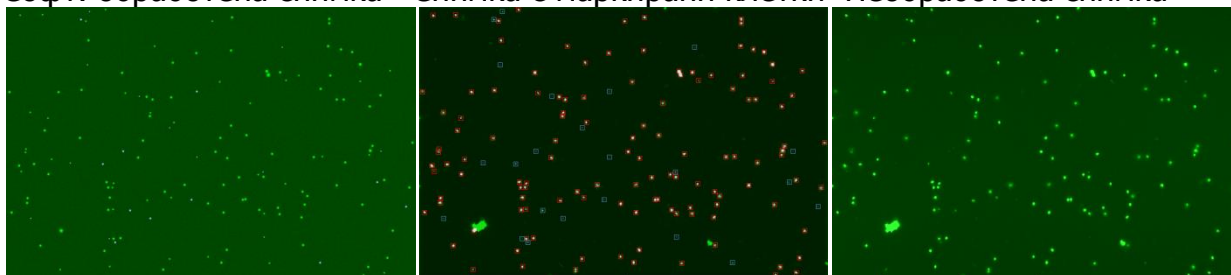


Внимание! Снимката също може да бъде съхранявана в .TIFF файлов формат. Файлът .TIFF е необработен снимков формат и съхранената снимка може да бъде обработена със специален софтуер, без да бъде загубено качеството на първоначалната снимка.

Преди да съхрани снимката, потребителят може да избере режим на визуализация: софтуерно обработена снимка, снимка с маркирани клетки или необработена снимка, и да я съхрани в .BMP файл, така както се вижда в софтуера на уреда.

Примери:

Софт. обработена снимка Снимка с маркирани клетки Необработена снимка



Задаване на параметри на анализа

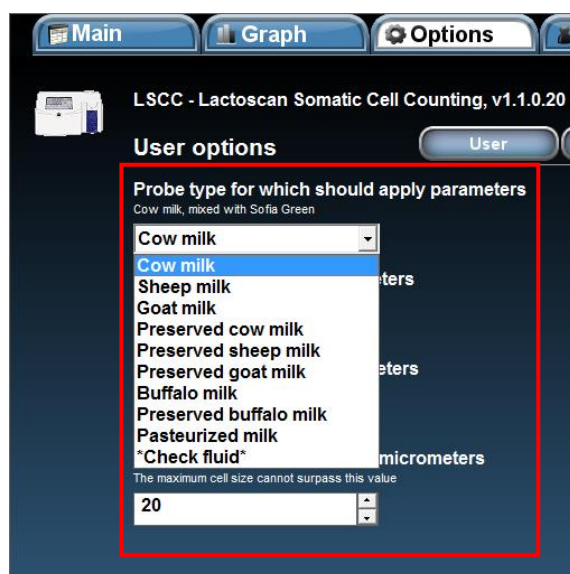
Меню "Опции" позволява на потребителя да задава параметри на анализа за различните видове мляко.



1. Задаване на минимален и максимален размер на клетките, които ще бъдат изброени:

1.1. Избиране на пробата мляко, за която трябва да бъдат приложени зададените параметри.

С помощта на падащото меню потребителят избира пробата мляко, за която желае да промени фабрично зададените параметри.



1.2. Попълване на желаните параметри.

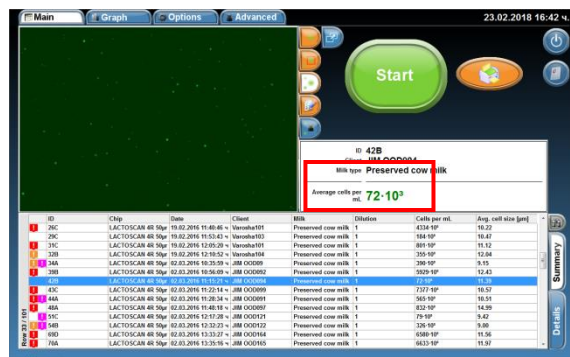
След като желаната проба мляко е избрана, под нея излизат фабрично зададените стойности за минимален и максимален размер на клетките, които ще бъдат изброени. С помощта на стрелките нагоре и надолу, или чрез ръчно въвеждане на стойност може да бъде променен диапазонът на отброяваните клетки за съответния вид мляко.

1.3. Задаване на граници за доклиничен и клиничен мастит.

В зависимост от породата на животното, местните и държавни изисквания в различните държави, както и границите за доклиничен и клиничен мастит се различават.

Например, в Германия е прието, че здрави са тези животни, чието мляко съдържа соматични клетки до 100 000 бр/мл. Над 100 000 бр/мл до 400 000 бр/мл животното е с доклиничен мастит. А над 400 000 бр/мл животното е с клиничен мастит.

Чрез оцветяване на резултата от анализа в зелено, оранжево или червено, уредът сигнализира за здравословното състояние на животното.



Задаването на границата за доклиничен мастит става чрез промяна на стойността в полето "Warning level of cells count". Промяната на стойността става с помощта на стрелките нагоре и надолу, или чрез ръчно въвеждане на стойността.

Задаването на границата за клиничен мастит става чрез промяна на стойността в полето "Critical level of cells count". Промяната на стойността става с помощта на стрелките нагоре и надолу, или чрез ръчно въвеждане на стойността.

All values on this page are associated to selected probe type. The other probe types may have their own different values.

Warning level of cells count [-10³/mL]
Probes with more cells are colored in orange
200

Critical level of cells count [-10³/mL]
Probes with more cells are colored in red
500

1.4. Запазване на въведените настройки

Чрез натискане на бутона **APPLY Save changes** всички въведени настройки се запаметяват. След като настройките са запазени, бутонът променя цвета си от сив на зелен.

LSCC - Lactoscan Somatic Cell Counting, v1.2.0.42

User options

Probe type for which should apply parameters
Cow milk

Minimum cell size in micrometers
1

Maximum cell size in micrometers
20

The upper limit of cell size in micrometers
20

Warning level of cells count [-10³/mL]
Probes with more cells are colored in orange
200

Critical level of cells count [-10³/mL]
Probes with more cells are colored in red
500

Laboratory offset in percentage
0

APPLY Save changes **RESET Factory defaults** **FOCUSING Setting the focus**

2. Настройка на Лабораторен офсет в проценти:

Прието е, че има разлика в резултатите от анализа на една и съща проба мляко от две различни лаборатории. Според ISO 13366-1:2008 "Мляко – Преброяване на соматични клетки – Част 1: Микроскопски метод (Референтен метод)», Анекс А Съвместен анализ, Таблица А. 1 – Резултати от вътрешнолабораторен тест, отклонението между резултатите от две лаборатории може да бъде до 20%. Ако LACTOSCAN SCC COMPACT е проверен, като са използвани референтни проби от местна лаборатория, може да има разлика между стойността на резултатите на референтните проби и резултатите от LACTOSCAN SCC COMPACT. В този случай, може да бъде направена корекция, като се използва опцията „Лабораторен офсет“ и се попълни процента на корекцията.

Корекцията на лабораторен офсет може да бъде:

0 (нула) – означава, че няма направена корекция.

+N (положително число) – означава, че е направена положителна корекция в %. Крайният резултат от анализа се увеличава със зададените проценти корекция.

– N (отрицателно число) – означава, че е направена отрицателна корекция в %. Крайният резултат от анализа се намалява със зададените проценти корекция.



Внимание!

За да определите необходимостта от корекция и за да направите корекция, трябва стриктно да следвате инструкциите по-долу:

- За определяне на отклонението трябва да бъдат използвани **само референтни проби мляко от IDF акредитирани лаборатории.**

- Трябва да се използват минимум 3 различни референтни проби със следните диапазони на концентрация на клетките:

1^{ва} Референтна проба с диапазон на концентрация на клетките:

50 000 – 200 000 cell/mL

2^{ра} Референтна проба с диапазон на концентрация на клетките:

400 000 – 600 000 cell/mL

3^{та} Референтна проба с диапазон на концентрация на клетките:

800 000 – 1 200 000 cell/mL

- Референтните проби задължително трябва да се измерят в „**Референтен режим**“ на LACTOSCAN SCC COMPACT, като се следва процедурата за Референтен анализ на проби.

- Получените резултати от анализа трябва да се попълнят в Excel таблица за изчисление на Лабораторен офсет, налична на:

http://lactoscan.com/editor/ufo/files/Laboratory_offset_table.xlsx

или да се напишат в таблицата, показана по-долу:

Необработени данни	Проба 50000-200000 клетки/mL 1	Проба 400000-600000 клетки/mL 2	Проба 800000-1400000 клетки/mL 3
Измерване 1			
Измерване 2			
Измерване 3			
Измерване 4			
Измерване 5			
Измерване 6			
Измерване 7			
Измерване 8			
Измерване 9			
Измерване 10			
Средна стойност			
Стойност на референтната проба			
Разлика в проценти			
Средно отклонение			

- Средната стойност за всяка проба трябва да се изчисли, като се използва формулата по-долу:

$$MV = \frac{M1+M2+M3+M4+M5+M6+M7+M8+M9+M10}{10}$$

Където:

MV – Средна стойност от резултатите на 10-те измервания на една и съща референтна проба

M1,M2,M3,M4,M5,M6,M7,M8,M9,M10 – Резултатите от 10-те измервания на една и съща референтна проба

- Получените средни стойности от изчислението на трите проби се сравняват със стойността на референтната проба от етикета на анализирания референтни проби. Разликата в проценти между средната стойност и стойността на референтните проби се изчислява, като се използва формулата по-долу:

$$D1\% = 100 \cdot (RSV1 - MV1) / RSV1$$

Където:

D1% - Разликата в проценти за първата референтна проба

RSV1 – Стойността от етикета на първата референтна проба

MV1 – Средната стойност за първата проба

Разликата в получените резултати за трите проби трябва да бъде само положителна (+) стойност или само отрицателна (-) стойност за всяка една от тях. Ако получите положителни (+) и отрицателни (-) стойности, това означава, че има неточност в измерването спрямо стойността на референтната проба, напечатана на етикета на пробата. В такъв случай не трябва да се прави корекция, докато не е доказана правилността на лабораторните проби.

- Ако резултатите от трите проби са само положителни (+) или само отрицателни (-), тогава трябва да се изчисли отклонението в проценти. Това се прави като се използва формулата по-долу:

$$D\% = \frac{D1\% + D2\% + D3\%}{3}$$

Където:

D% - Средното отклонение на трите проби

D1% - Разликата в получените резултати за първата проба в проценти

D2% - Разликата в получените резултати за втората проба в проценти

D3% - Разликата в получените резултати за третата проба в проценти

След като се изчисли средното отклонение на трите проби, полученото число може да бъде попълнено в поле „Лабораторен офсет“.

Примерна таблица с резултати от изчисление на лабораторен офсет:

Необработени данни	Проба 50000-200000 клетки/mL 1	Проба 400000-600000 клетки/mL 2	Проба 800000-1400000 клетки/mL 3
Измерване 1	142 000	571 000	1 153 000
Измерване 2	161 000	563 000	1 164 000
Измерване 3	147 000	548 000	1 146 000
Измерване 4	157 000	530 000	1 142 000
Измерване 5	142 000	543 000	1 146 000
Измерване 6	145 000	584 000	1 122 000
Измерване 7	151 000	558 000	1 100 000
Измерване 8	150 000	584 000	1 154 000
Измерване 9	140 000	539 000	1 120 000
Измерване 10	145 000	570 000	1 155 000
Средна стойност	148000	559000	1140200
Стойност на референтната проба	156000	565000	1230000
Разлика в проценти	5,13	1,06	7,30
Средно отклонение	4,50		

Excel формули за изчисление:

Средна стойност: =AVERAGE(Измерване 1: Измерване 10)

Стойност на референтната проба: попълва се стойността от етикета на референтната проба

Разлика в проценти: =100* (Стойност на референтната проба – Средна стойност)/Стойност на референтната проба

Средно отклонение: =(Разликата в проценти за проба 50000-200000 клетки/mL + Разликата в проценти за проба 400000-600000 клетки/mL + Разликата в проценти за проба 800000 -1400000клетки/mL)/3

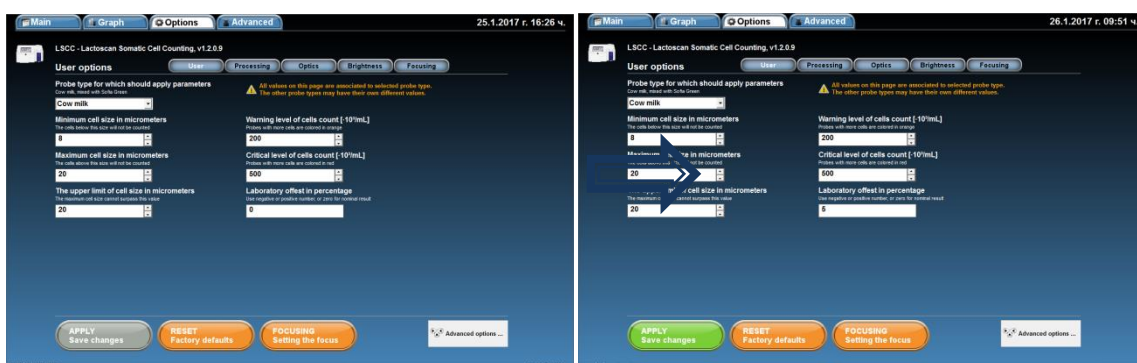
За да направите това:

2.1. От основното меню отидете в меню „Опции“:



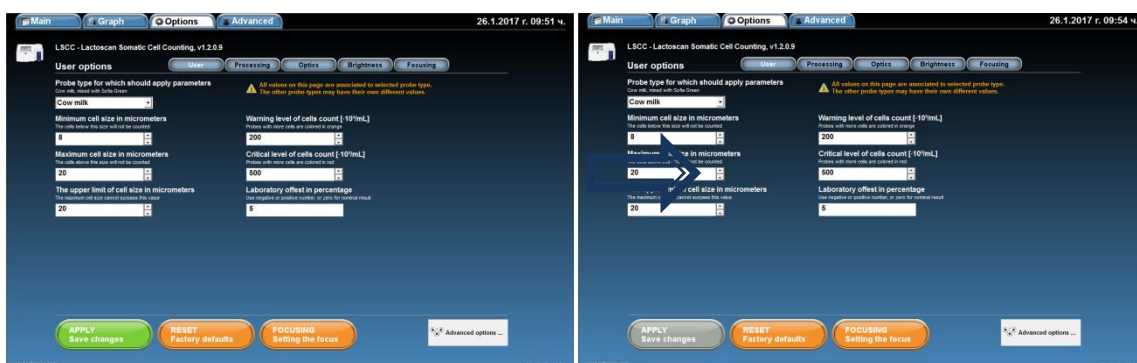
2.2. Въведете числото за отклонение.

Внимание! Ако сте получили отклонение 5%, трябва да попълните числото 5. Ако сте получили отклонение -5%, трябва да попълните числото -5.



2.3 Натиснете бутон

APPLY
Save changes



За да възстановите фабричните настройки въведете 0 (нула) в полето „Лабораторен офсет“.

Изтриване на резултат от базата данни

Потребителят може да изтрие резултат от таблицата с базата данни. За да направите това:

1. Изберете резултата, който искате да изтриете и натиснете десен бутон на мишката, за да се появи бутон Delete.



2. Натиснете бутон Delete и потвърдете, че искате да изтриете избрания резултат.



3. Избраният резултат е изтрит.

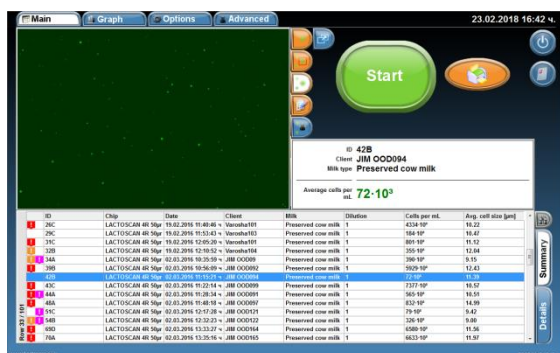


Почистване на базата данни

Софтуерът позволява, при натрупване на голям брой резултати от анализи, цялата база данни да бъде изтрита и да се освободи място за съхранение на резултати от предстоящи анализи.

За да почистите базата данни:

1. Отидете в меню „Options“



2. Натиснете бутон



3. От изскачащото меню избере „Clean Database“

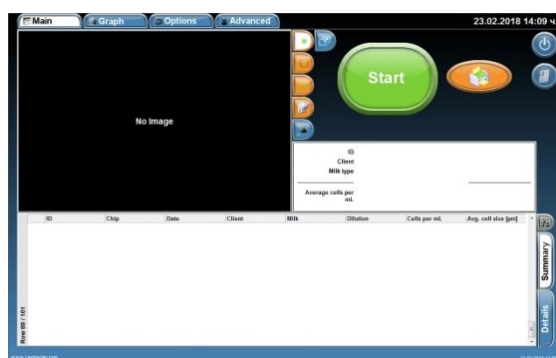


4. Натиснете „Clean Database“



Внимание!

Веднъж изтрети, резултатите не могат да бъдат възстановени!



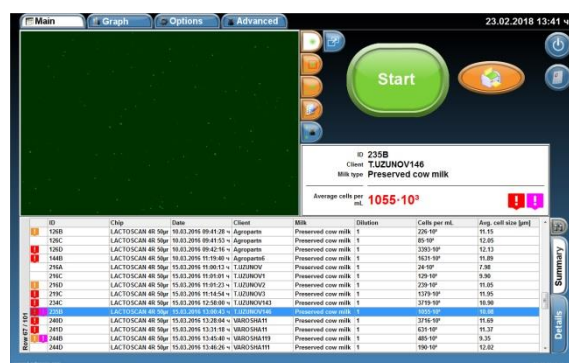
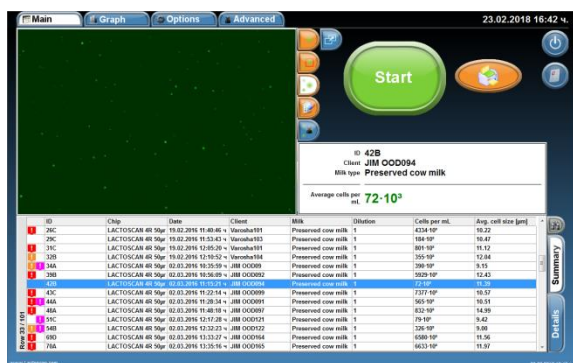
Разпечатване на резултати от базата данни

LACTOSCAN SCC COMPACT дава възможност да бъде разпечатан всеки един от резултатите в базата данни на уреда.

Разпечатването на резултати на вграден принтер:

1. Изберете резултата, който искате да разпечатате.

Потребителят избира резултат, като го маркира чрез натискане върху информацията за съответния анализ в поле „Summary“.



2. Натиснете , за да преминете към меню „Разпечатване“.

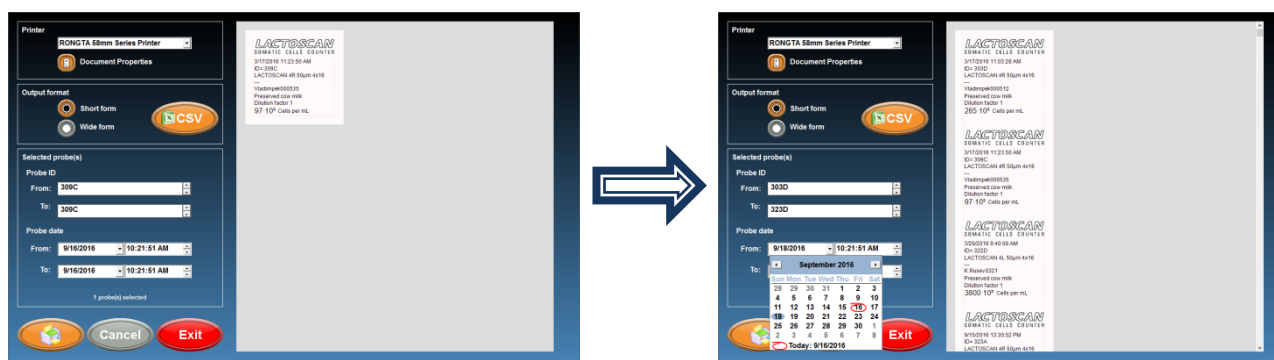


3. Не е необходимо да избирате принтер или формат на разпечатване. По подразбиране LACTOSCAN SCC COMPACT разпечатва резултатите на вградения принтер и в кратка форма.

4. Ако желаете да промените или добавите за разпечатване резултати към вече избраните такива, натиснете стрелките отдясно на ID.

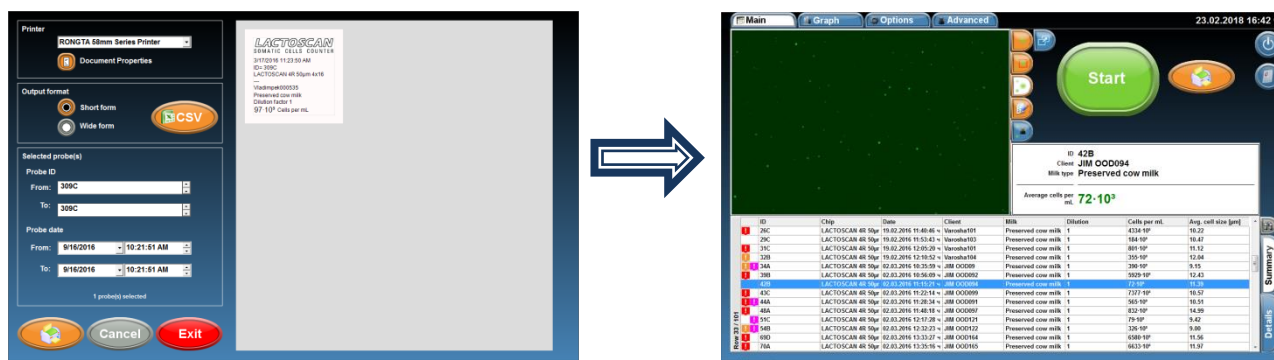


5. Ако желаете да разпечатате резултатите от анализите, извършени за определен период от време, с помощта на календара може да посочите начална и крайна дата на периода.



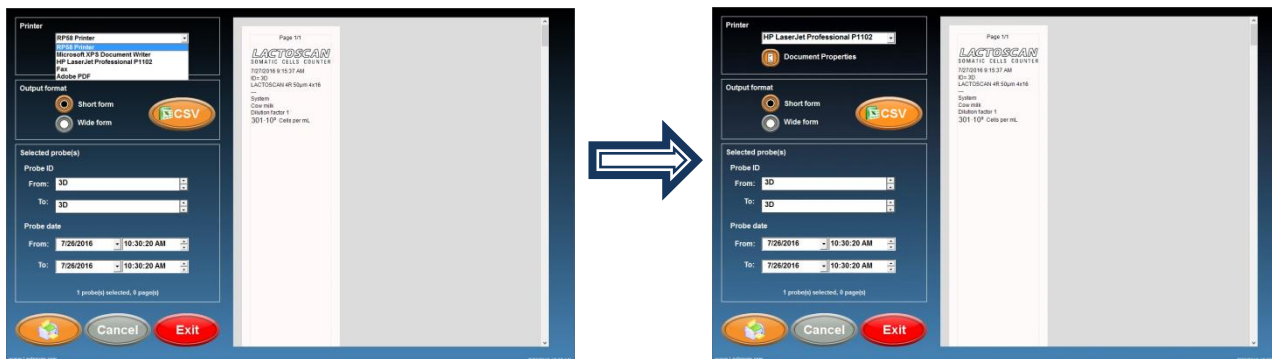
6. След като сте избрали резултатите, които искате да разпечатате, натиснете  **.**

7. За да се върнете към меню Main, натиснете  **.**

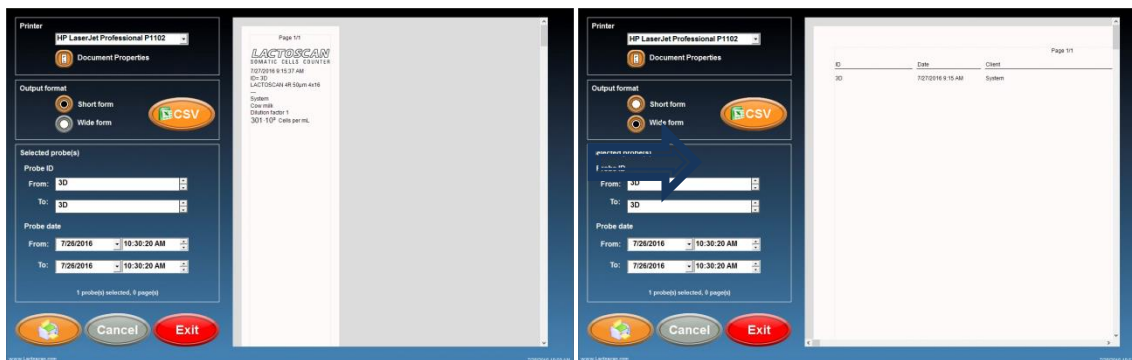


Разпечатване на резултати на външен принтер:

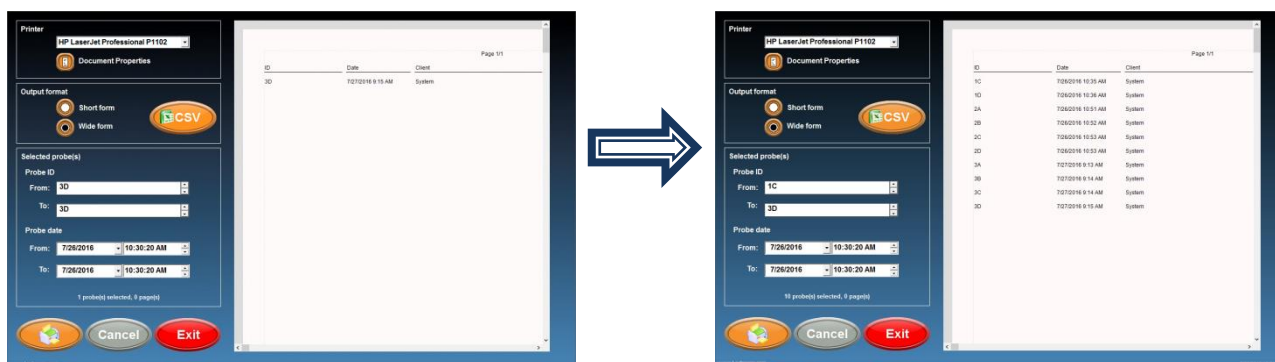
1. Преди да започнете да разпечатвате, уверете се че външният принтер е свързан и инсталиран.
2. От падащото меню изберете името на външния принтер.



