LACTOSCAN SCC COMPACT
Manual de Uso

Conteo exacto de células somáticas en trespasosfáciles
Sencillo. Rápido. Preciso. Confiable.

El manual de uso del LACTOSCAN SCC COMPACT está hecho para ayudarles a trabajar con el equipo.

El manual consta de instrucciones paso a paso para configuración, uso y mantenimiento del equipo, preparación de muestras, recogida y procesamiento de los datos recibidos.

La información contenida de este manual es precisa y aplicable para las últimas versiones de hardware y software de LACTOSCAN SCC COMPACT. Sin embargo, puede ser cambiada sin ningún tipo de consulta previa y notificación.

Última edición: 29.03.2019

Todos los derechos reservados

Medidas de seguridad

1. Asegúrese siempre de que la fuente de alimentación coincide con la tensión suministrada en su región.
2. Para "Condiciones de trabajo de entorno" Véase página 12.
3. Este equipo funciona con enfriamiento aéreo, lo que significa que su superficie se calienta durante el trabajo. Al instalar, asegúrese de que no hay nada alrededor de él a los 10 cm (4 pulgadas) de radio.
4. Nunca coloque objetos metálicos sobre ventilador aéreo, ya que esto puede causar una descarga eléctrica, daños físicos o perjudicar el equipo.
5. Asegúrese siempre de que el interruptor principal está en la posición "OFF" antes de conectarlo a la red eléctrica.
6. Nunca toque el cable de alimentación con las manos mojadas
7. Para que evitar una posible descarga eléctrica, asegúrese de que la alimentación está bien conectado a tierra.
8. En caso del equipo dañado, apáguelo y póngase en contacto con el servicio técnico autorizado. No desmonte el equipo. Si lo hace, la garantía no será considerada válida.
9. Utilice sólo los accesorios autorizados (USB Flash drive, LACTOCHIP, teclado y ratón inalámbricos).
10. Utilice este equipo sólo en la forma que se indica en este manual de uso y en los documentos relacionados con sus componentes. Cada un uso inadecuado del equipo es preocupante en gran medida y puede causar daños como mencionado en las notas de advertencia.

 Todos los derechos reservados

Símbolos de seguridad

Los siguientes símbolos se pueden encontrar sobre el equipo y en este documento. Por favor, les dan una atención especial y siempre utilice el equipo de la manera más segura posible.

Símbolo	Sentido
	Atención y advertencia
	El equipo cubre todas las disposiciones de la UE
	Protección del cambio delos polos del fuente de alimentación
	Positivo y negativo de la toma de corriente

Advertencias

Objeto	Advertencia
Batería incorporada del tablet	Existe un riesgo de explosión si la batería se cambia de manera incorrecta. Esta batería no se cambia por el cliente. Por favor, póngase en contacto con el servicio técnico autorizado.
Caja	No desmonte la caja. No hay componentes ajustables dentro de la caja. Si hay un problema, por favor, póngase en contacto con el servicio.
Guia	No intente reparar el equipo, al menos que esta instrucción está perfectamente entendida y discutida. Si no prestan suficiente atención a esta instrucción, esto puede causar daño al proveedor de servicios, choques eléctricos, mecánicos o otros riesgos.

Todos los derechos reservados

Residuos	Después de usar el LACTOCHIP es necesario tirarlo a la basura apropiada.
Operador	Debe tener los conocimientos básicos sobre el procedimiento de recuento de células.

 Todos los derechos reservados

Contenido:

Introducción 6
Principio de funcionamiento de LACTOSCAN SCC COMPACT 7
Desembalaje de LACTOSCAN SCC COMPACT 10
Contenido de la caja 11
Descripción de LACTOSCAN SCC COMPACT 13
Descripción de LACTOSCAN SCC COMPACT KIT 15
Descripción de LACTOCHIP 16
Especificaciones 17
Descripción de las pantallas básicas de software 20
Preparación para trabajar con LACTOSCAN SCC COMPACT 35
Preparación de muestra para análisis 37
Introducción de datos de nuevas muestras durante el proceso de análisis 50
Análisis referencial de las muestras 53