3. Изберете WIDE form (Широка форма), за да разпечатате резултатите в таблица.



4. Ако желаете да промените или добавите за разпечатване резултати към вече избраните такива, натиснете стрелките отдясно на ID на резултатите или използвайте календара.



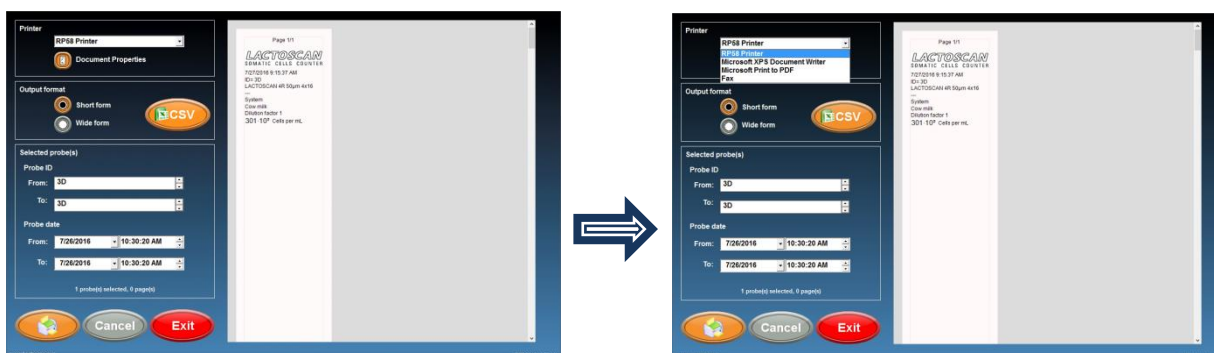
5. След като сте избрали резултатите, които искате да разпечатате, натиснете .

6. За да се върнете към меню "Main", натиснете

Exit

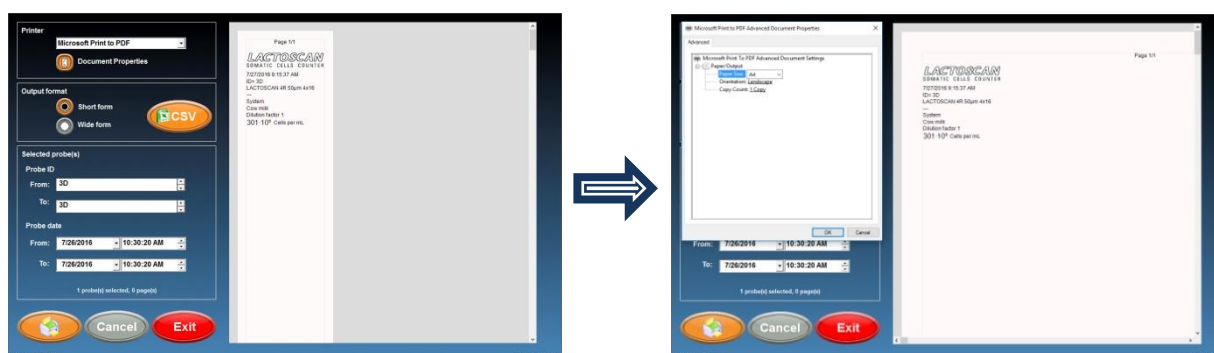
Запазване на резултатите в PDF файл:

1. От падащото меню изберете MICROSOFT PRINT TO PDF.



2. Преди да съхраните резултатите, проверете ориентацията на страницата:

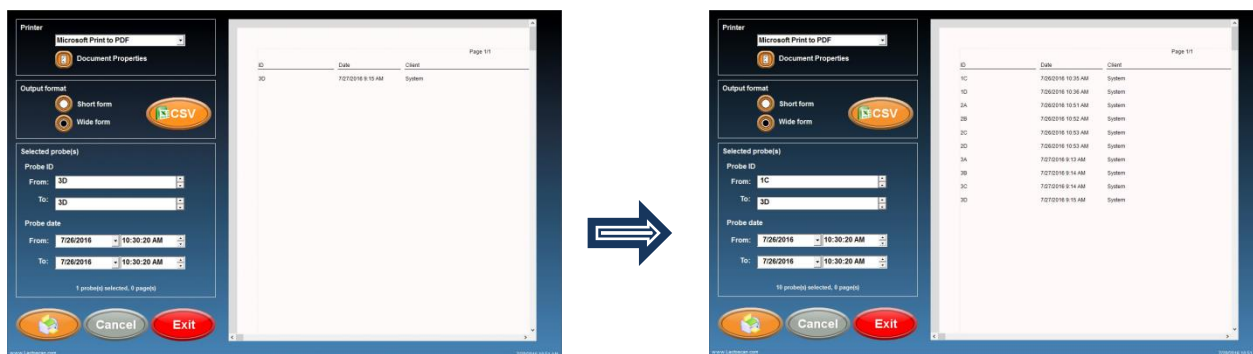
Ако искате да съхраните резултатите в WIDE form (Широка форма), ориентацията трябва да бъде „landscape“ (пейзажно) и размерът на хартията A4. За да проверите ориентацията, натиснете „Document properties“.



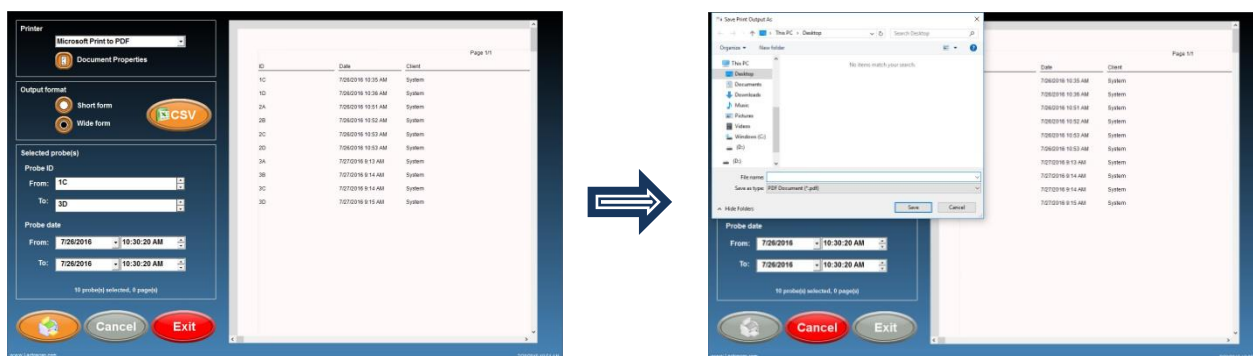
3. Изберете WIDE form (Широка форма), за да разпечатате резултатите в таблица.



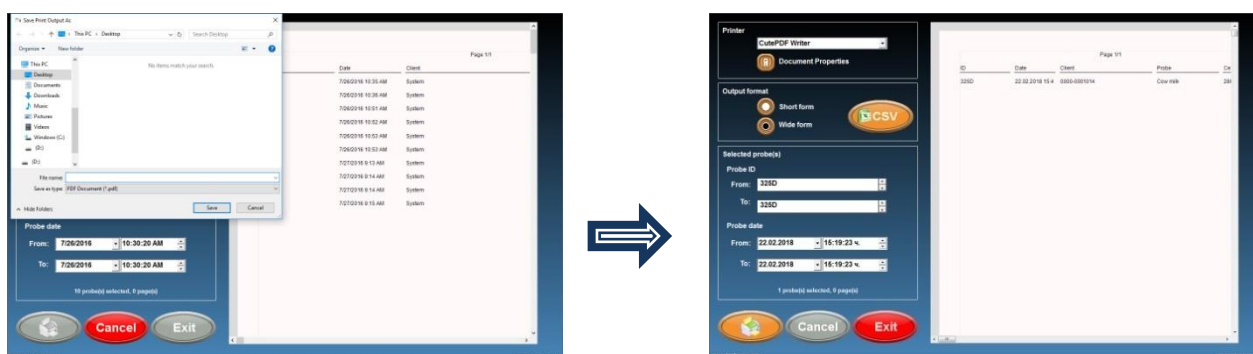
4. Добавете резултатите, които искате да са включени в PDF файла.



5. Натиснете бутон , за да съхраните файла.

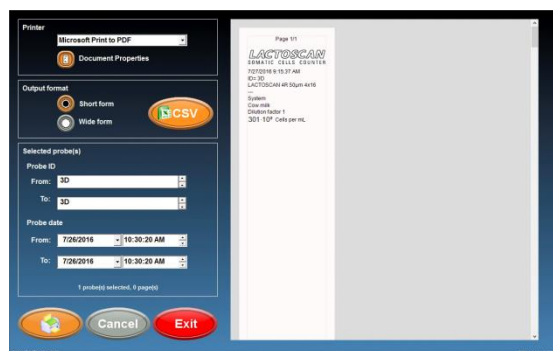
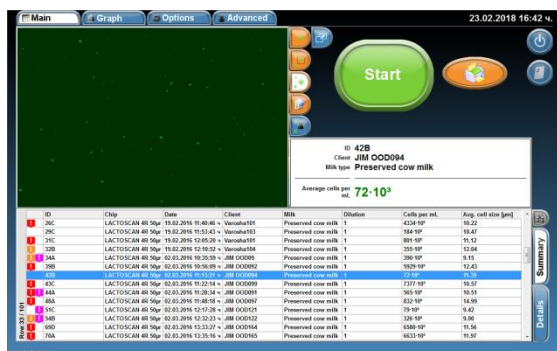


6. Изберете директорията, където искате да съхраните файла, напишете името на файла и натиснете бутон **SAVE** за окончателно съхраняване на резултатите в PDF файл.

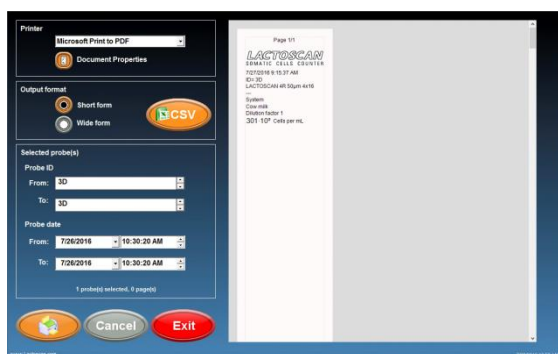


Запазване на резултатите в Excel файл:

1. Влезте в меню Печат, като натиснете бутон



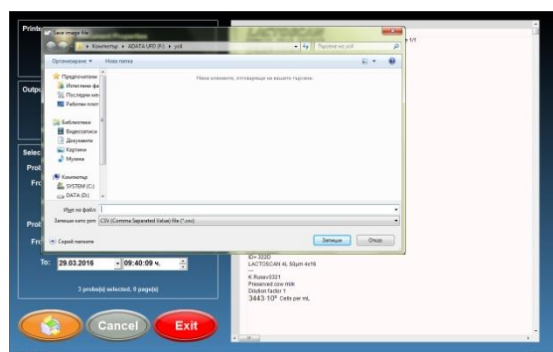
2. Добавете резултатите, които искате да бъдат включени в Excel файла.



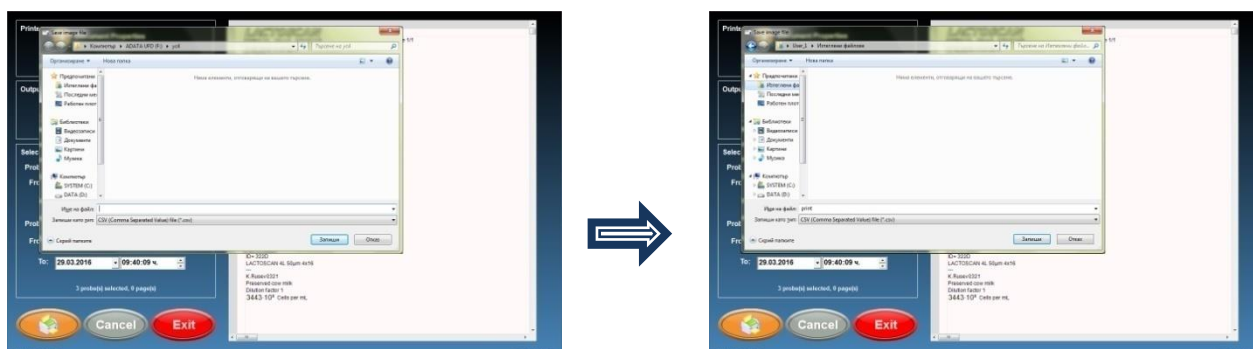
3. Натиснете бутон



, за да съхраните файла.



4. Изберете директорията, където искате да съхраните файла, напишете името на файла и натиснете бутон „SAVE“ за окончателно съхраняване на резултатите в Excel файл.



Фокусиране на LACTOSCAN SCC COMPACT

Фокусирането на уреда трябва да бъде извършвано на всеки 3 месеца.

За да фокусирате уреда:

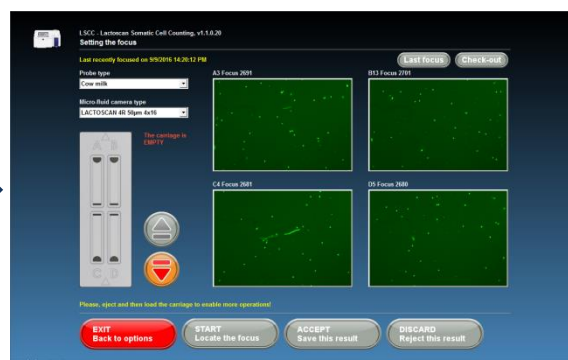
1. Подгответе проба краве мляко с $300-500 \times 10^3$ соматични клетки на милилитър.

Може да се използва проба краве мляко от предходен анализ с резултат между 300×10^3 и 500×10^3 соматични клетки на милилитър.

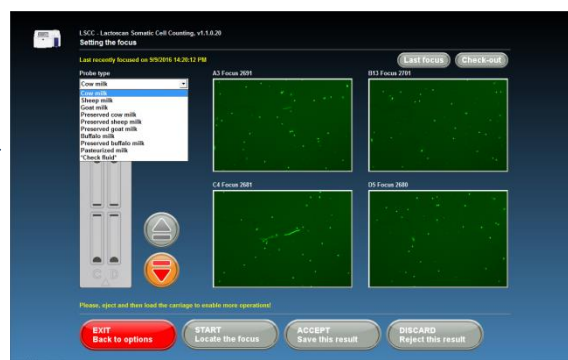
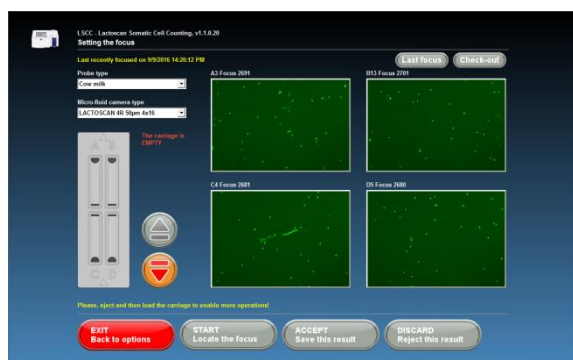
Ако такава проба не е налична, трябва да се използва проба краве мляко, за която се предполага, че наличието на соматични клетки е между 300×10^3 и 500×10^3 соматични клетки на милилитър. Пробата трябва да се подготви за анализ, като се следват инструкциите в раздел „Подготвяне на проба за анализ“.

2. Фокусиране на LACTOSCAN SCC COMPACT

2.1. От екран „Опции“ натиснете бутон **FOCUSING Setting the focus**, за да се премине към екран „Фокусиране“. В четирите квадрата се виждат последните намерени фокуси.



2.2. От падащото меню „Вид на пробата“ изберете краве мляко.



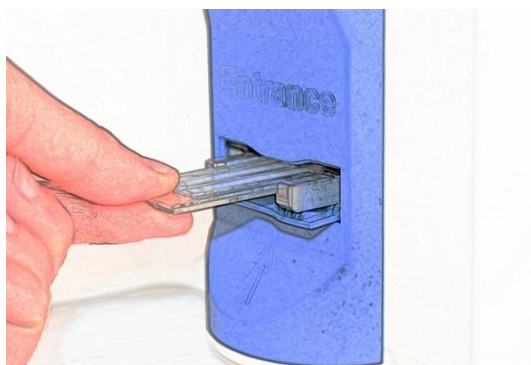
2.3. Изберете вида на микрофлуидната камера, която е заредена с пробата.



2.4. Натиснете бутон , за да се покаже каретката.



2.5. Поставете заредения с пробата мляко LACTOCHIP в каретката.



2.6. Натиснете бутон



Уредът прибира каретката и може да се премине към фокусиране.

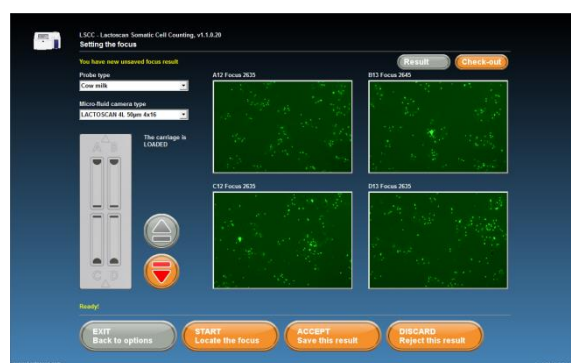
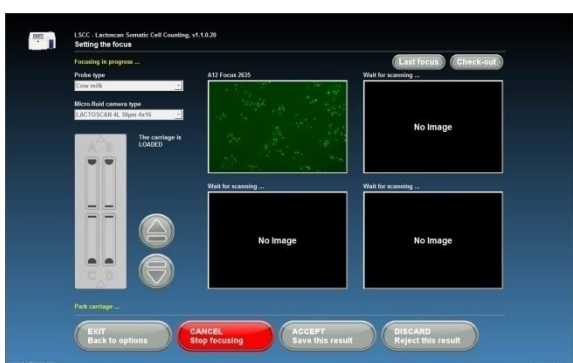
2.7. Натиснете бутон

START
Locate the focus

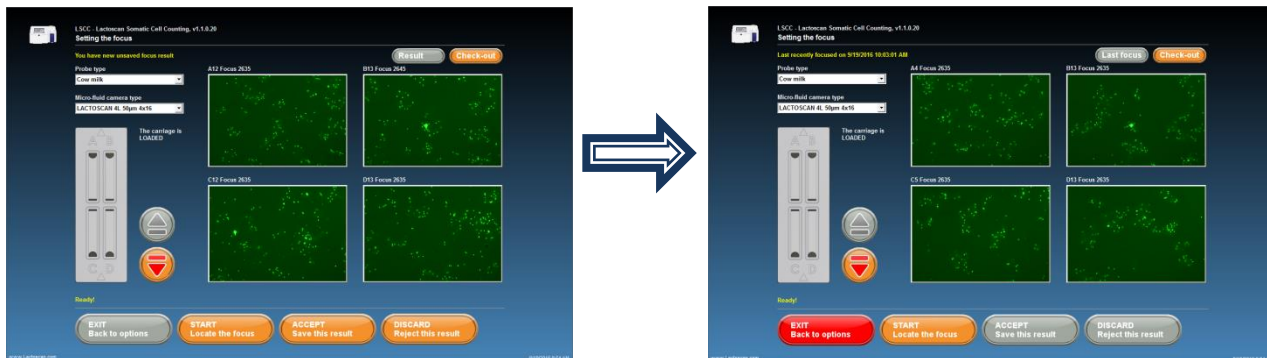
, за да започне фокусирането.



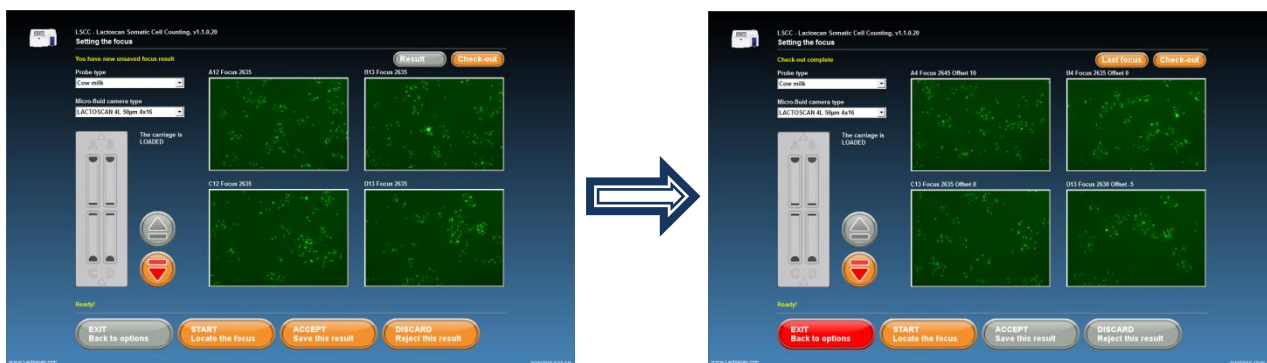
Уредът започва да търси фокус на четирите базови точки.



2.8. Натиснете бутон **ACCEPT** **Save this result** , за да запазите новите намерени фокуси или бутон **DISCARD** **Reject this result** , за да ги отхвърлите.

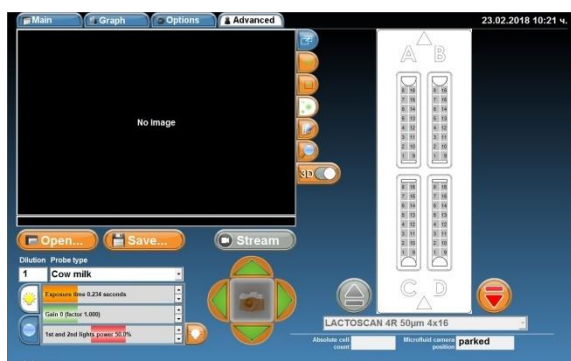


2.9. Натиснете бутон **Check-out** , за да направите проверка на намерените фокуси.



Работа в режим „Advanced“:

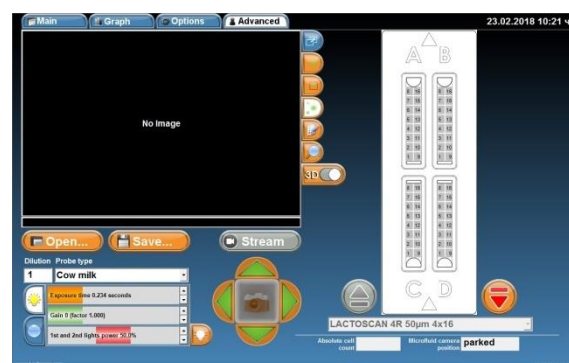
1. Натиснете  , за да извадите каретката.



2. Поставете LACTOCHIP с пробата в каретката и изберете вида му.

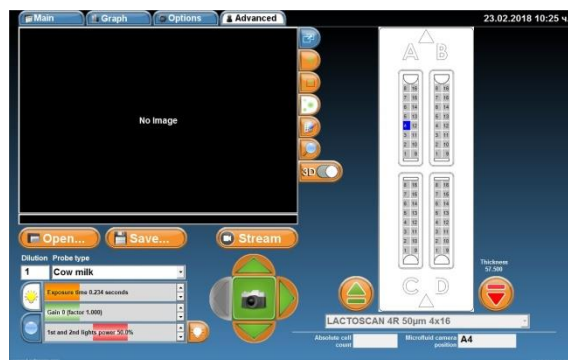
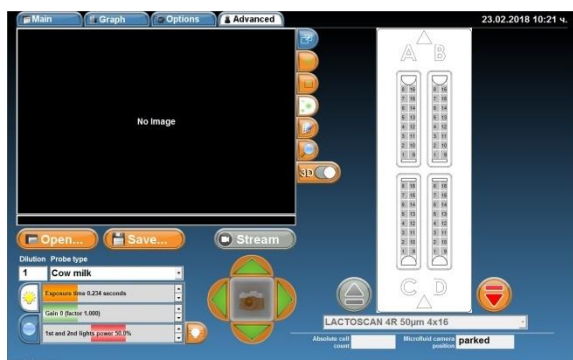


3. Натиснете  , за да приберете каретката с LACTOCHIP.



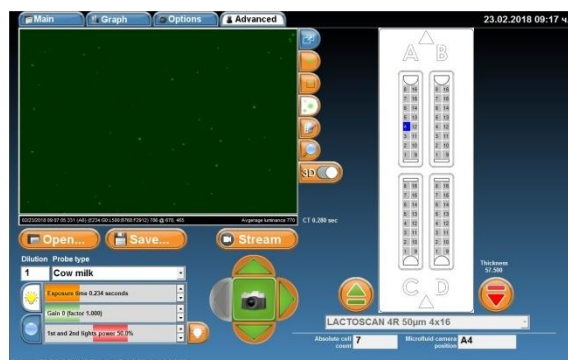
4. Изберете сектор от микрофлуидната камера, който желаете да разгледате.

В нашия пример: микрофлуидна камера A, сектор 4

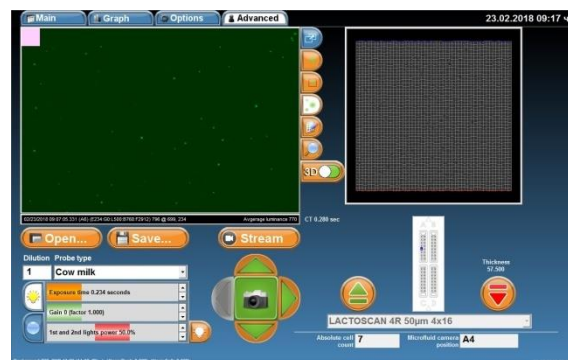


5. За да заснемете и да видите изображението на избрания сектор,

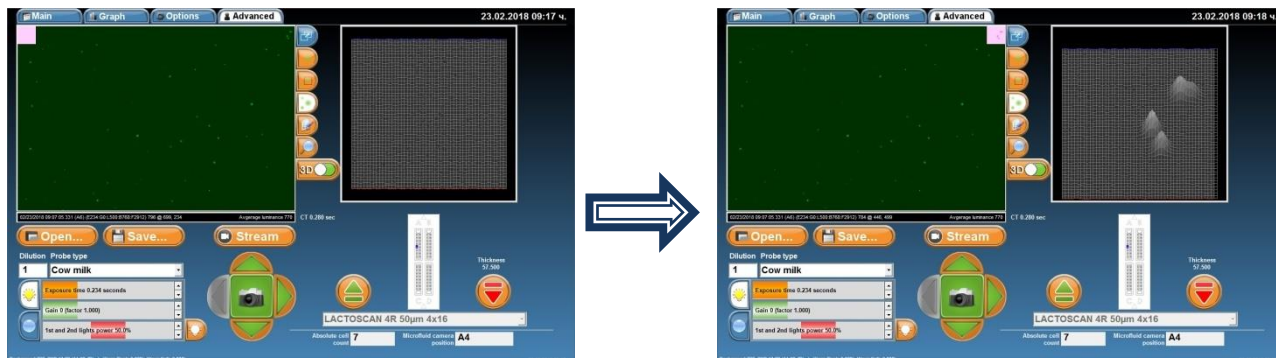
натиснете  .



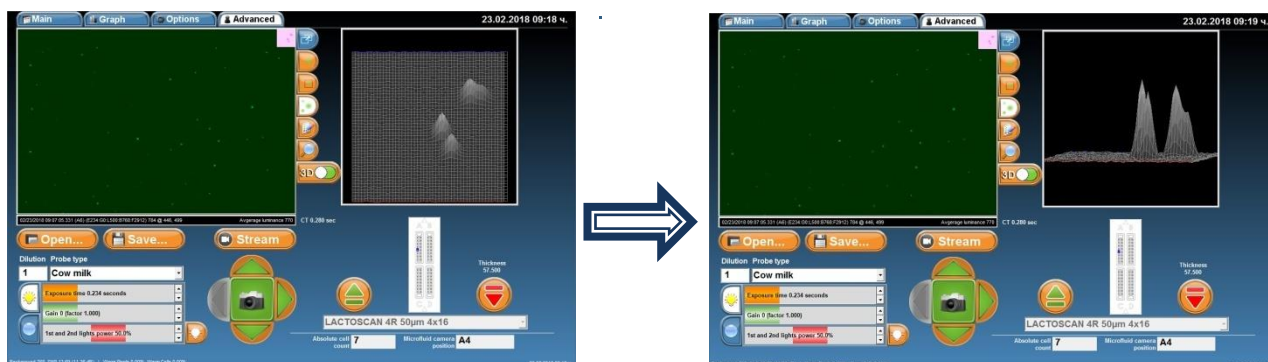
6. За да видите 3D графика на изображението, натиснете . 3D графиката показва клетките под формата на стълбове, като височината на стълба зависи от яркостта.



7. За да видите 3D графика на точно определена група клетки от изображението, преместете сивото квадратче от горния ляв ъгъл на изображението върху желаната група клетки. Можете да използвате и мишката, като я позиционирате върху сивото квадратче, натиснете и задържите натиснат десния бутон, и движите мишката върху изображението.



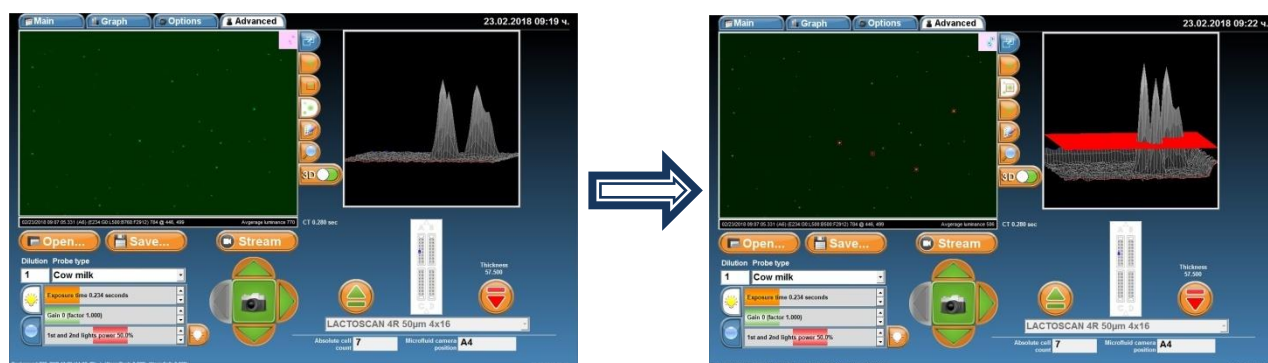
8. Можете да разгледате от всички страни 3D графиката, като натиснете върху нея и в същото време си движите пръста нагоре, надолу, наляво или надясно, докато достигнете до желания изглед. Може да използвате и мишката, като я позиционирате върху 3D графиката, натиснете и задържите натиснат десния бутон, и движите мишката.

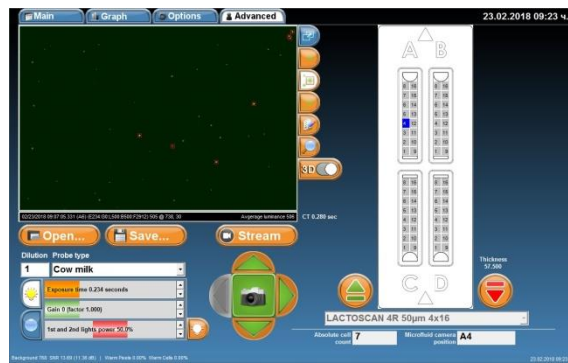
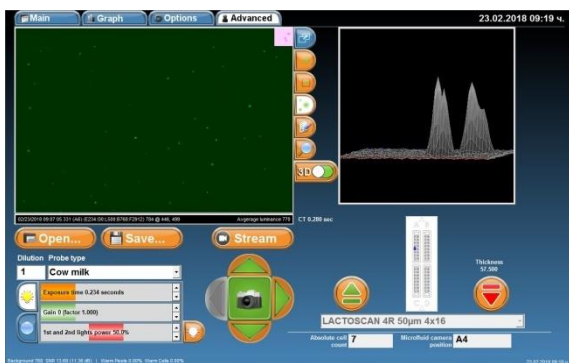


9. За да видите маркирани всички клетки от изображението, натиснете

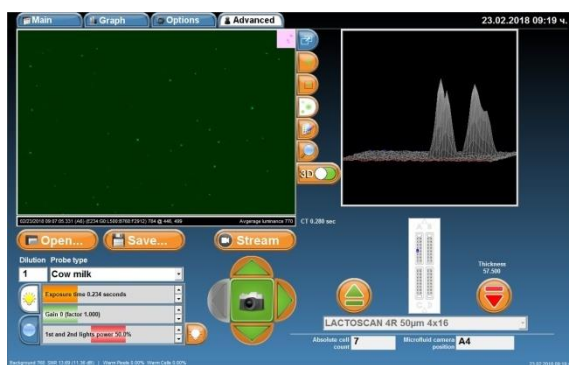


Маститни клетки

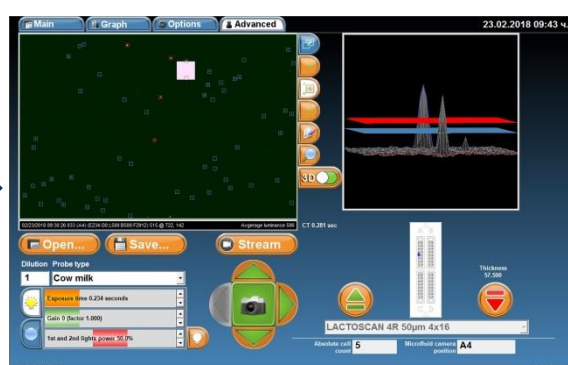
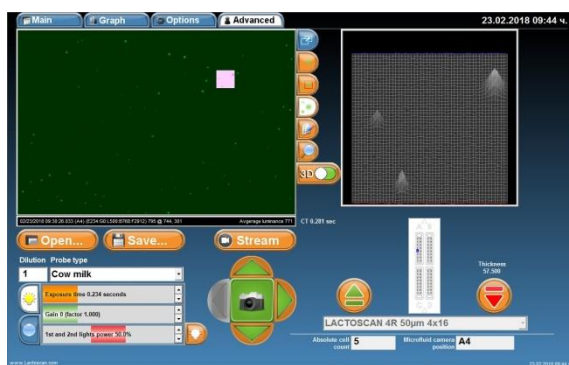




Дрождеви клетки

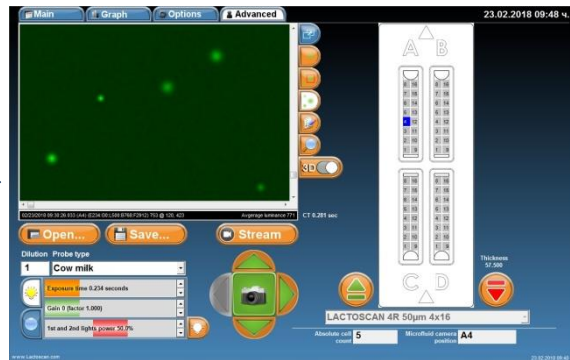
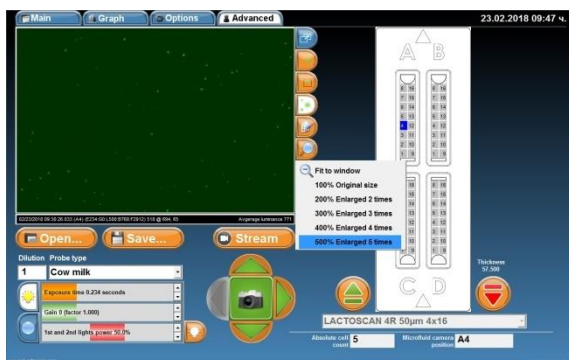


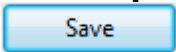
Всички клетки





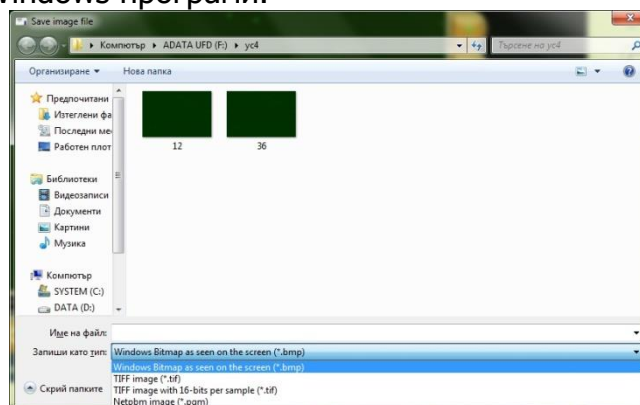
10. За да видите приближено изображение, натиснете  **и изберете процент на приближаване.**



11. За да запазите изображението на сектора, натиснете  **. Напише име на файла, изберете къде искате да го съхраните и натиснете**  **.**



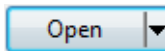
Потребителят може да избере формата на съхранената снимка. Възможни формати са .TIFF и .BMP. Формат .BMP е лесен за последваща обработка и може да бъде отворен с всякакви Windows програми.



12. За да отворите изображение от предишен анализ, натиснете



. Отворете папката, в която е съхранено изображението, кликнете върху него и натиснете



13. Бутон



– След натискане на бутон



се задейства режим Видео и LACTOSCAN SCC COMPACT започва да снима непрекъснато, като времето за смяна на изображението зависи от зададеното време за експозиция. Например, ако са зададени 1.945 секунди време за експозиция, изображенията на екрана ще се сменят през приблизително 1.945 секунди. Приложението на режим „Видео“ служи за разглеждане на поредица от сектори от микрофлуидната камера. Вместо



натискане на бутон  **след всеки избран нов сектор, LACTOSCAN SCC COMPACT автоматично заснема съответния сектор. Докато е активиран режим „Видео“, потребителят може не само да избира сектор от микрофлуидната камера, но и да променя интензитета на LED диода, времето за експозиция, фокуса и усилването на чувствителността на оптическия сензор (CCD GAIN).**



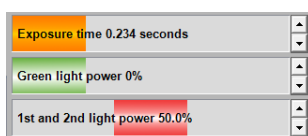
14. Чрез натискане на  **, можете да изберете различни секторите на микрофлуидните камери. Също така може да изберете друг сектор, като натиснете номера на съответния сектор. За да заснемете и да видите изображението на новоизбрания сектор, натиснете** .

В нашия пример избираме сектор 10, микрофлуидна камера А.

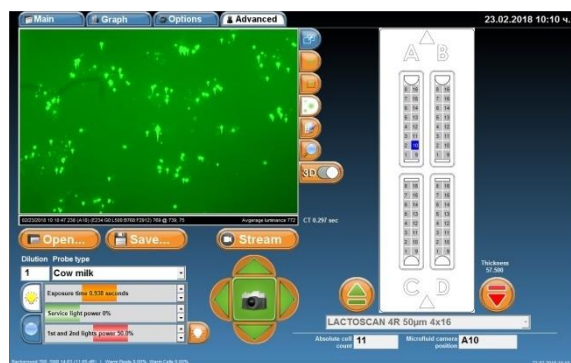


15. За настройка на интензитета на LED диод 1 и 2 (ако е наличен в уреда) и Времето за експозиция, натиснете .

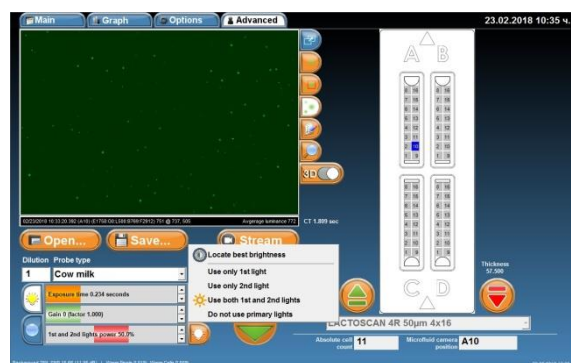
С помощта на скрол бутоните, желаните стойности.



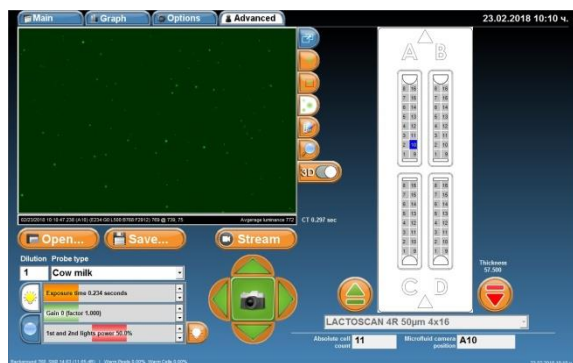
можете да зададете



16. За да изключите единия или двата LED осветителя, натиснете .



17. За да видите бутони, с които се настройва фокуса на микроскопа, натиснете .



18. За автофокус, натиснете .





19. С натискане на  и , се задава ръчно позицията на фокуса.

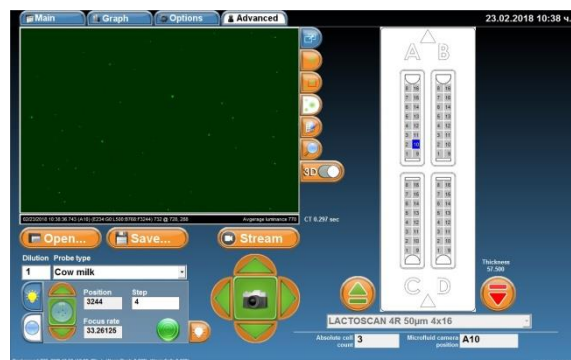
Внимание!



Полето "Step"

Step
4

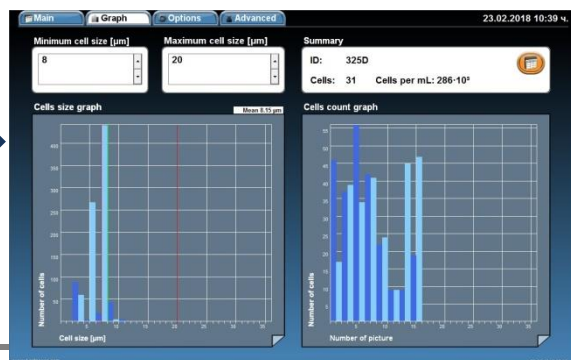
показва през каква стъпка ще се променя позицията на фокуса. Стойността на стъпката може да се променя, като се напише съответното число в полето.



20. Ако желаете да разгледате графика на получените резултати от настоящото изображение, преди да преминете в меню Graph, е задължително да попълните разреждането (Dilution) и вида на пробата (Probe type). След попълване на Dilution и Probe type, натиснете



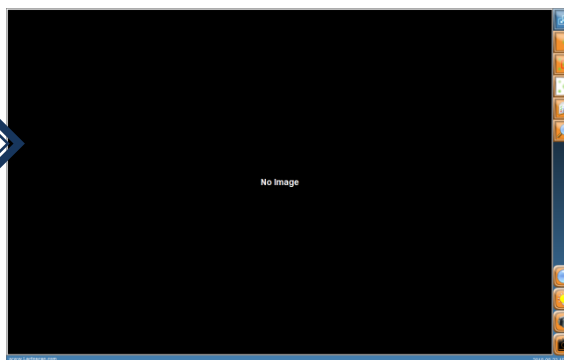
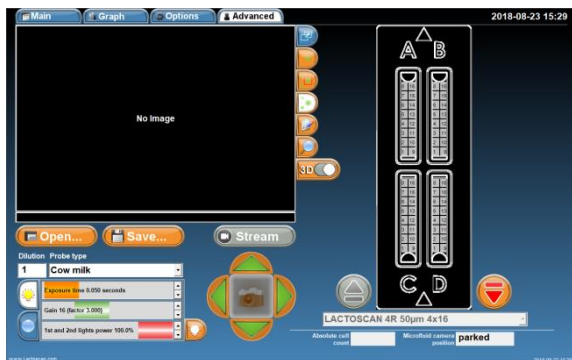
и след това



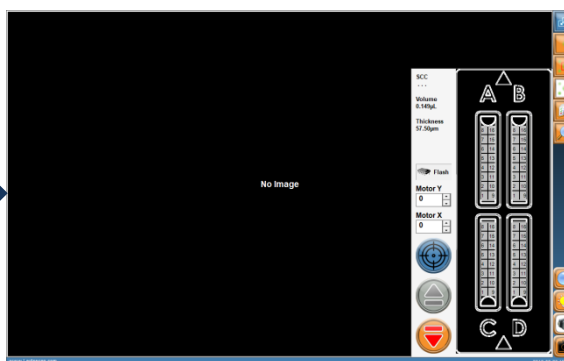
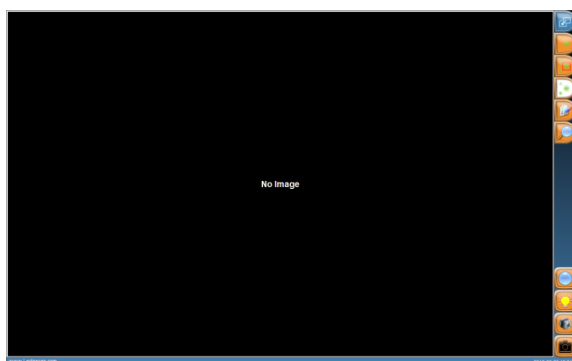
Проверка на увеличението на LACTOSCAN SCC COMPACT с помощта на градуирана скала

Проверката на увеличението на LACTOSCAN SCC COMPACT става чрез използване на специален LACTOCHIP с градуирана скала.

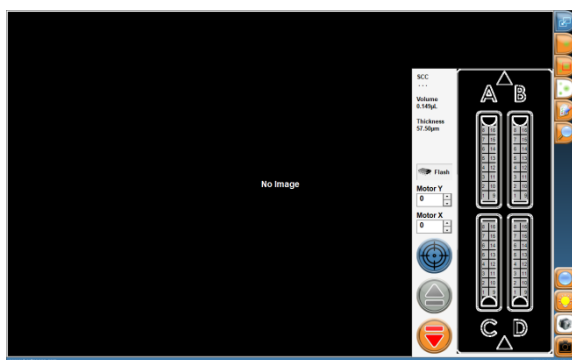
1. За да направите проверка, в меню "Advanced" натиснете бутон .

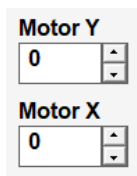


2. Натиснете бутон , за да отворите менюто за позициониране на микроскопа на LACTOSCAN SCC COMPACT върху градуираната скала.

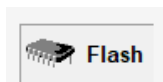


3. Натиснете , за да позиционирате микроскопа върху позицията на градуираната скала.





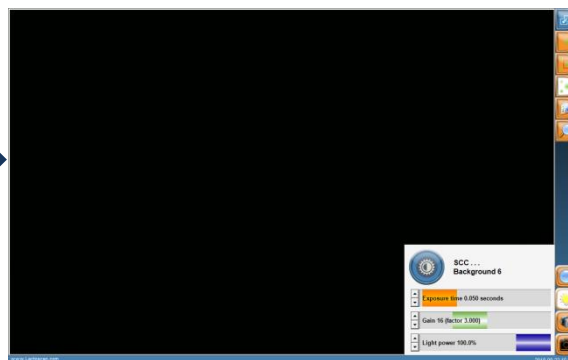
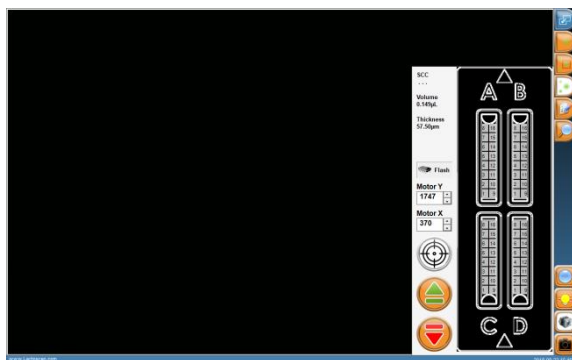
3.1. Използвайте Motor Y и Мотор X за по-точно позициониране на микроскопа върху градуираната скала.



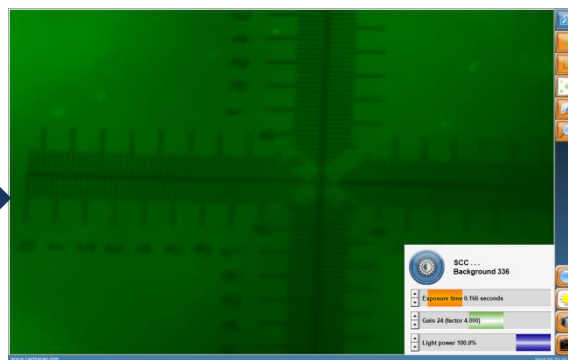
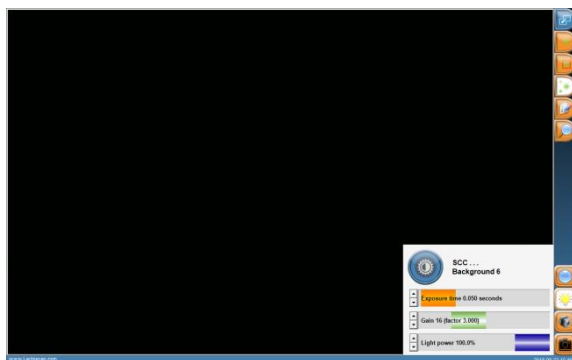
3.2. Бутон Flash отваря меню, което се използва само от обучен техник. Всички промени, направени в това меню, могат да доведат до неизправност на уреда.



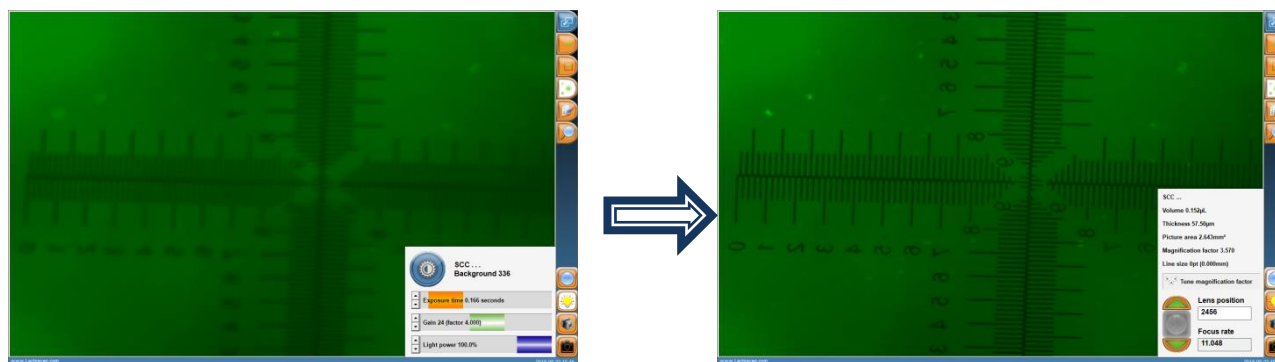
4. Натиснете бутон , за да отворите менюто за настройка на интензитета на LED диод.



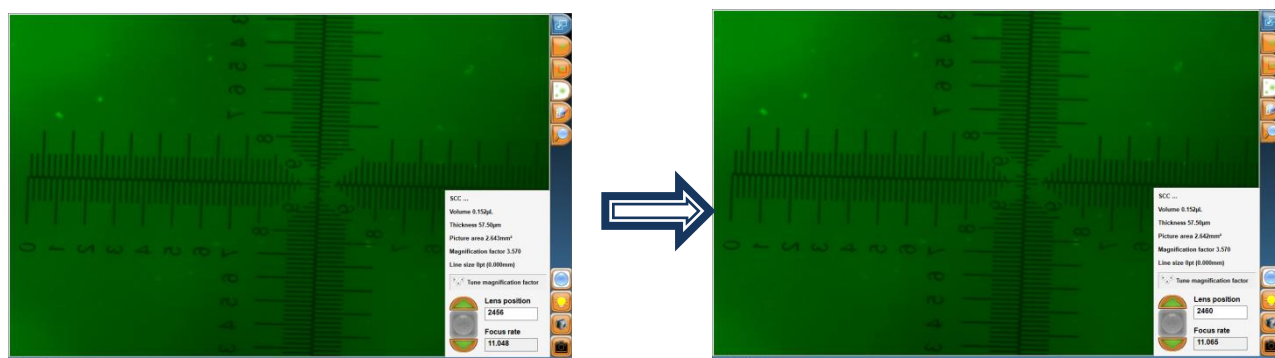
За автоматично намиране на най-добрия интензитет на LED диода, натиснете бутон . Ако изображението не изглежда достатъчно осветено или градуираната скала се вижда прекалено тъмна, използвайте плъзгачия се бутон за задаване на експозицията.



5. Натиснете бутон , за да преминете към менюто за проверка.



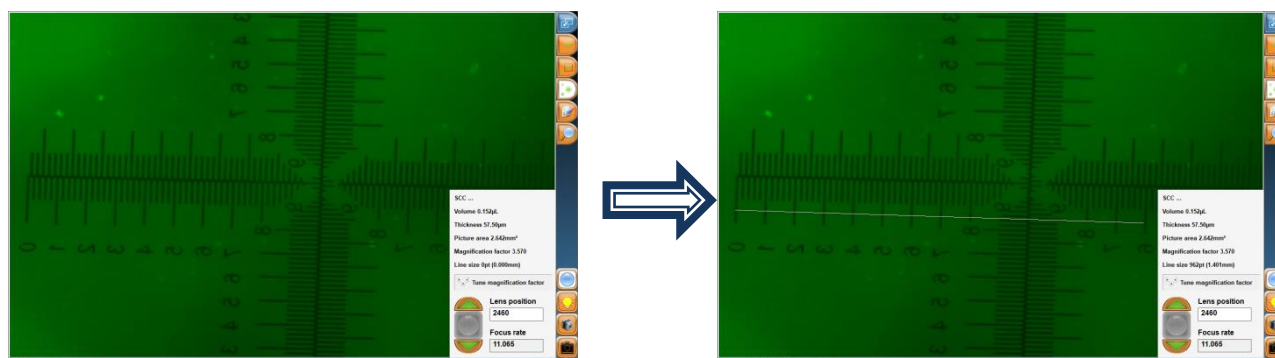
5.1. С помощта на бутони  и , изберете най-добрата позиция на лещите (Lens position), при която оценката на фокуса (Focus rate) е най-висока.



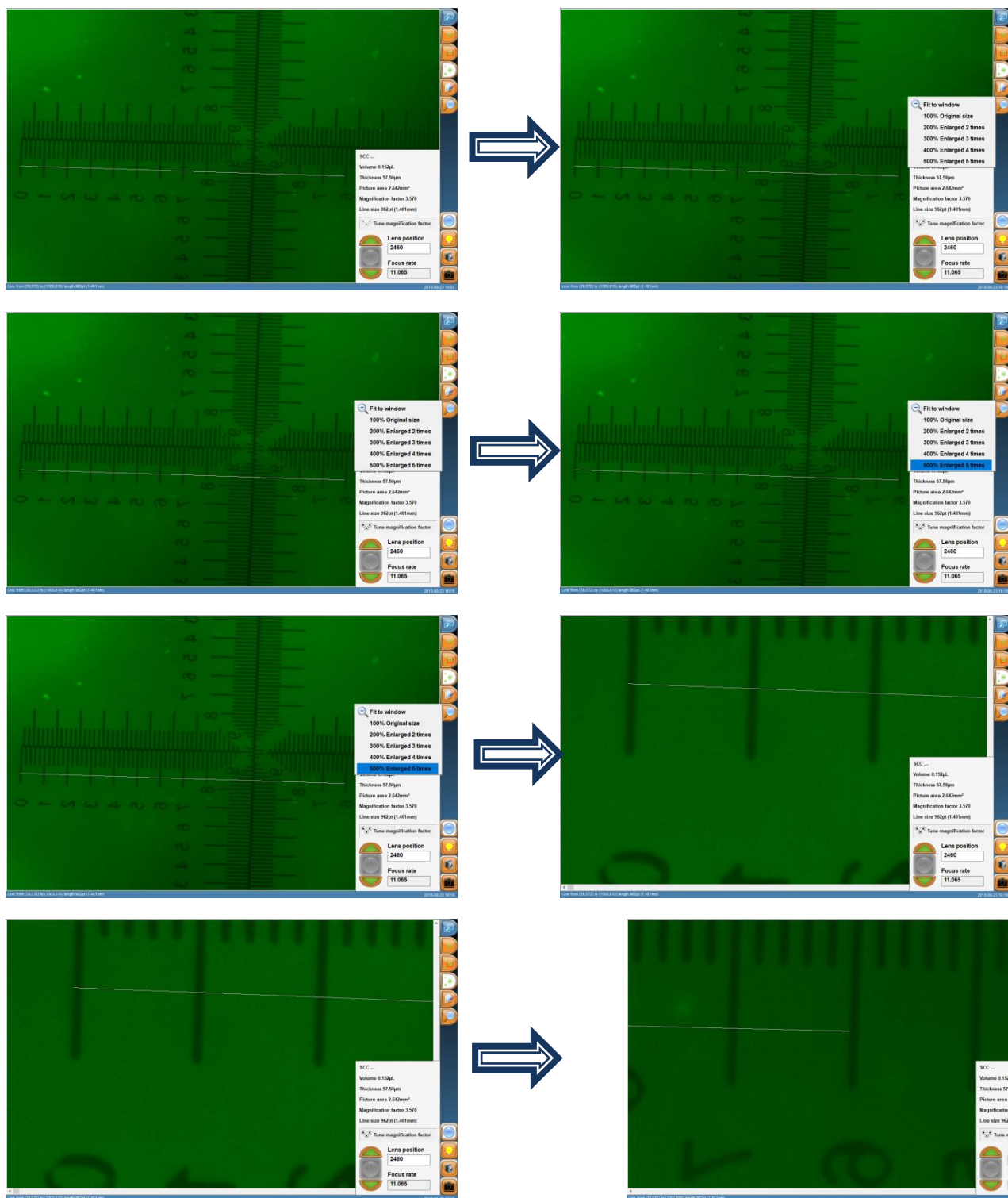
Стойностите за оценка на фокуса са различни при различен интензитет на LED диода.

Позиционирайте мишката на лявата хоризонтална скала на позиция 0. Натиснете десен бутон на мишката и я придърпайте до достигане на позиция 6 на дясната хоризонтална скала. По този начин ще начертаете измервателна линия.

Например: Дължината на линията (Line size) трябва да е $1.400 \text{ mm} \pm 0,01 \div 0,03 \text{ mm}$. Когато дължината на линията се различава от $1.400 \text{ mm} \pm 0,01 \div 0,03 \text{ mm}$, тогава увеличението на LACTOSCAN SCC COMPACT не е настроено. Необходимо е да се свържете с LACTOSCAN сервизен център.



5.2. За да сте сигурни, че линията е позиционирана точно на позиция 0 и позиция 6 от скалата, натиснете бутон , за да приближите.



5.3. Бутон  Tune magnification factor отваря меню, което се използва само от обучен техник. Всички промени, направени в това меню, могат да доведат до неизправност на уреда.

Обновяване на информация за видовете LACTOSHIP налични в софтуера

Обновяването на видовете LACTOSHIP, налични в софтуера, става с помощен файл за обновяване. При необходимост от обновяване на информацията, моля да се свържете с нашия сервиз.

Излизане от програмата и изключване на LACTOSCAN SCC COMPACT



1. За да преминете към екран „Изключване“, натиснете бутон



2. За да излезете само от програмата на уреда и да преминете към операционната система - Windows, натиснете

CLOSE
Exit to Windows

3. За да изключите програмата и операционната система на уреда, натиснете

SHUT DOWN
Power off



Внимание!

Винаги изключвайте уреда в края на работния ден или след като сте приключили с измерванията за деня.

4. За да се върнете обратно в програмата, натиснете

RETURN
Back to application

Поддръжка и почистване

LACTOSCAN SCC COMPACT се нуждае от извършване на периодичен автофокус.

Подменяйте филтрите на LACTOSCAN SCC COMPACT всеки месец.

Почиствайте кутията на LACTOSCAN SCC COMPACT с мека кърпа и спирт, или дестилираната вода, като внимавате да не попадне почистваща течност в хранващия порт, USB портовете или през вратата на каретката. Не изливайте или пръскайте каквато и да е течност директно върху уреда, за да предотвратите токов уред, когато уредът е включен. Забършете екрана със суха кърпа веднага след почистването.

Почистете сензорния екран на LACTOSCAN SCC COMPACT с мека кърпа без власинки, навлажнена с препарат за почистване на LCD дисплей без да прилагате сила и внимавате да не влезе течност в бутоните от страни на екрана. Не изливайте препарат директно върху екрана и не използвайте абразивни препарати, които могат да надраскат екрана. Забършете екрана със суха кърпа веднага след почистването.

Дезинфектирайте LACTOSCAN SCC COMPACT, като използвате мека кърпа и 70% спирт, като внимавате да не попадне почистваща течност в хранващия порт, USB портовете или през вратата на каретката. Избягвайте използването на белина, защото може да остави бели остатъци върху уреда. Не изливайте или пръскайте каквато и да е течност директно върху уреда, за да предотвратите токов уред, когато уредът е включен. Забършете екрана със суха кърпа веднага след почистването.



Внимание!

Изхвърлете кърпите в подходящ контейнер за отпадъци.

LACTOSCAN SCC COMPACT – определяне на броя на соматични клетки в сурово мляко – метод



Броят на соматичните клетки (ОБСК) е един от международните стандарти за контрол на качеството на млякото и е полезен индикатор за наличието на мастит.

В момента съществуват няколко метода за определяне на общия брой соматични клетки в млякото (ОБСК). Различните методи се основават на различни свойства и експлоатационни характеристики, но нито един от тях не е в състояние да определи „истинския“ брой клетки. При идеални условия би могло да се определи истинския ОБСК в дадена проба, но съществуват редица теоретични и практически проблеми, които правят изпълнението невъзможно особено когато са необходими автоматизация и скорост на анализа. Поради случайните позиции на соматичните клетки в млечните проби, всеки резултат, ако не е анализирана цялата проба, ще отразява само някаква оценка на истинския брой клетки.

При определянето на ОБСК е необходимо да се спазва изискването на стандарта ISO 13366-1:2008 «Мляко – Преброяване на соматични клетки - Част 1: Микроскопски метод (Сравнителен метод)». Тъй като клетките в млякото се разпределят по закона на Поасон, има определено минимално количество клетки, което трябва да се изброи, за да се постигне необходимото ниво на точност (стр.6 от стандарта). За достоверното определяне на ОБСК е необходимо да бъдат изброени не по-малко от посоченото в следната таблица количество соматични клетки:

Концентрация на сом.клетки хил/мл	Коефициент на вариация, CV%	Мин. количество изброени клетки
< 150	10	100
150-250	7	200
250-400	6	300
≥ 400	5	400

Разпределението на Поасон е по формулата $M = V = s^2$,

Където M – средната стойност – (брой на преброените клетки)

V - дисперсия

s – стандартно отклонение

Коефициентът на вариация (CV) ще е равен на $CV = \frac{S}{M} * 100\%$

При различните методи на броене, за да постигнем необходимата точност, има практически ограничения, свързани с обема на ефективно измерваното мляко. Така например, ако измерваната проба мляко съдържа 100 000 соматични клетки в 1 мл, за да постигнем необходимата точност от $CV < 10\%$, трябва да бъдат изброени не по-малко от 100 клетки, които се съдържат в не по-малко от 1 μL неразредено мляко. За да се получи по-голяма точност на измерването – напр. $CV < 5\%$, е необходимо количеството на измереното мляко да е значително по-голямо – да се изброят поне 400 клетки, които биха се съдържали в 4 μL мляко.

Важен момент е вярното идентифициране на клетката, когато има такава и отхвърлянето на всеки обект или частица в млякото, които приличат, но не са соматични клетки. Това е важен фактор за определяне точността на всеки метод за преброяване на ОБСК. Ключов момент е възможността за измерване размера на въпросните частици. Въпросът за селективност се усложнява от това, че в повечето случаи млечните проби се анализират на място, далеч от добива на млякото, обикновено значителен период от време след доенето. Тъй като млякото е биологична среда с активни ензими и микроорганизми, това може да доведе до промяна в броя на клетките или тяхната морфология, дори и да са консервирани.

Като решение на изложеното, е налице общо съгласие, като референтен метод за определяне на „истинския“ брой соматични клетки в млякото да се приеме директният микроскопски анализ (ДМА) с използването на метилен-синьо или флуоресцентни багрила. Методът е защитен в IDF/ISO стандарт 148. Има обаче няколко аспекта на този метод, които ограничават неговата приложимост от практическа гледна точка, като дълга процедура и интензивно обучение на оператора, за да се гарантират обективна селективност или точност.

Съществен недостатък на директния микроскопски анализ (ДМА) е склонността към оцветяването на артефакти и заедно с потенциалния проблем от агрегация на клетките, и ограничения обем на пробата, дават предпоставка за неточност в броя на клетките. Особено ярко това е изразено в млеката с ниско съдържание на соматични клетки (до 300 000/мл). Точността, прецизността и повторемостта на резултатите по метода на ДМА зависят изключително много от подготовката и умението на аналитика, независимо от използваното оборудване или протокол.

За определяне на ОБСК се използват и други методи. Типични методи са броенето на ОБСК по сходен стандартен метод, базиращ се на директно разпознаване на флуоресцентни изображения с микроскоп с малко увеличение. (Лактоскан SCC на Милкотроник ООД, C-Reader "ADAM" на DigitalBio Technology; NucleoCounter SCC 100 на Chemometec; DCC на DeLaval);

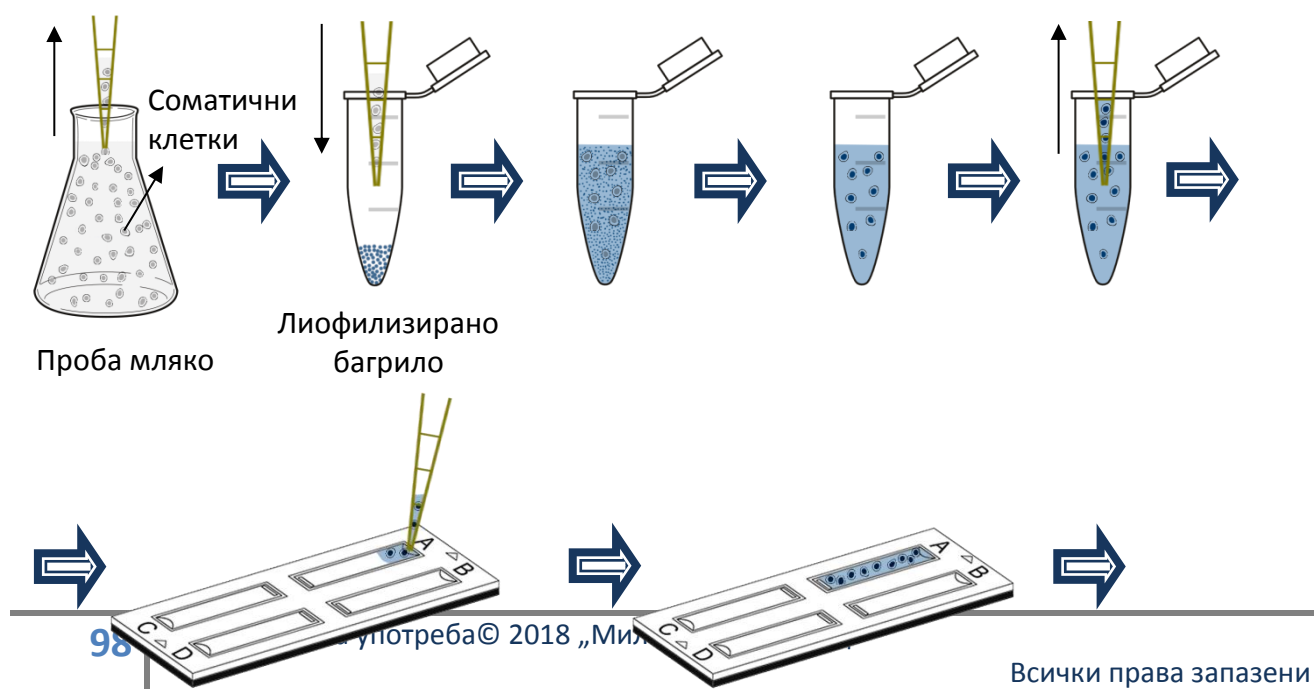
Флуоресцентна проточнацитометрия ISO 13366-2:2006 (IDF 148-2: 2006) Мляко - Преброяване на соматични клетки - Част 2: Ръководство за експлоатация на флуор-оптико-електронни броячи (Somacount 150 на Bentley Instruments; Somascope™ на Delta Instruments) и базирани на дисковацитометрия - флуоро-оптичноелектронен брояч с въртящ диск (FossoMatic 4000™ на Foss Electric). В млекоизпитвателните лаборатории БСК обикновено се определя с помощта на автоматизирани електронни машини, които могат да бъдат точни и надеждни инструменти.

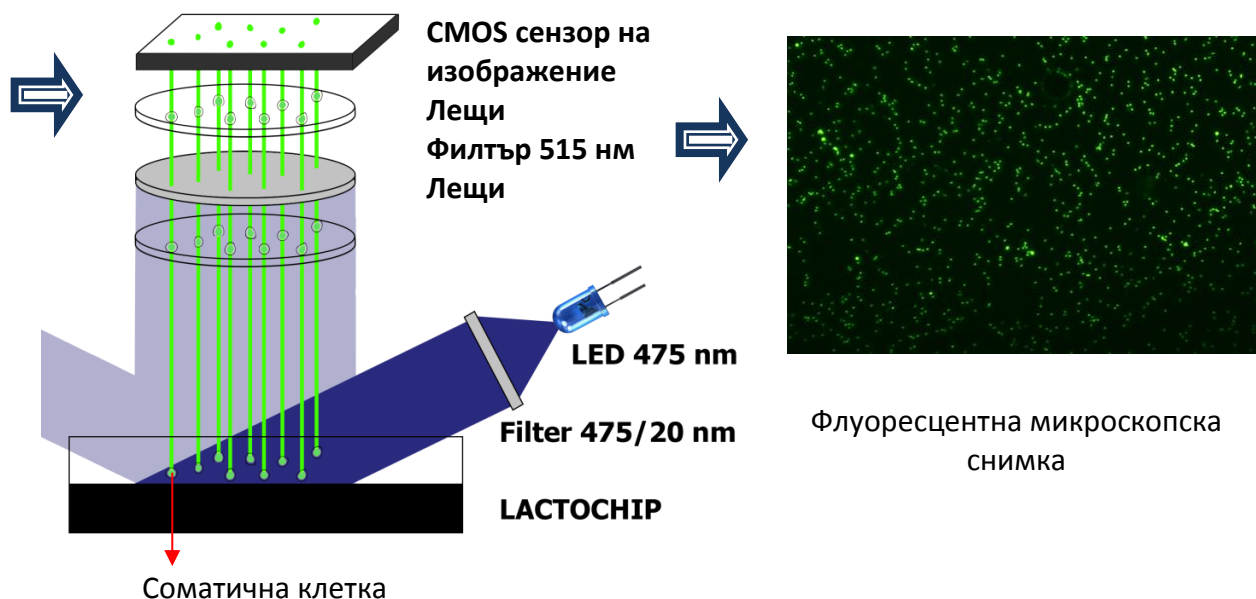
С тях се определя ОБСК в млякото много бързо и на ниска цена.

Съществуват и косвени методи, при които ОБСК се определя след взаимодействието на млякото с определени реактиви. Например, използването на Калифорнийския маститен тест. Те се характеризират с по-ниска точност и повтораемост.

Милкотроник ООД е разработила преносим LACTOSCAN SCC COMPACT, който се основава на **флуоресцентна микроскопска техника с ниско увеличение** за броене на клетки. LACTOSCAN SCC COMPACT използва за оцветяване чувствителното флуоресцентно багрило SofiaGreen, LED оптика и CMOS технологиите на заснемане, за да направи анализа на клетките по-точен, надежден и бърз. Най-вече обективната селективност на LACTOSCAN SCC COMPACT се комбинира с постоянна висока стабилност на различните механични, електронни, оптични и химични компоненти на системата, с което се осигуряват почти идентични показатели през целия срок на експлоатация на апарата. Освен това, производството на апаратите осигурява висока степен на еднаквост между различните апарати. Това е уникална характеристика на LACTOSCAN SCC COMPACT, която предлага на практика идентични резултати, когато се разглежда измерването на една и съща проба, независимо от това кой апарат се използва, какво е местоположението на уреда, кой експлоатира уреда и в кой момент се извършва анализът при условие, че пробата не е променила своите характеристики.

За да се преброят соматичните клетки с LACTOSCAN SCC COMPACT, пробата мляко се смесва с оцветяващ реагент, съдържащ флуоресцентното багрило SofiaGreen. Само 12 μL от оцветената проба се пипетират върху мерителната камера на еднократен LACTOCHIP. Чипът се зарежда в уреда и за период от няколко секунди до 2 минути, в зависимост от режима на измерване, анализът се извършва. Системата на LACTOSCAN SCC COMPACT автоматично се фокусира върху чипа и оцветените клетки се заснемат от чувствителна CMOS камера. Алгоритъмът за анализ на дигиталните изображения определя **броя и размера** на флуоресциращите клетки, и изчислява тяхната концентрация. Резултатите автоматично се представят на дисплея на уреда, както и на принтер, има възможност и за запис на резултатите, и евентуално генериране на отчети от тях.





Сравнение на Директния микроскопски анализ (ДМА) и анализ с използването на LACTOSCAN SCC COMPACT.

В лабораторията Булуритест на Научно-изследователския сектор на Университет „Проф. д-р. Асен Златаров“ гр. Бургас бе проведен сравнителен тест с измерването на 14 еталонни проби сурово краве мляко, третирани с глицерин, тимерозал и диметилсулфоокис. Общият брой соматични клетки във всяка еталонна проба краве мляко бе анализирана чрез Директния микроскопски анализ (ДМА) и чрез LACTOSCAN SCC COMPACT.

Директният микроскопски анализ, в качеството си на контролен метод, бе проведен съгласно ISO 13366-1:2008 «Мляко – Преброяване на соматични клетки - Част 1: Микроскопски метод (Сравнителен метод)»

10 µL от анализиранияте млечни проби бяха нанесени върху маркирана площ от 1 cm² от повърхността на предметно стъкло, като се получаваха натривка, която се изсушава. След изсушаването им, натривките бяха оцветени с разтвор на метилен-синьо и с флуоресцентното багрило пропидиев йодид (PI). След това, оцветените клетки бяха изброявани с използването на микроскоп. Количеството на изброените клетки на точно определена повърхност (1 cm²) бе умножавано по работния коефициент, за да се определи количеството на соматичните клетки в 1 мл.

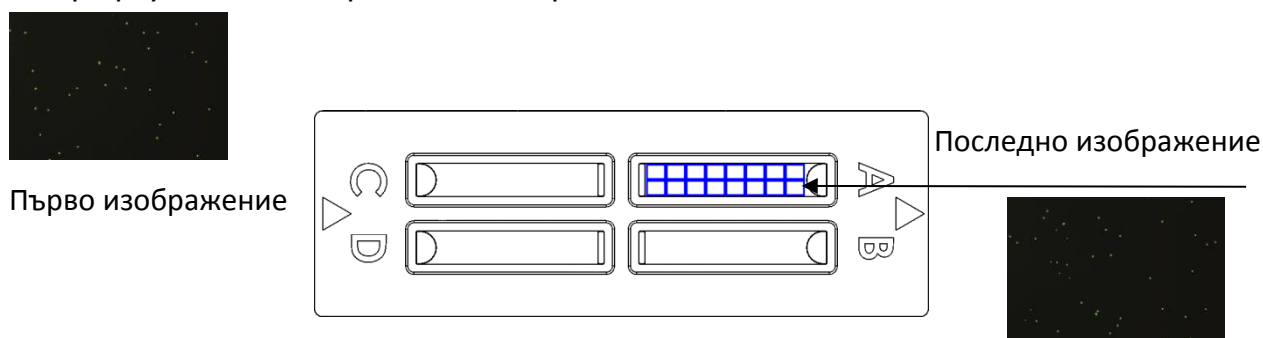
Броенето е извършвано, като в една натривка са преброявани 50 полета, движейки обектива на микроскопа последователно, вертикално и надясно. И така, от всяка млечна тестова проба са анализирани по 10 натривки, като от всяка натривка са преброявани по 50 полета.

Определяне на ОБСК чрез използване на **флуоресцентно-микроскопския брояч LACTOSCAN SCC COMPACT** бе извършено съгласно протокола на фирмата.

Същността на метода се основава на това, че след разрушаване на цитоплазмената мембрана на соматичните клетки в млякото, под действието на използвания изсушен лизогенен буферен реактив, ядрата на клетките стават достъпни за действието на използваното флуоресцентно багрило SOFIA GREEN, което оцветява ядрената ДНК. Светлинните сигнали от оцветените клетки се засичат от детектора на т.нар. CMOS-камера, т.е. на елементите на CMOS-камерата се формират изображения, където излъчваната от всяка клетка енергия се изобразява като светеща точка. Чрез автоматично преместване на механизма по оси X и Y, уредът заснема максимално 70 изображения. Изображенията се анализират с помощта на вградения софтуер и така се определя количеството на соматичните клетки. Целият процес след поставяне на LACTOCHIP с проба в каретката е автоматичен.

Извършване на анализа

Внимателно се разбърква млечната проба без да се допуска разпенване. Температурата на пробата може да бъде в диапазон от 10 до 40 °C. С автоматична микропипета се поставят 100 µL от разбърканото мляко в епендорф с изсушен лизиращо оцветяващ буферен реактив. Следва внимателно разбъркване само за няколко секунди чрез неколkokратно пипетиране с автоматична микропипета или използване на бъркалка Vortex. След престой от около 1 мин, съдържимото в епендорфа се разбърква отново и 12 µL от оцветеното мляко се пипетират в микрофлуидната камера на Lactochip x2.



Изчаква се около 30 секунди, за да се спре движението на оцветеното мляко в микрофлуидната камера, след което се поставя зареденият чип в каретката на LACTOSCAN SCC COMPACT. Следва напълно автоматичен анализ на пробата до визуализиране на резултатите (изразени в хиляди клетки на 1 мл) върху дисплея на апарата. Тези резултати, заедно с всички направени изображения, автоматично се съхраняват в базата данни на уреда.

Анализ на резултатите.

Количеството на соматичните клетки в анализираната млечна проба са отчетени по резултатите, получени на дисплея на апарата и се изразяват в хиляди клетки/мл. Резултатите на повторемост на всяка млечна тестова проба са оценени с Коефициентът на вариация (CV), изчислени за всеки от двата метода SCC. Точността и повторемостта на системата LACTOSCAN SCC COMPACT, средното сравнение, регресионният анализ на данните за ОБСС между LACTOSCAN SCC COMPACT и

Директният микроскопски анализ (ДМА) също са установени на базата на получените резултати.

Резултати.

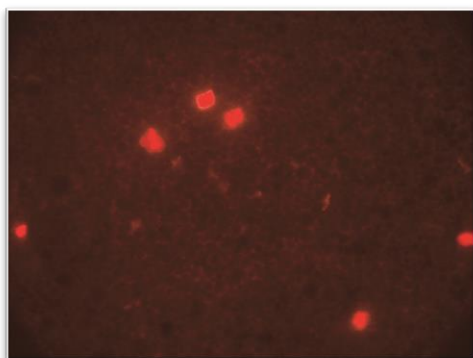
Точност на системата LACTOSCAN SCC COMPACT

Точността на метода за определяне на ОБСК с помощта на LACTOSCAN SCC COMPACT, заложена от техническите възможности на апарата, с вариант и за 4, и 9 μL на измерване е:

брой кл 1 ml	LACTOSCAN SCC COMPACT режим 4 μL		LACTOSCAN SCC COMPACT режим 9 μL		Минимално изискване на стандарта ISO13366-1	
	изброени клетки	CV%	изброени клетки	CV%	изброени клетки	CV%
100000	400	5,0	900	3,3	100	10,0
500000	2000	2,2	4500	1,5	400	5,0
1000000	4000	1,6	9000	1,1	400	5,0
1500000	6000	1,3	13500	0,9	400	5,0

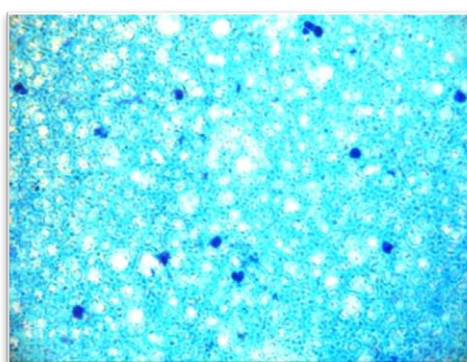
Сравнение на изображения от директно микроскопско изброяване на соматични клетки с Лактоскан SCC

А) Изображение на оцветени с пропидиум йодид соматични клетки (ДМА)



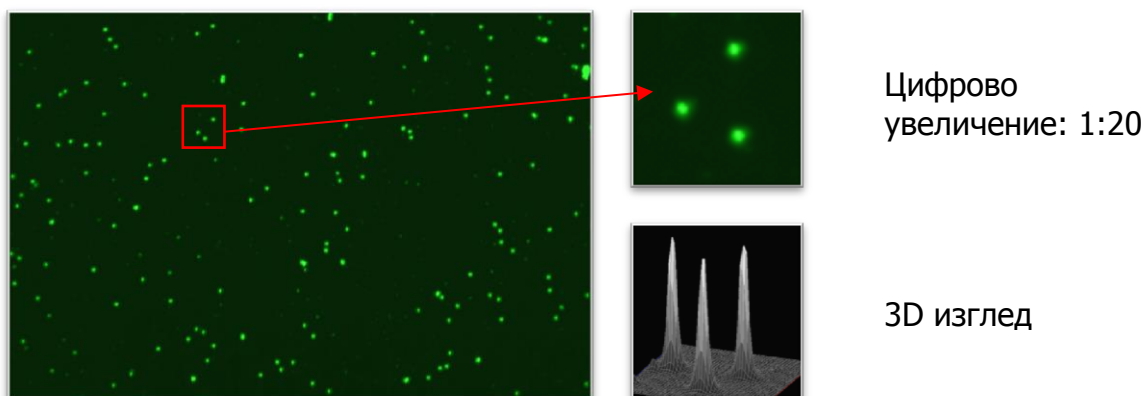
Концентрация на соматични клетки: $700 \times 10^3/\text{ml}$
Увеличение: **1:1000**

В) Изображение на оцветени с метилен - синьо соматични клетки (ДМА)



Концентрация на соматични клетки: $1200 \times 10^3/\text{ml}$
Увеличение: **1:1000**

С) Оцветени със SofiaGreen соматични клетки – изображение от Лактоскан SCC.



Концентрация на соматични клетки: $1200 \times 10^3/\text{ml}$ Увеличение: 1:4

За анализ с вариант от 4 μL , заложената точност е значително по-добра от минималните изисквания на стандарта. За чип с вариант на измерване на 9 μL от изпитваната млечна проба, резултатът е с максималната възможна точност за електронни апарати.

Резултатите от измерванията на 14-те млечни проби са обобщени в следващата таблица.

Тестови млечни проби	Лактоскан SCC				ОБСК				
	средно аритметично cell/ml	стандартно отклонение	коефициент на вариация %	кол-во пребр. клетки в 50 зр. полета	средно аритметично cell/ml	стандартно отклонение	коефициент на вариация %	кол-во пребр. клетки в 50 зр. полета	Необх. зрителни полета
1	48 200	2974	6.17	190	50 315	5701	11.33	7.5	667
2	105 400	5015	4.76	411	108 009	10701	9.91	16.1	311
3	148 000	6815	4.60	569	165 033	12329	7.47	24.6	407
4	244 500	9180	3.75	952	258 954	12728	4.92	38.6	389
5	338 300	12472	3.69	1320	348 178	20846	5.99	51.9	289
6	453 400	15254	3.36	1768	461 554	30135	6.53	68.8	291
7	559 000	18708	3.35	2189	554 805	28646	5.16	82.7	242
8	677 100	20469	3.02	2604	621 891	24301	3.91	92.7	216
9	776 070	22944	2.96	3019	777 531	37612	4.84	115.9	173
10	978 900	26917	2.75	3871	989 524	47568	4.81	147.5	136
11	1 091 000	26541	2.43	4275	1 104 242	43037	3.90	164.6	122
12	1 140 200	19904	1.75	4502	1 179 379	40102	3.40	175.8	114
13	1 485 000	24855	1.67	5844	1 463 154	61846	4.23	218.1	92
14	1 668 900	30700	1.84	6598	1 661 730	53859	3.24	247.7	81

Линейната корелация между стойностите на ОБСК в 14-те млечни тестови проби с прогресивно нарастване на ОБСК от 50 000/мл до 1 650 000/мл (R^2 , 0,995; 95% CI, 0,990 ~ 0,999; $p < 0.01$), измерени чрез ДМА и Лактоскан SCC е представена на фиг. 2.

В сравнение с данните на ОБСК за 14-те млечни тестови проби, измерени чрез ДМА, системата Лактоскан SCC показва приемлива и подобна повторемост и точност на конвенционалното устройство за ОБСК по корелационния анализ на Пирсън.

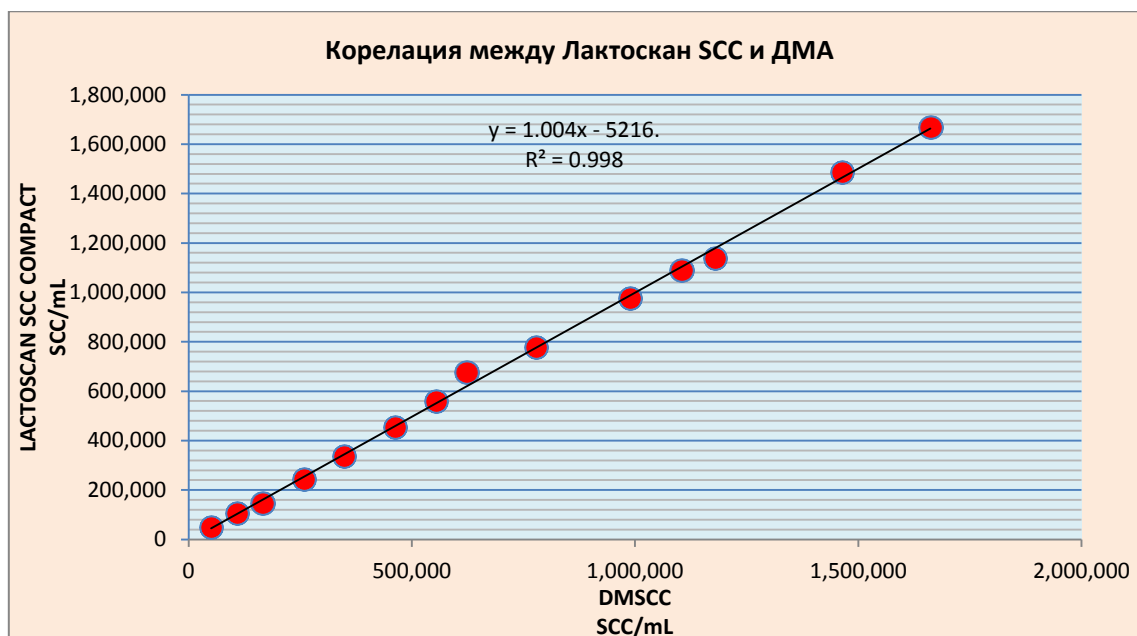
При ниски стойности на ОБСК в млякото се налага, по метода на ДМА, да се гледат много повече от 50 зрителни микроскопски полета, за да се изпълни изискването на стандарта. Така например, за тестовото мляко с ОБСК 50 000/мл, по

метода на DMSCC, са изброени от 6 до 9 клетки в 50 микроскопски полета, а с използването на LACTOSCAN SCC COMPACT - от 171 до 212 клетки от едно единствено измерване.

Сравнения на получените резултати между Лактоскан SCC и ДМА са представени в следните графики:



Фиг. 1



Фиг. 2

Общите данни за повторяемостта на ОБСК във всяка от 14-те млечни тестови проби с използването на ДМА са обобщени в следната таблица:

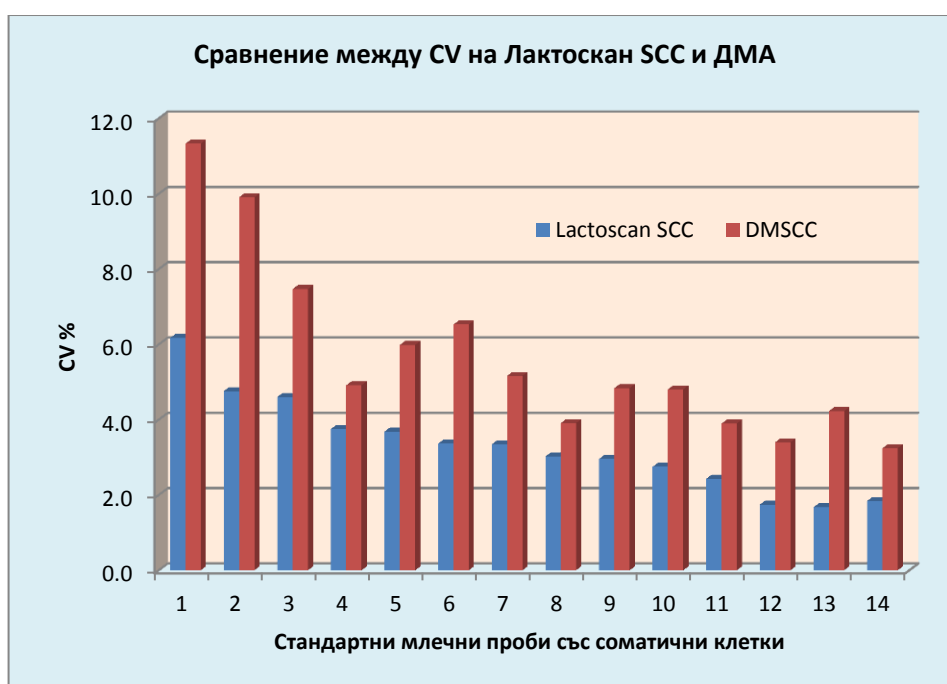
Концен- трация	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	средно аритметично	стандартно отклонение	коэффициент на вариация %
50 000	53 669	53 669	46 960	46 960	60 378	46 960	40 252	46 960	53 669	53 669	50 315	5701	11,33
100 000	107 338	100 630	100 630	120 756	93 921	120 756	114 047	107 338	120 756	93 921	108 009	10701	9,90
150 000	154 299	181 133	181 133	161 007	161 007	167 716	140 881	161 007	167 716	174 425	165 033	12330	7,47
250 000	261 637	268 346	248 220	261 637	254 928	268 346	268 346	261 637	268 346	228 094	258 954	12729	4,92
350 000	348 849	362 267	368 975	301 889	322 015	362 267	348 849	348 849	355 558	362 267	348 178	20846	5,99
450 000	483 022	462 896	509 857	436 062	456 188	409 227	442 770	442 770	489 731	483 022	461 554	30135	6,53
550 000	529 983	570 234	516 565	523 274	576 943	583 652	536 691	583 652	536 691	590 360	554 805	28646	5,16
650 000	603 778	597 069	597 069	630 612	657 447	630 612	623 904	630 612	590 360	657 447	621 891	24302	3,91
750 000	838 580	724 533	711 116	805 037	764 785	791 620	778 202	791 620	771 494	798 328	777 531	37612	4,84
950 000	1 059 965	979 461	925 792	992 879	919 084	999 587	979 461	1 046 548	1 033 131	959 336	989 524	47569	4,81
1 100 000	1 153 886	1 113 634	1 046 548	1 113 634	1 086 800	1 113 634	1 046 548	1 160 595	1 059 965	1 147 177	1 104 242	43038	3,90
1 150 000	1 113 634	1 160 595	1 153 886	1 160 595	1 133 760	1 227 681	1 214 264	1 194 138	1 220 972	1 214 264	1 179 379	40102	3,40
1 450 000	1 549 696	1 442 358	1 408 814	1 435 649	1 395 397	1 589 948	1 428 940	1 469 192	1 475 901	1 435 649	1 463 154	61847	4,23
1 650 000	1 650 325	1 744 246	1 596 656	1 697 286	1 737 538	1 603 365	1 697 286	1 616 782	1 636 908	1 636 908	1 661 730	53860	3,24

Общите данни за повторяемостта на ОБСК във всяка от 14-те млечни тестови проби с използването на Лактоскан SCC при измерване на 4 μL проба са обобщени в следната таблица:

Млечни проби	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	средно аритм.	стандартно отклонение	коэффициент на вариация %
1	43 000	46 000	48 000	46 000	50 000	54 000	50 000	47 000	49 000	49 000	48 100	2974	6,17
2	112 000	101 000	103 000	103 000	112 000	99 000	100 000	111 000	108 000	105 000	105 400	5015	4,75
3	142 000	161 000	147 000	157 000	142 000	145 000	151 000	150 000	140 000	145 000	148 000	6815	4,60
4	251 000	242 000	243 000	230 000	232 000	249 000	242 000	243 000	253 000	260 000	244 500	9180	3,75
5	343 000	335 000	330 000	366 000	322 000	339 000	335 000	328 000	350 000	335 000	338 300	12473	3,69
6	440 000	436 000	474 000	472 000	453 000	446 000	432 000	469 000	450 000	462 000	453 400	15255	3,36
7	571 000	563 000	548 000	530 000	543 000	584 000	558 000	584 000	539 000	570 000	559 000	18709	3,35
8	715 000	675 000	648 000	686 000	682 000	671 000	679 000	683 000	643 000	689 000	677 100	20469	3,02
9	800 700	800 000	802 000	774 000	773 000	763 000	733 000	750 000	789 000	776 000	776 070	22944	2,96
10	940 000	934 000	975 000	1 006 000	987 000	1 007 000	993 000	967 000	970 000	1 010 002	978 900	26918	2,75
11	1 102 000	1 071 000	1 064 000	1 077 000	1 083 000	1 080 000	1 081 000	1 083 000	1 115 000	1 154 000	1 091 000	26541	2,43
12	1 153 000	1 164 000	1 146 000	1 142 000	1 146 000	1 122 000	1 100 000	1 154 000	1 120 000	1 155 000	1 140 200	19904	1,75
13	1 517 000	1 494 000	1 466 000	1 505 000	1 497 000	1 501 000	1 466 000	1 484 000	1 489 000	1 431 000	1 485 000	24855	1,67
14	1 694 000	1 677 000	1 647 000	1 663 000	1 702 000	1 705 000	1 677 000	1 639 000	1 607 000	1 678 000	1 668 900	30701	1,84

Както се вижда, интервалите са в рамките на препоръчаните от Международната млечна асоциация за соматични броячи (до 150 000 CV%< 10: от 150 000 до 250 000 CV%<7: от 250 000 до 400 000 CV%<6 и над 400 000 CV%<5). С използването на Лактоскан SCC, базиран на микроскопското броене на соматични клетки с пластмасов чип за анализ на мляко, стойностите на ОБСК са по-малко променливи, отколкото при ДМА. Въпреки това, получените съотношения на ОБСК, измерени от системата Лактоскан SCC в млечните тестови проби към измерените чрез ДМА, варират от 0,897 ~ 1,089. Поради това, стойностите на ОБСК на млечните тестови проби, определени с Лактоскан SCC, са приемливо повторяеми.

Сравнение на CV% за 14-те млечни проби за резултатите, получени от двата метода на анализ – чрез използването на Лактоскан SCC и Директния микроскопски анализ (ДМА), е представено в следната графика:



Фиг. 3

Сравнение на потенциалната точност на апаратите, базиращи се на пряко разпознаване на флуоресцентно изображение с микроскоп с ниско увеличение, изхождайки от декларираните данни от производителите за ефективния обем измервано мляко и резултатите от Нормалното разпределение на Поасон.

брой кл 1 ml	LACTOSCAN SCC COMPACT режим 4 µL		LACTOSCAN SCC COMPACT режим 9 µL		C-Reader "ADAM" макс 9 µL		NucleoCounter SCC 100 1 µL		DELAVAL DCC 0.1 µL	
										
	общо клетки	CV%	общо клетки	CV%	общо клетки	CV%	общо клетки	CV%	общо клетки	CV%
50 000	200	7,07	450	4,71	450	4,71	50	14,14	5	44,72
100 000	400	5,00	900	3,33	900	3,33	100	10,00	10	31,62
300 000	1200	2,89	2700	1,92	2700	1,92	300	5,77	30	18,26
600 000	2400	2,04	5400	1,36	5400	1,36	600	4,08	60	12,91
1 000 000	4000	1,58	9000	1,05	9000	1,05	1000	3,16	100	10,00
1 500 000	6000	1,29	13500	0,86	13500	0,86	1500	2,58	150	8,16

Сравнение по някои основни характеристики за апаратите, базиращи се на пряко разпознаване на флуоресцентно изображение с микроскоп с ниско увеличение, изхождайки от декларираните данни на производителите, е направено в следната таблица.

					
	LACTOSCAN SCC COMPACT	DMSCC	C-Reader "ADAM"	NucleoCounter SCC 100	DCC
Производител	Milkotronic		DigitalBio Technology	Chemometec	DeLaval
Метод на оцветяване	Флуоресцентно багрило	Флуоресцентен/без оцветител	Флуоресцентно багрило	Флуоресцентно багрило	Флуоресцентно багрило
Реагент	SofiaGreen	EtBr/MB	PI	PI	PI
Микроскоп	Fluorescent (4 x)	Light (1000 x)	Fluorescent (4 x)	Fluorescent (0,7x)	Fluorescent (4 x)
Необходим обем проба	100uL	1 mL	100uL	100uL	60 uL
разреждане	no	no	1:2	1:2	no
Измерван обем	9 uL	0,149 uL	9 uL	1 uL	0,1 uL
Бр. изображения	max 70	~ 50	90	1	1
Време на машинен анализ	макс 120 проби/час	-	Макс 60 проби/час	до 100 проб/час	макс 60 проби/час
Диапазон на плътността на клетките	1 x 10E4 ~ 20 x 10E6	1 x 10E4 ~ 10 x 10E6	0 ~ 10x10E6	1 x 10E4 ~ 2 x 10E6	1 x 10E4 ~ 2x 10E6
Обработка на изображение	Разпознаване на флуоресцентно изображение	човек	Разпознаване на флуоресцентно изображение	Разпознаване на флуоресцентно изображение	Разпознаване на флуоресцентно изображение
Калибровка	не	не	не	не	не
Приложения	брой, размер на клетката	брой, размер на клетката, морфология	брой, размер на клетката	Само брой	Само брой

Време на обработка	бърз	Много бавен	бърз	бърз	бърз
--------------------	------	-------------	------	------	------

Човешка грешка	N			Y	N	N	N
Метод	Сходен стандартен метод			Стандартен метод	Сходен стандартен метод	Сходен стандартен метод	Сходен стандартен метод
Повторяемост	100 000 cell/ml 400 000 cell/ml 1 000 000 cell/ml	4 µl CV(%) - 5% CV(%) - 3% CV(%) - 2%	9 µl CV(%) - 3% CV(%) - 2% CV(%) - 1%	<150 000 cell/ml CV(%) - 10% 150 000-250 000 cell/ml CV(%) - 7% 250 000-400 000 cell/ml CV(%) - 6% > 400 000 cell/ml CV(%) - 5%	100 000 cell/ml CV(%) - 3% 400 000 cell/ml CV(%) - 2% 600 000 cell/ml CV(%) - 1%	100 000 cell/ml CV(%) - 10% 400 000 cell/ml CV(%) - 5% 1 000 000 cell/ml CV(%) - 3%	100 000 cell/ml CV(%) - 12% 400 000 cell/ml CV(%) - 8% 1 000 000 cell/ml CV(%) - 7%
Подготовка на пробата	проста			сложна	проста	проста	проста
Калибровка	N			-	N	N	N
Типове клетки	Соматични кетки			Повечето клетки	Соматични клетки	Соматични клетки	Соматични клетки
Пропускателна способност	висока			Ниска	Висока	Висока	Висока
периферия	Чип, изсушено багрило/ лизисен реагент			Микроскоп, реагент	Чип, оцветяващ разтвор	Касета, лизисен буфер	Касета, сух оцветител лизисен реагент
Размер на устройството	малък			-	малък	малък	малък
тегло	5 kg			-	10 kg	3 kg	4 kg
реагент				Ръчна подготовка	Оцветяващ разтвор	Нанесен в касетата лизисен буфер	Нанесен в касетата лизисен буфер

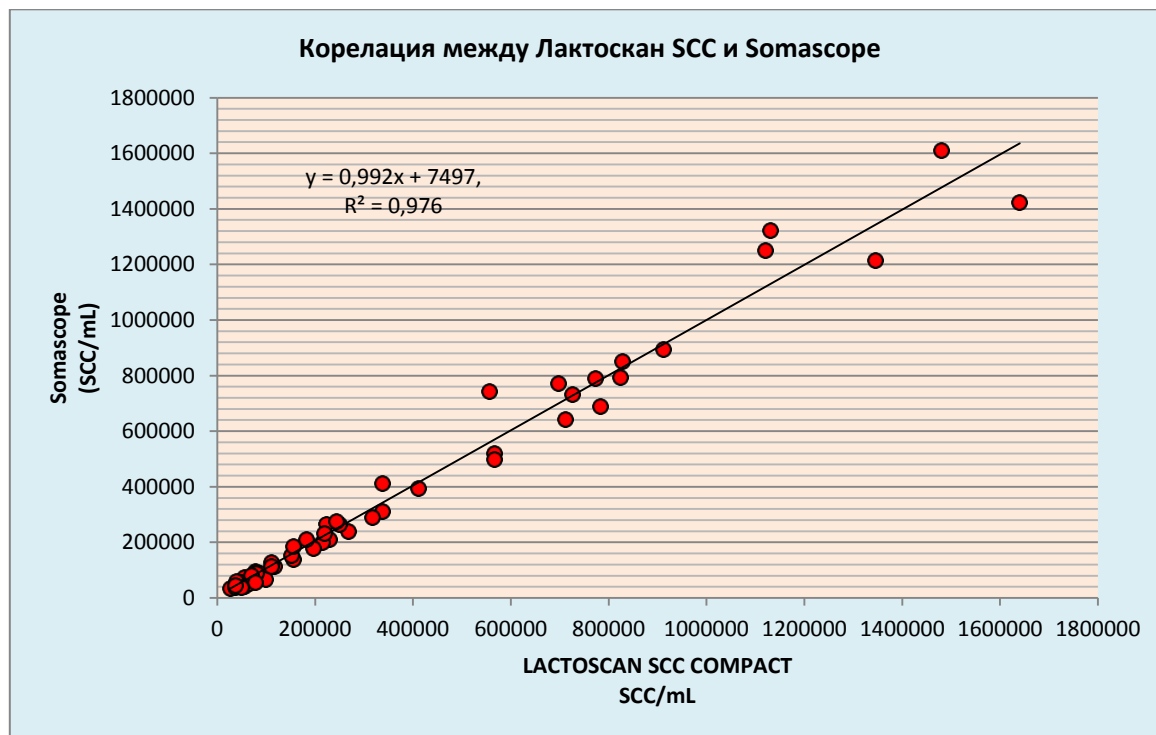
Бихме искали да отбележим, че Лактоскан SCC увеличава изображенията 4 пъти, такова увеличение е най-подходящо и това дава възможност за измерване размера на частиците и съответно за по-правилна диференциация, което има определящо влияние за точността на измерването. За сравнение, NucleoCounter SCC 100 има само 0.7 увеличение на микроскопа, което не позволява визуална диференциация на клетките.

Необходимо е към това да добавим и големия обем на измерване – до 9 μ L, което дава възможност за измервания със стойности на CV, значително по-добри от стандартните изисквания. Гарантираната висока точност на измерване на LACTOSCAN SCC COMPACT в комбинация с конкурентната цена на апарата и най-ниската на пазара цена на консуматива (цената на консуматива досега ограничаваше използването на апарати от този тип) го прави изключително атрактивен към настоящия момент.

Сравнение по някои основни характеристики на LACTOSCAN SCC COMPACT с апаратите, базирани се на флуоресцентна проточна цитометрия, изхождайки от декларираните данни на производителите, е направено в следната таблица:

	LACTOSCAN SCC COMPACT			Somacount 150	SomascopeTM
					
Характеристика	Milkotronic			Bentley Instruments	Delta Instruments
Метод на оцветяване	Флуоресцентно багрило			Флуоресцентно багрило	Флуоресцентно багрило
Реагент	SofiaGreen			EtBr/0,083 mg	DAPI
Микроскоп	Флуоресцентен (4 x)				
Необходим обем на пробата	100uL			3,5 ml	2 ml
	no			1:2	
Измерван обем	max9 uL			max10	max10
Направени снимки	max 70			-	
Машинно време за анализ	макс 120 проби/час			макс 150 проби/час	макс 400 проби/час
Диапазон на плътността на клетките	1 x 10E4 ~ 20 x 10E6			0 ~ 10x10E6	0 ~ 10x10E6
Обработка на изображението	Разпознаване на флуоресцентни изображения			Флуоресцентна проточнацитометрия	Флуоресцентна проточнацитометрия
Калибровка	не			да	да
Приложение	броене, размер на клетка			броене	броене
Време на обработка	бърз			бърз	бърз
Човешка грешка	не			не	
Метод	Сходен стандартен метод			-	-
Повторяемост	100 000 cell/ml 400 000 cell/ml 1 000 000cell/ml	4 μl CV(%) - 5% CV(%) - 3% CV(%) - 2%	9 μl CV(%) - 3% CV(%) - 2% CV(%) - 1%	100 000 cell/ml CV(%) - 5% 300 000 cell/ml CV(%) - 3% 500 000 cell/ml CV(%) - 2%	100 000 cell/ml CV(%) - 6% 300 000 cell/ml CV(%) - 4% 400 000-1 000 000cell/ml CV(%) - 3%
Подготовка на пробата	проста				
Типове клетки	Соматични клетки			Соматични клетки	Соматични клетки
Пропускателна способност	висока			висока	висока
Периферия	Чип, сух оцветител/лизисен реагент				

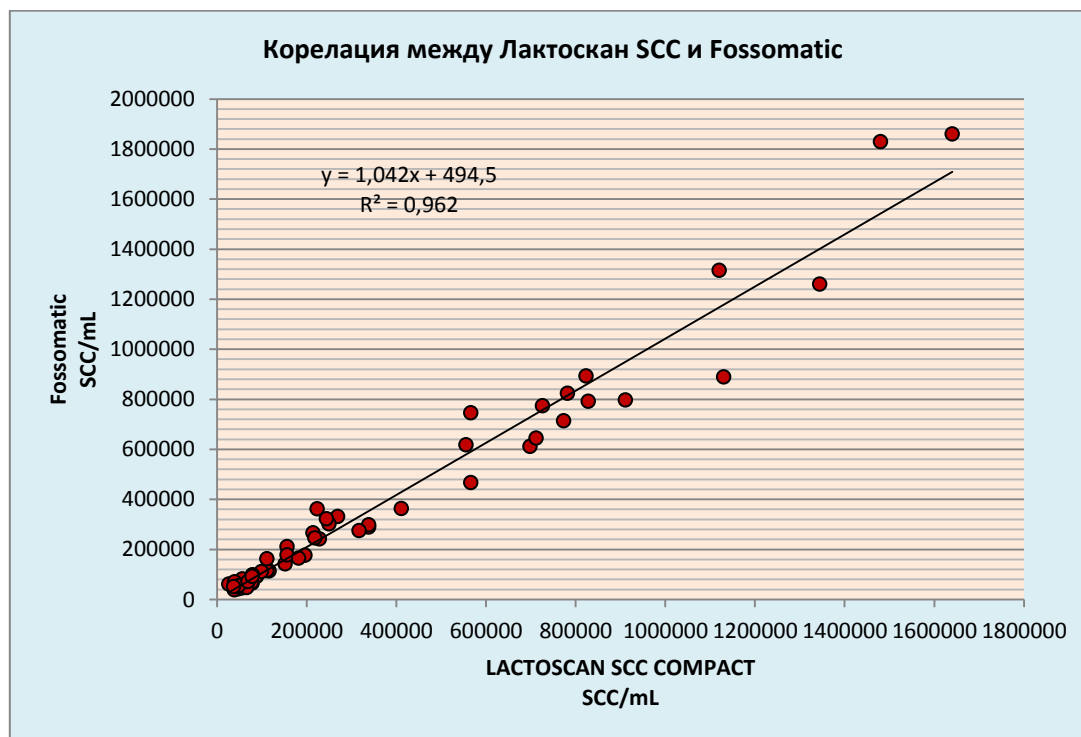
Размер на устройството	малък		
Тегло	5 kg	33 kg	10 kg



Фиг. 4

Сравнение на LACTOSCAN SCC COMPACT с апарат на FOSS, базиращ се на дискова цитометрия - флуоро-оптично-електронен брояч с въртящ диск, изхождайки от декларираните данни на производителя.

	LACTOSCAN SCC COMPACT				Fossomatic 5000TM
характеристика					
	Milkotronic				FOSS
Повторяемост	100 000 cell/ml 400 000 cell/ml 1 000 000 cell/ml	4 µl CV(%) - 5% CV(%) - 3% CV(%) - 2%	9 µl CV(%) - 3% CV(%) - 2% CV(%) - 1%		100 000 cell/ml CV(%) - 7% 300 000 cell/ml CV(%) - 5% 500 000 cell/ml CV(%) - 4%



Фиг. 5

Заклучение

Разработен е метод за определяне броя на соматичните клетки в образци от краве мляко с помощта на Лактоскан SCC.

С помощта на Лактоскан SCC може ДОСТОВЕРНО да се определи ОБСК в сурово или консервирано с бронопол, борна киселина, натриев азид, калиев бихромат и др. консерванти мляко.

Апаратът може ВЪЗПРОИЗВОДИМО да се използва за определяне броя на соматичните клетки, както в изпитателни млечни лаборатории, така и във ферми за производство на мляко и предприятия за преработка на мляко.

С Лактоскан SCC се работи с много ГОЛЯМА РЕПРЕЗЕНТАТИВНОСТ (с едно измерване се определя ОБСК в 4 или 9 μL мляко, докато за ДМА това количество бе 0,149 μL).

Индексите за повторяемост на Лактоскан SCC не отстъпват на останалите апарати с флуоресцентна микроскопия на другите световно представени фирми (Foss Electric, Bentley Instruments, Delta Instruments и др.)

С Лактоскан SCC се работи лесно, просто, бързо, точно и достоверно, а неговата преносимост го прави изключително удобен за ползване не само в

лаборатории, но и в самите ферми, с цел подобряване качеството на суровите млека.

Откриване на дрождеви мастит в проби мляко с LACTOSCAN SCC COMPACT

Така нареченият Дрождеви мастит и по-общо наличието на дрождеви клетки в прясното мляко, е много важен въпрос за всички, които работят в сферата на млекопроизводството: фермери, ветеринари, аналитични лаборатории, научни сътрудници, производители на оборудване за броене на соматични клетки и пр., който въпрос почти не е засегнат в изследванията и практиката.

Важността на този въпрос се определя от няколко основни причини:

- **Увеличеното и неконтролируемо използване на антибиотици, стимулиращи развитието на дрождите във вимето;**
- **Наличието на дрождеви мастит се увеличава през последното десетилетие;**
- **В някои страни до над 10% от животните страдат от такъв мастит.**

Основните причинители на дрождеви мастит са: *Candidaalbicans*, *Candidacatenulata*, *Candidaglabrata*. Обикновено тези дрожди се откриват и в мляко на животни, които не са развили симптоми на дрождеви мастит и би трябвало поне в стандарта за микроскопско броене ISO 13366-1 IDF 148-1 Мляко — Преброяване на соматични клетки — Част 1: Микроскопски метод (Референтен метод), да се посочи какво да се прави, ако такива клетки попаднат в полезрението на микроскопа, защото те по размер са 5-6 μm и би трябвало да се изброят по критерия за размер, който казва, че всички левкоцити, епителни клетки и фрагменти от клетки, с размер по-голям от 4 μm , се броят.

„МЕЖДУНАРОДЕН СТАНДАРТ ISO 13366-1 IDF 148-1

Мляко — Преброяване на соматични клетки — Част 1: Микроскопски метод (Референтен метод)

8.2 Определяне

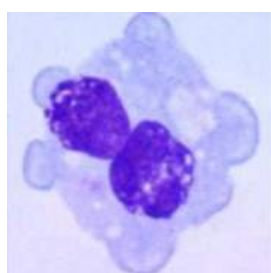
8.2.1 Оптимизиране на разчитането

С помощта на микроскоп (5.3), се преброяват клетъчните ядра в получената намазка (8.1.1 или 8.1.2) на полета, изцяло запълнени само с мляко. Изберете най-доброто увеличение (от 500× до 1 000×), за да имате среден максимален брой от 20 клетки във всяка област.

Клетките притежават оцветени ядра. Клетките обикновено са 8 µm или по-големи. Не преброявайте клетки, по-малки от 4 микрона (виж фигура 1). Пребройте фрагменти само ако се вижда повече от 50% от ядрения материал. Бройте клетъчните клъстери като един, освен ако ядрената единица(и) е(са) ясно отделена(и).

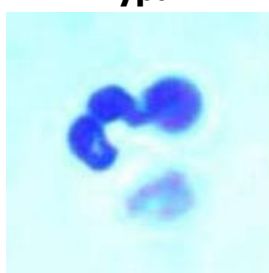
Вижте също Фигури 2 и 3

Фигура 1 – Примери за клетки



Макрофаги
8-30 µm

Връзката между
цитоплазмата /
ядрото е голяма.
Фагоцитоза,
антигенно
представяне,
секреция
хемоаттрактанти



**Полиморфнуклеарни
левкоцити**
10-14 µm

90% остър мастит
60% хронична.
Връзката между
цитоплазмата /
ядрото е малка.
Фагоцитоза. Първа
линия на защита
срещу мастит



Лимфоцити
5-10 µm

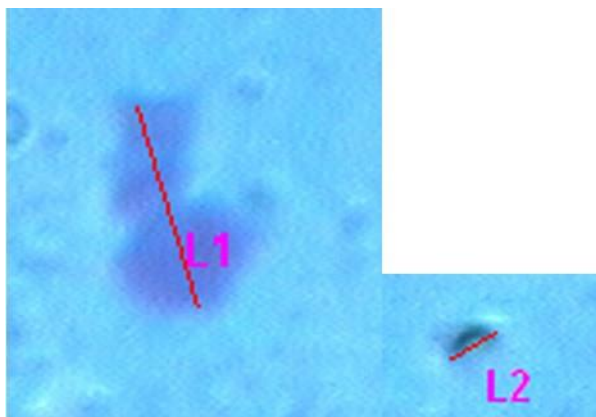
Връзката между
цитоплазмата /
ядрото е малка.
Ядра оцветени
интензивно Т
помощник
Т супресор В
клетъчна



Епителна клетка
10-14 µm

Ядра кръгли.
Цитоплазмата
слабо оцветена

Фигура 2 - Примери за клетки от сборно краве мляко (1 000 х увеличение)

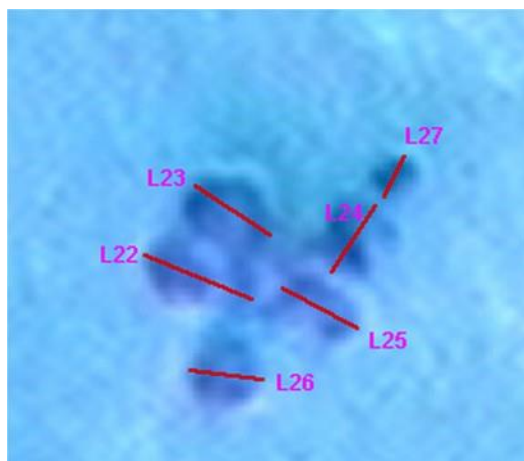


Клетъчна дължина: L1=9,79µm и L2 = 2,77µm

Фигура 3 - Примери за клетки от сборно краве мляко



(500х увеличение)



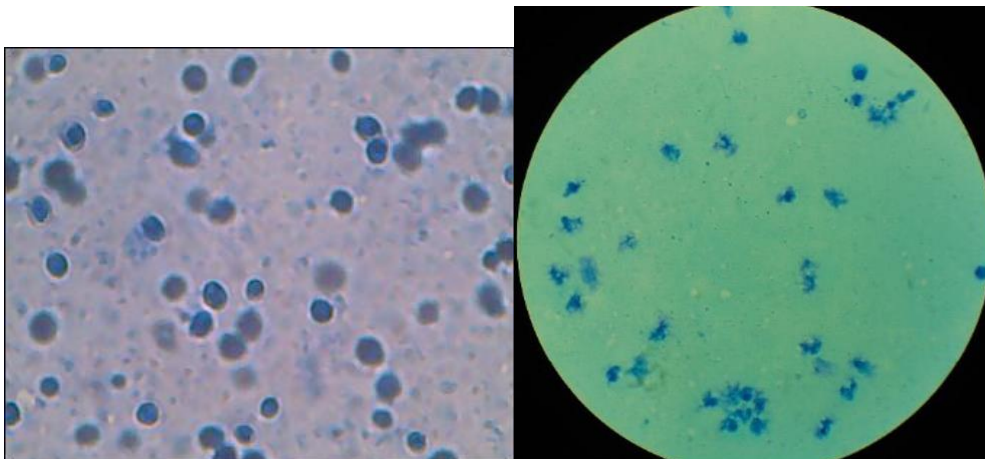
(1 000х увеличение)

Клетъчна дължина : L22=9,08µm; L23=8,27µm; L24=4,95µm; L25=7,39µm; L26=6,37µm и L27=3,58µm.

В примера на клъстер, както е показано на фиг. 3, трябва да бъдат преброени пет клетки. L27 е пропусната, защото нейният диаметър е по-малък от 4 µm.

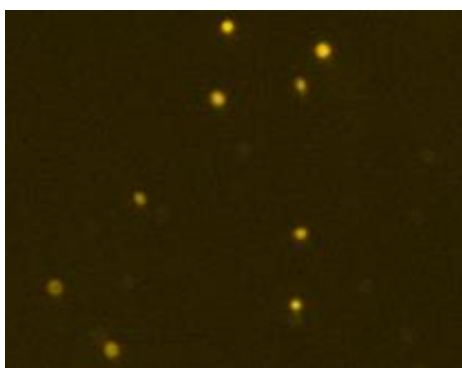
Никъде не е споменато, че в млякото може да има и дрожди, които приличат по вид на левкоцитите и трябва да се внимава да не се добавят към общия брой соматични клетки, и има вероятност лаборантът в референтна лаборатория, който никога не е бил обучаван да различава дрождевите клетки от левкоцитните, да ги добави към общото число на референтната проби и да ги използва за калибриране с електронни броячи.

Снимките по-долу показват как изглеждат дрождите, оцветявани със същите реактиви, използвани в стандарта ISO 13366-1 IDF 148-1:



Оцветени с метилен синьо дрожди в проба мляко

и



Оцветени с пропидиум йодид дрожди в проба мляко

Те могат да се преброят като соматични клетки и да повлияят на коректността при определяне броя на соматичните клетки в млякото, оттам и на определянето на вида мастит: здраво животно, доклиничен бактериален мастит и клиничен бактериален мастит, оттам на начина и вида лечение /лечението с антибиотици подпомага размножаването на дрождите/, на цената на млякото и др.

Досега никой не посочва броя на дрождите в мл мляко, които не водят до дрождеви мастит и броя им, индикиращ такъв, защото досега от IDF не са препоръчвали методи /референтни и апаратни/ за диференциално броене на клетките в млякото, чрез които може да се определи кои клетки са от левкоцитен произход, кои са епителни и кои дрождеви и диференциалното броене на левкоци /определяне на неутрофилите и макрофагите поотделно, като критерии за развитието на мастит/.

Едва през 2016 се заговори за такива изисквания към референтния метод и за нови референтни методи, имащи такива възможности.

В документи на IDF:

1. SCSA S15 Подобряване на референтния метод за броене на соматични клетки:

"Мнения за нов метод

Характеристики

- **Ясна идентификация на клетки**

- Измерване на същите клетки като днешния референтен метод (без промяна в определението или в нивото на измерване)
- Добра повторяемост
- Подобрена ефективност
- Лесен за използване за характеризиране на референтни материали
- Идеална приложимост за диференциално броене на соматични клетки "

От друга страна, електронните методи са монополизирани от 2-3 фирми, които използват проточна цитометрия в най-стария ѝ вариант, в сравнение с медицинските проточни цитометри без определяне размера на клетките и тяхната диференциация, както е при медицинските проточни флуоресцентни цитометри. На практика, те могат да мерят дрождите, но производителите не се задълбочават в проблема. Те настройват апаратите да не „виждат“ по-голямата част от дрождите, като настройват граничната стойност /нивото на отделяне на сигналите от флуоресциращите клетки/ да е по-висока от нивото, което излъчват дрождевите клетки, тъй като те са по-дребни 4-6 μm и имат по-малко ДНК. Понеже тези апарати са нещо като големи черни кутии, операторите нямат визуален контрол, както при наблюдението под микроскоп и наличието на дрожди остава незабелязано.

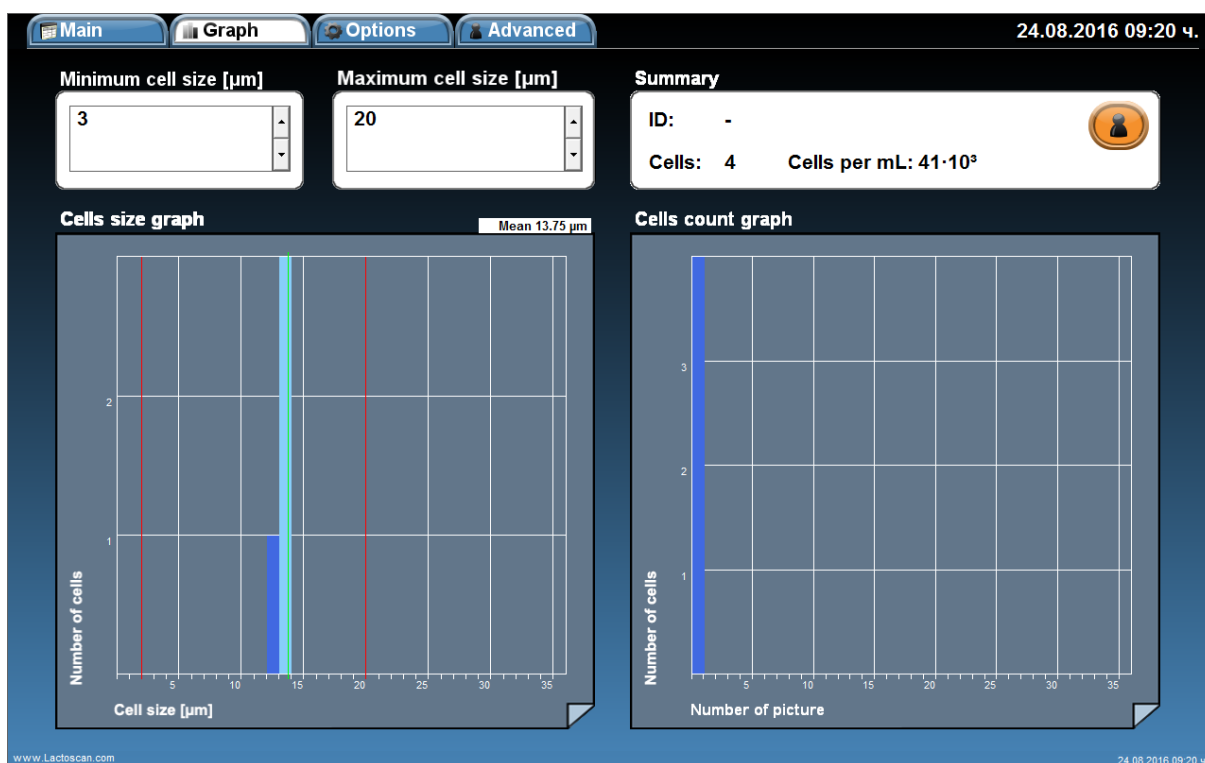
С LACTOSCAN SCC COMPACT за първи път има възможност оперативно да се изброяват и дрождите в пробите мляко при определяне броя на соматичните клетки с референтна точност.

Показани са снимки, свалени от LACTOSCAN SCC COMPACT, от проби мляко от животни, намиращи се в различни части на света. Когато в млякото има само левкоцити, предизвикани от бактериален мастит или само нормално ниво на левкоцити /макрофаги, неутрофили и лимфоцити/, средния размер клетка е в диапазона 9-14 μm .

Изображение 1. Проба мляко от здрави животни

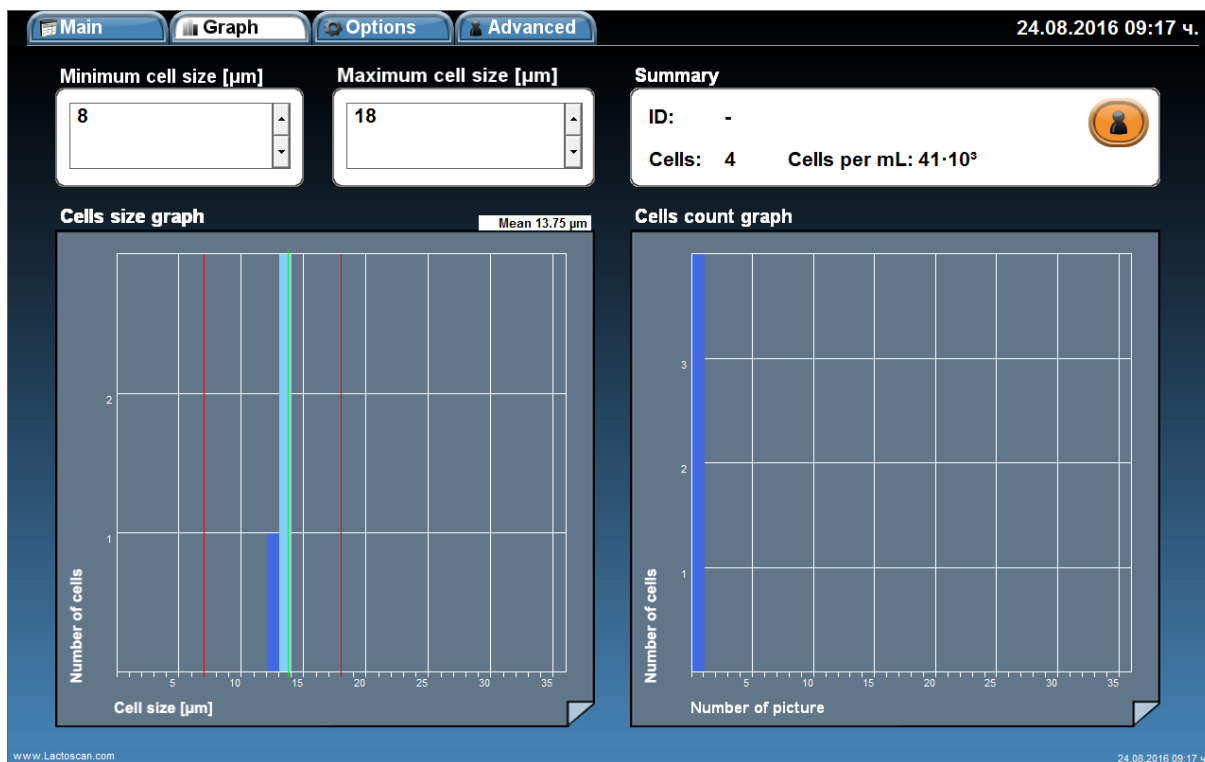


Графика от Изображение 1. Минималният размер на клетката е зададен на 3 μm



Когато диапазонът на размера на клетките е зададен от 3 до 20 μm , преброените клетки са 4, еквивалентно на 41×10^3 cell/mL. Размерът на клетките е между 13 и 14 μm . Средният размер на клетката е 13.75 μm и няма малки клетки с размер под 9 μm . Пикът на размера на клетката се достига при 14 μm .

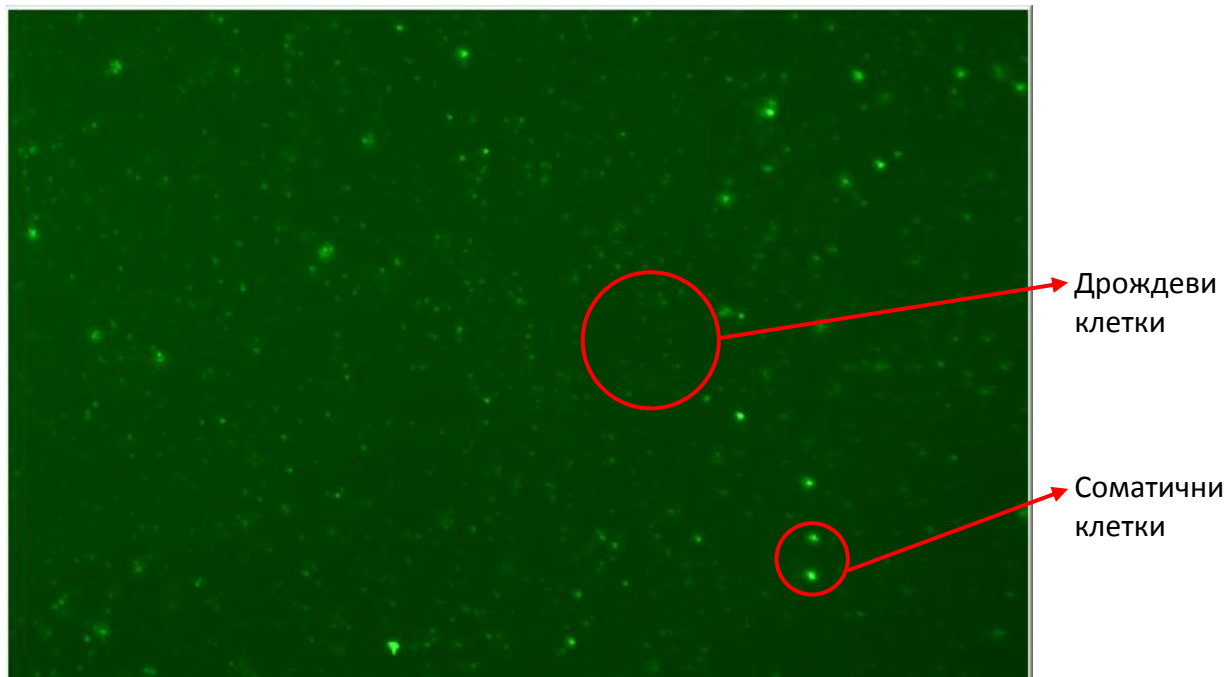
Графика от Изображение 1. Минималният размер на клетката е зададен на 8 μm



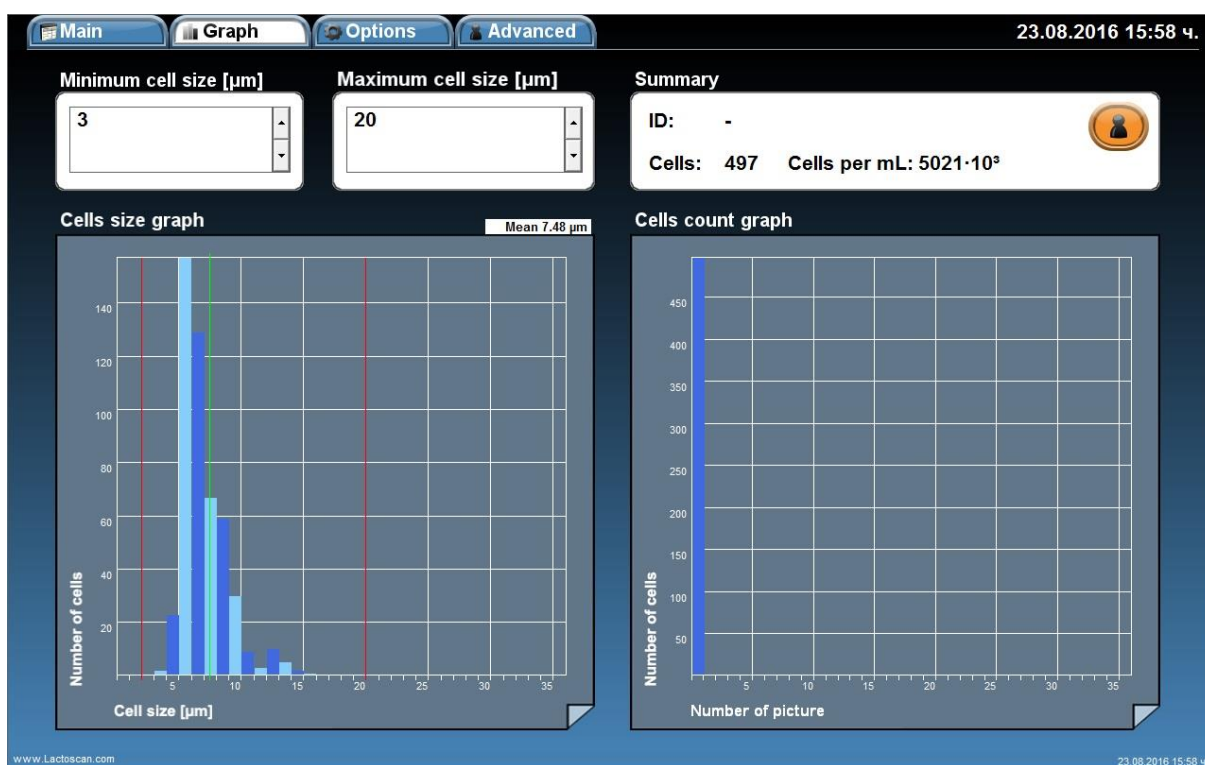
Когато диапазонът на размера на клетките е зададен от 8 до 20 μm , преброените клетки са 4, еквивалентно на $41 \times 10^3 \text{ cell/mL}$. Размерът на клетките е между 13 и 14 μm . Средният размер на клетка е 13.75 μm и няма малки клетки с размер под 9 μm . Пикът на размера на клетката се достига при 14 μm .

Според графиките може да се заключи, че има само соматични клетки в млякото. Няма промяна в крайния резултат, когато диапазонът на размера на преброените клетки е зададен от 3 до 20 μm и когато е зададен от 8 до 20 μm .

Изображение 2. Проба мляко от животно с дрождеви мастит



Графика от Изображение 2. Минималният размер на клетката е зададен на 3 μm



Когато диапазонът на размера на клетките е зададен от 3 до 20 μm , преброените клетки са 497, еквивалентно на $5021 \times 10^3 \text{ cell/mL}$. Размерът на клетките е между 4 и 15 μm . Средният размер на клетката е 7.48 μm . Повечето клетки са с размер под 9 μm . Размерът на клетката достига максимум при 7 μm .

Графика от Изображение 2. Минималният размер на клетката е зададен на 8 μm



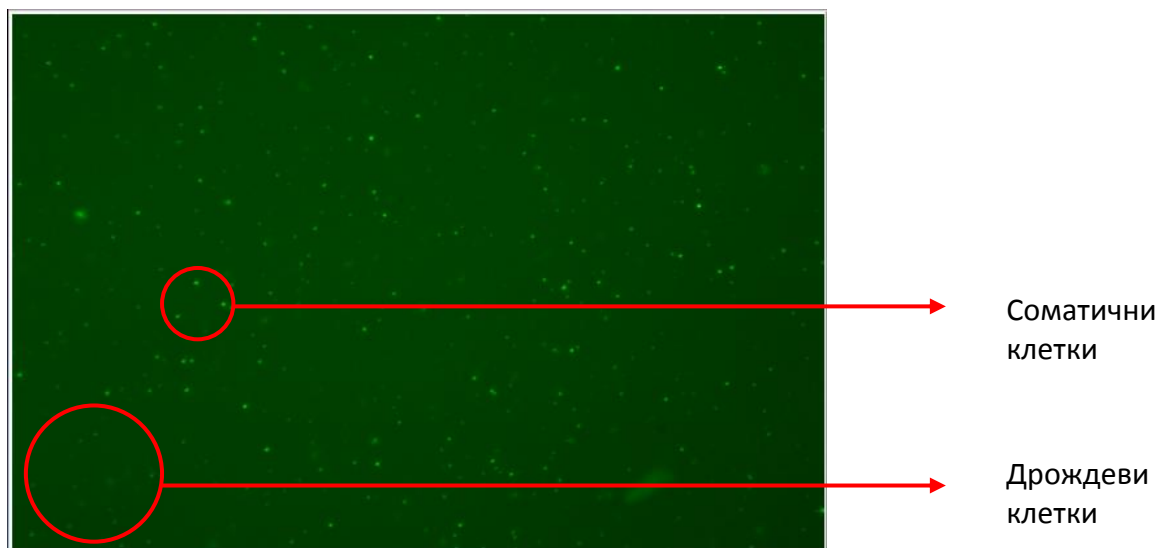
Когато диапазонът на размера на клетките е зададен от 8 до 20 μm , преброените клетки са 186, еквивалентно на $1879 \times 10^3 \text{ cell/mL}$. Размерът на клетките, включени в крайния резултат, е между 8 и 15 μm . Средният размер на клетката е 9.40 μm . Размерът на клетката достига максимум при 8 μm .

Ако сравним резултатите от двете графики, можем да заключим, че на снимката има 67% дрождени клетки с размер между 4 – 8 μm и 37% соматични клетки. Големият брой дрождени клетки, 311 преброени клетки = $3142 \times 10^3 \text{ cell/mL}$, е потвърждение за наличието на дрождени мастит.

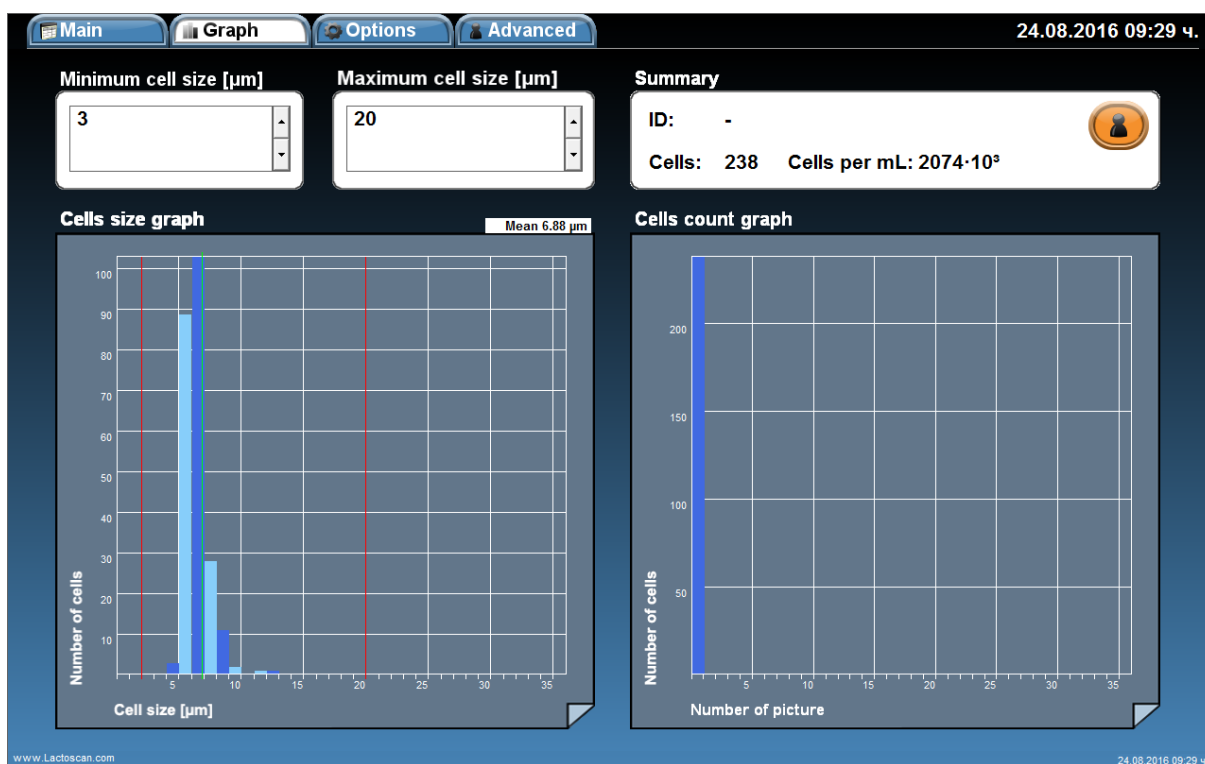
Броят на соматичните клетки, 186 преброени клетки = $1879 \times 10^3 \text{ cell/mL}$, е потвърждение за наличието на клиничен мастит.

Според резултатите можем да заключим, че анализираното мляко е от животно с дрождени и клиничен мастит едновременно.

Изображение 3. Проба от животно с дрождеви мастит

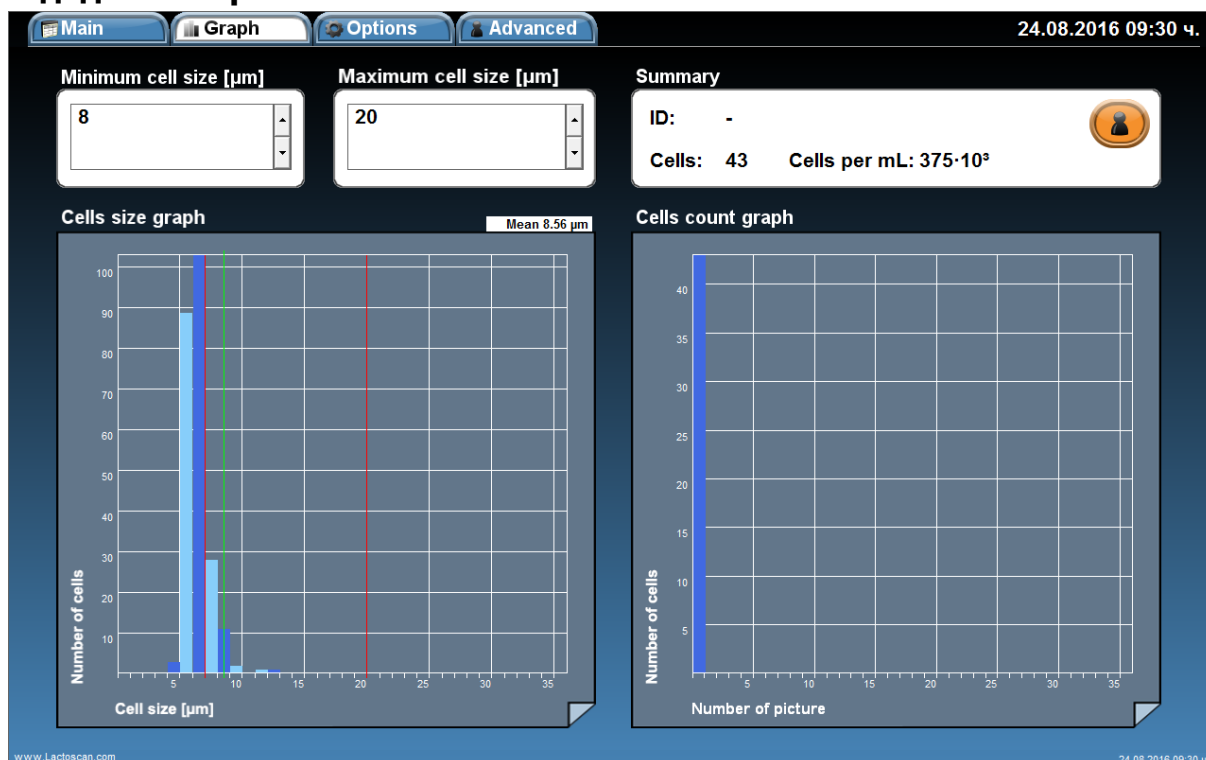


Графика от Изображение 3. Минималният размер на клетката е зададен на 3 μm



Когато диапазонът на размера на клетките е зададен от 3 до 20 μm , преброените клетки са 238, еквивалентно на $2074 \times 10^3 \text{ cell/mL}$. Размерът на клетките е между 5 и 13 μm . Средният размер на клетката е 6.88 μm . Повечето клетки са с размер под 9 μm . Размерът на клетката достига максимум при 7 μm .

Графика от Изображение 3. Минималният размер на клетката е зададен на 8 μm



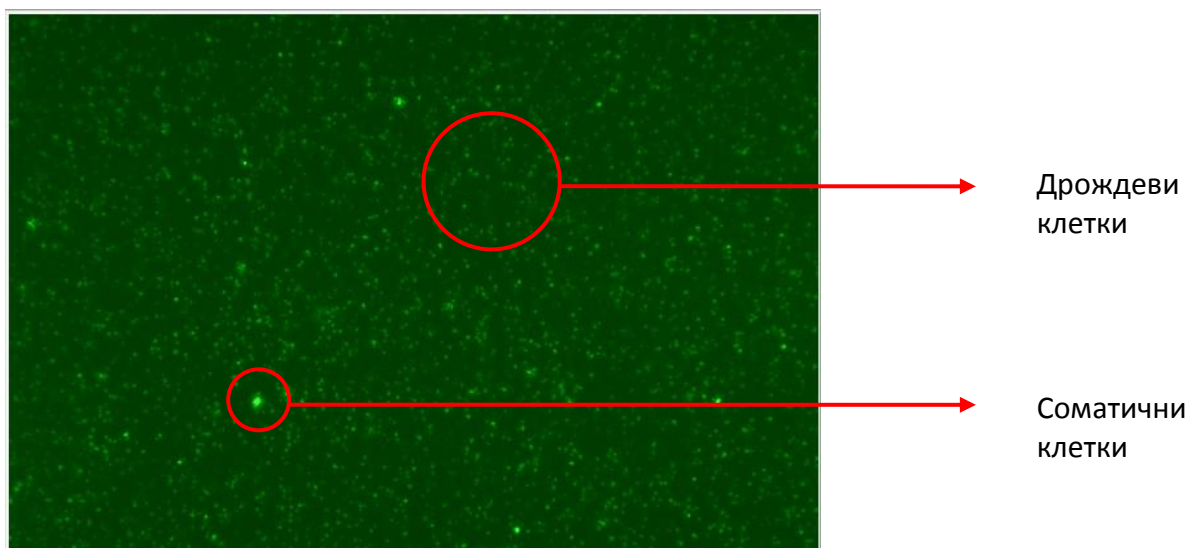
Когато диапазонът на размера на клетките е зададен от 8 до 20 μm , преброените клетки са 43, еквивалентно на 375×10^3 cell/mL. Размерът на клетките, включени в крайния резултат, е между 8 и 15 μm . Средният размер на клетката е 8.56 μm . Повечето клетки са с размер 8-9 μm . Размерът на клетката достига максимум при 8 μm .

Ако сравним резултатите от двете графики, можем да заключим, че на снимката има 82% дрождеви клетки с размер между 5 – 8 μm и 18% соматични клетки. Големият брой дрождеви клетки, 195 преброени клетки = 1699×10^3 cell/mL, е потвърждение за наличието на дрождеви мастит.

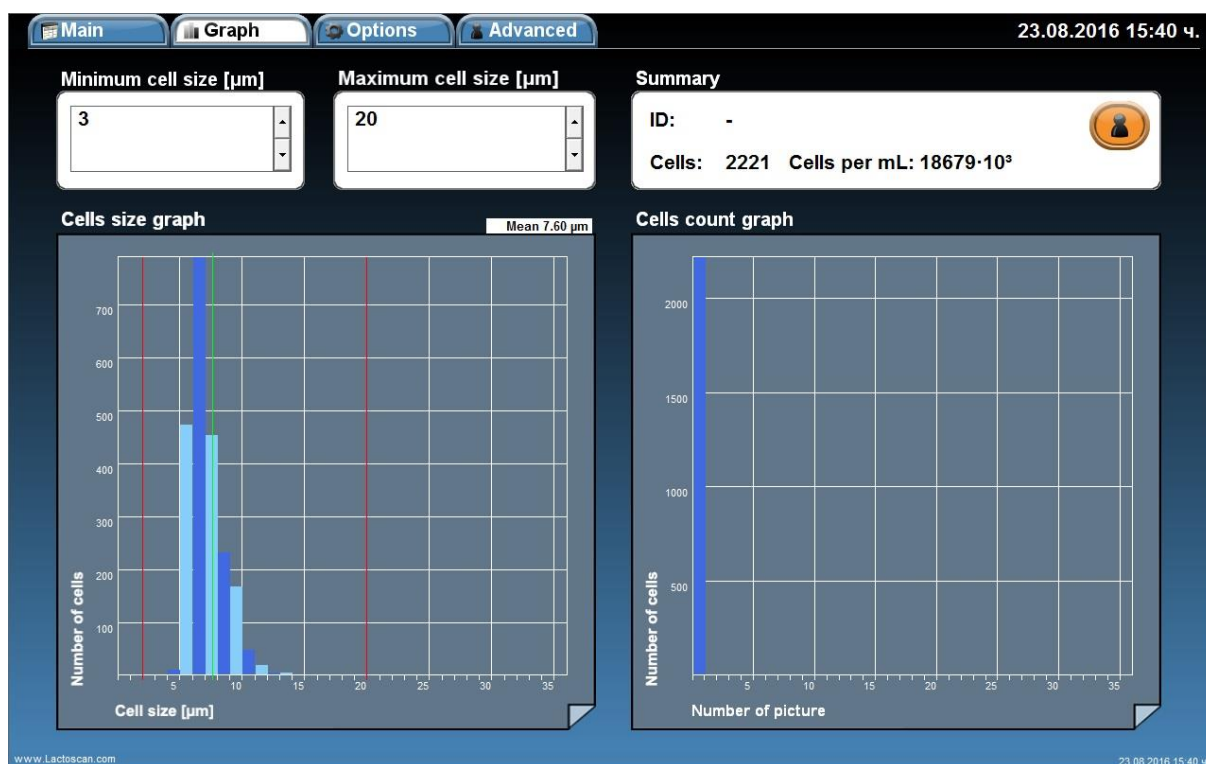
Броят на соматичните клетки, 43 преброени клетки = 375×10^3 cell/mL, е сигнал за възможно развитие на доклиничен мастит.

Според резултатите можем да заключим, че анализираното мляко е от животно с дрождеви мастит и с възможно развитие на доклиничен мастит едновременно.

Изображение 4. Проба мляко от животно с дрождеви мастит

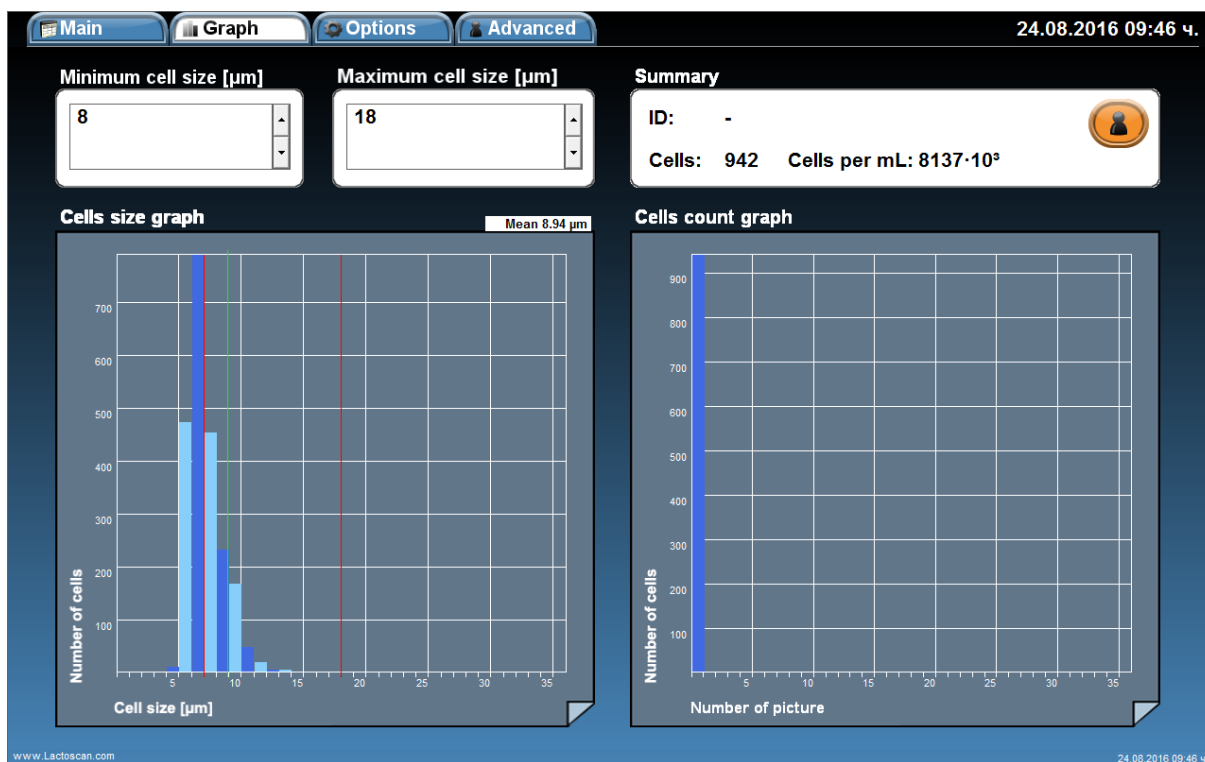


Графика от Изображение 4. Минималният размер на клетката е зададен на 3 μm



Когато диапазонът на размера на клетките е зададен от 3 до 20 μm , преброените клетки са 2221, еквивалентно на $18679 \times 10^3 \text{ cell/mL}$. Размерът на клетките е между 5 и 14 μm . Средният размер на клетката е 7.60 μm . Повечето клетки са с размер 6-8 μm . Размерът на клетката достига максимум при 7 μm .

Графика от Изображение 4. Минималният размер на клетката е зададен на 8 μm



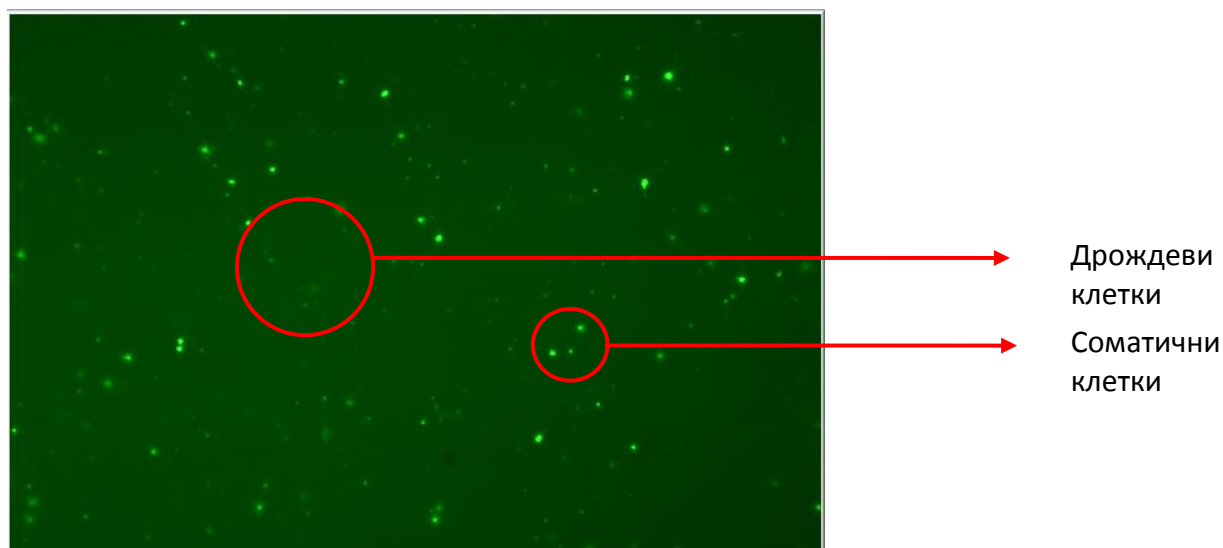
Когато диапазонът на размера на клетките е зададен от 8 до 20 μm , преброените клетки са 942, еквивалентно на 8137×10^3 cell/mL. Размерът на клетките, включени в крайния резултат, е между 8 и 14 μm . Средният размер на клетката е 8.94 μm . Повечето клетки са с размер 8-10 μm . Размерът на клетката достига максимум при 8 μm .

Ако сравним резултатите от двете графики, можем да заключим, че на снимката има 66% дрождеви клетки с размер между 5 – 8 μm и 44% соматични клетки. Големият брой дрождеви клетки, 1279 преброени клетки = 10542×10^3 cell/mL, е потвърждение за наличието на дрождеви мастит.

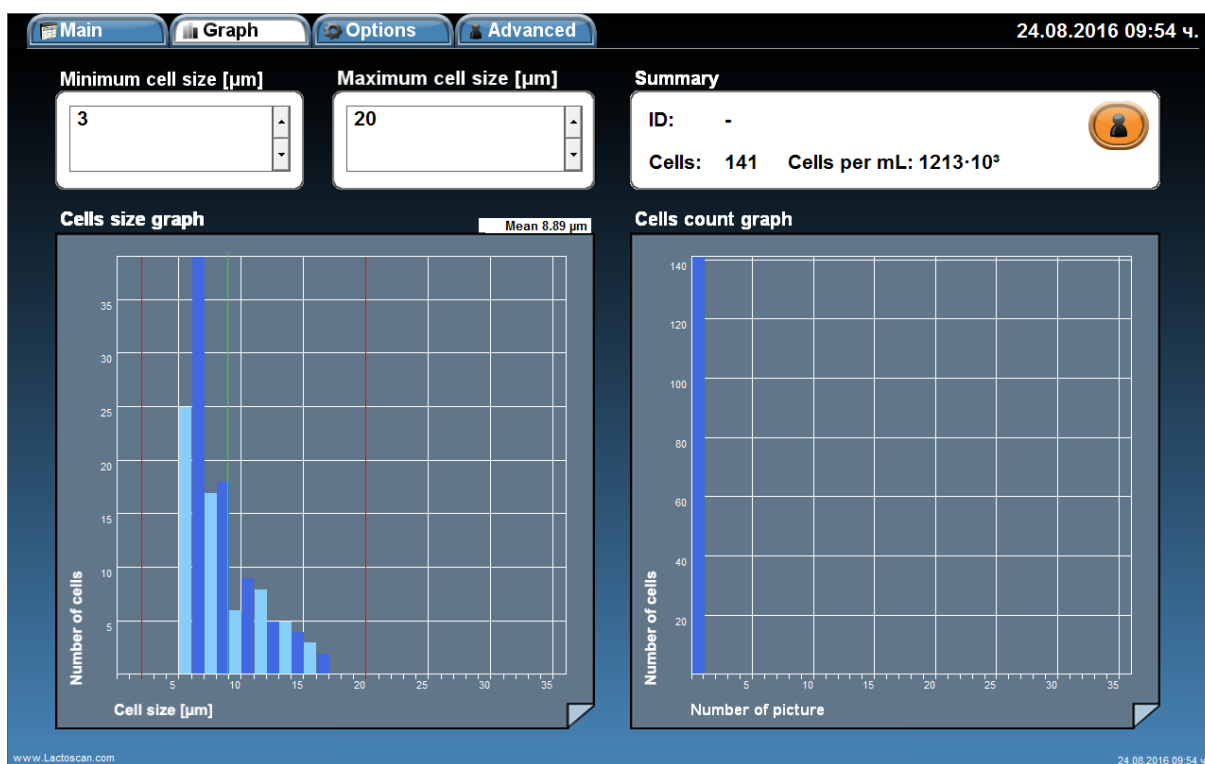
Броят на соматични клетки, 942 преброени клетки = 8137×10^3 cell/mL, е потвърждение за наличието на клиничен мастит.

Според резултатите можем да заключим, че анализираното мляко е от животно с дрождеви и клиничен мастит едновременно.

Изображение 5. Проба мляко от животно с дрождеви мастит

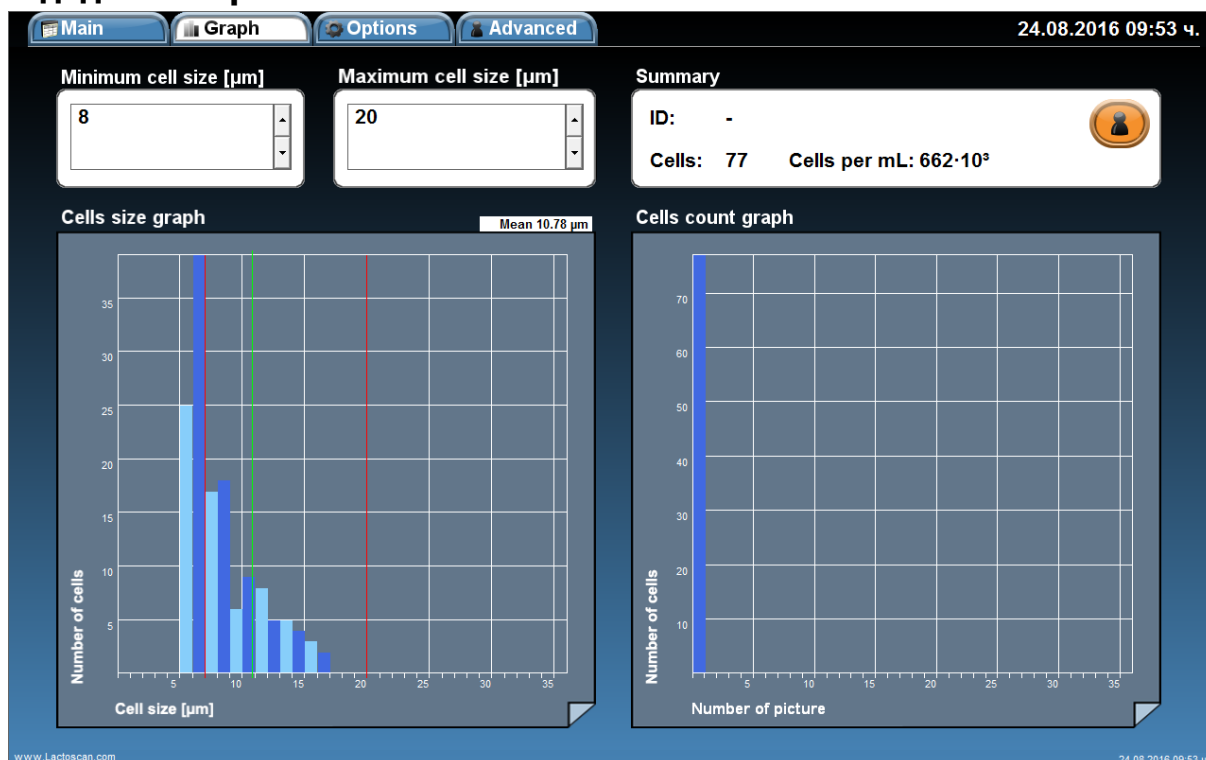


Графика от Изображение 5. Минималният размер на клетката е зададен на 3 μm



Когато диапазонът на размера на клетките е зададен от 3 до 20 μm , преброените клетки са 141, еквивалентно на 1213×10^3 cell/mL. Размерът на клетките е между 6 и 17 μm . Средният размер на клетката е 8.89 μm . Повечето клетки са с размер 6-11 μm . Размерът на клетката достига максимум при 7 μm .

Графика от Изображение 5. Минималният размер на клетката е зададен на 8 μm



Когато диапазонът на размера на клетките е зададен от 8 до 20 μm , преброените клетки са 77, еквивалентно на 662×10^3 cell/mL. Размерът на клетките, включени в крайния резултат, е между 8 и 17 μm . Средният размер на клетката е 10.78 μm . Повечето клетки са с размер 8-9 μm . Размерът на клетката достига максимум при 9 μm .

Ако сравним резултатите от двете графики, можем да заключим, че на снимката има 55% дрождеви клетки с размер между 6 – 8 μm и 45% соматични клетки. Големият брой дрождеви клетки, 64 преброени клетки = 551×10^3 cell/mL, е потвърждение за наличието на дрождеви мастит.

Броят на соматичните клетки, 77 преброени клетки = 662×10^3 cell/mL, е потвърждение за наличието на клиничен мастит.

Според резултатите можем да заключим, че анализираното мляко е от животно с дрождеви и клиничен мастит едновременно.

В резултатите, които получихме от Колумбия, ние открихме много животни от едно стадо със среден размер на клетките 7-8 μm . Направихме проучване на такива животни и проучванията категорично показаха, че повишаването на

боя на малките клетки /4-7 μm / е винаги следствие на наличието на дрожди в млякото. Дрождите имат такъв размер.

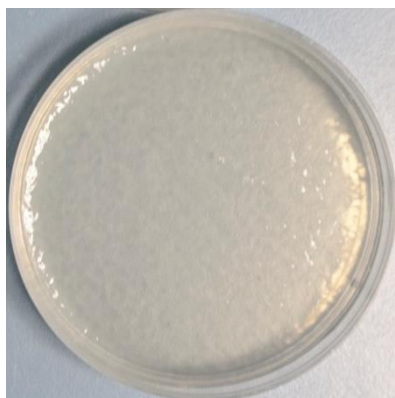
В проучвания от Индия и Бразилия е казано, че до 12% от животните имат дрождеви мастит. Вероятно процентът в други части на света е близък до 12% в някои области.

Големият проблем е, че ако тези клетки бъдат преброени, както е според изискванията на стандарта за броене на соматични клетки /всички клетки с размер над 4 μm се броят за соматични клетки/, тогава границата от 500 000 клетки, показваща наличието на бактериален мастит, ще бъде надвишена многократно не поради соматичните клетки, а основно поради преброените дрождеви клетки, които се разрастват много бързо в млякото и дори антибиотичното лечение спомага за разрастването им.

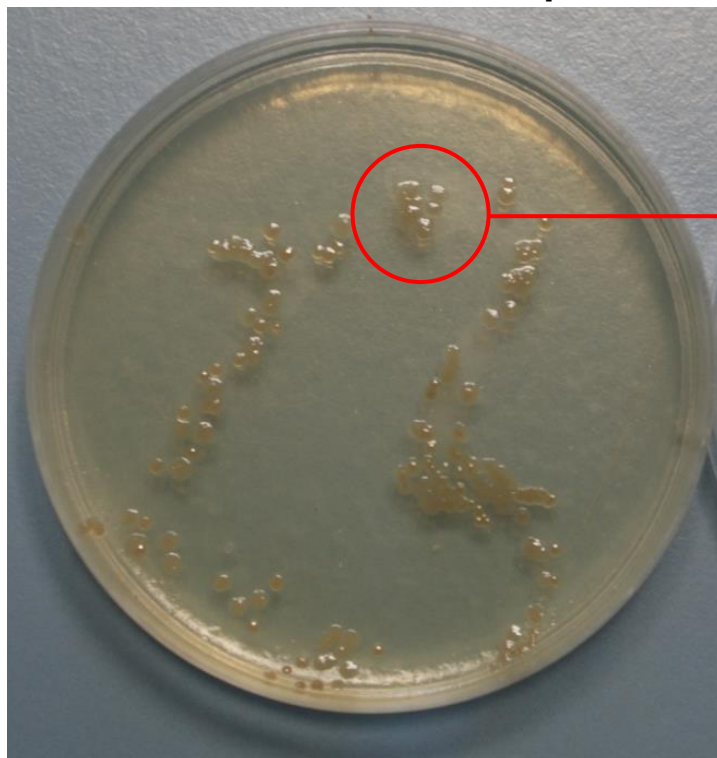
Много лесно ветеринарите могат да игнорират такива проби мляко и да приемат, че трябва да третират мастита като бактериален мастит, но той може да е дрождеви мастит. Поради тази причина, на LACTOSCAN SCC COMPACT е зададен диапазон на преброяване на соматични клетки от 8 до 20 μm за краве мляко. По този начин клетки с размер 4-6-7 μm са отделени от соматичните клетки. Разбира се, по този начин основно малките лимфоцити с подобен размер не са включени в крайния резултат, но обикновено те са само 1% от общия брой на лимфоците и телесните клетки, влезли в млякото.

По-долу са показани снимки на петрита с такива проби мляко (среден размер на клетките 6-7-8 μm), култивирани в специална среда за култивиране на дрожди, показващи разрастването на дрождите в тях. Микробиологичните посявки и резултатите са видими на снимките:

Снимка 1. Мляко от здраво животно



Снимка 2. Мляко от животно с дрождеви мастит



Дрождева
колония

Снимка 3. Мляко от животно с дрождеви мастит



Дрождева
колония

Снимка 4. Мляко от животно с дроздеви мастит



Дрождева
колония

Гаранционна карта

LACTOSCAN SCC COMPACT

Гаранцията е за период от 1 (една) година. Неправилното боравене, транспортиране и съхранение прави гаранцията невалидна.

Сериен №

Дата на покупка:

Парола:

Дистрибутор:

Подпис:

Печат:

„Милкотроник“ ООД си запазва правото да избере методите, по които ще анализира уреда, за да установи валидността на гаранцията. Уреди, които са с изтекъл срок на гаранция, не подлежат на безплатен гаранционен сервиз.

Сервизна карта

Купувач:

--

Сервизен отчет:

Дата на приемане в сервиза	Повреда	Дата на получаване	Подпис

Контакти

За повече информация или техническа помощ посетете нашата интернет страница www.lactoscan.com или се свържете с нас:

Централен офис и Сервиз:

ул. Народни будители No 4
8900 Нова Загора
БЪЛГАРИЯ
тел/факс: + 359 457 670 82
office@lactoscan.com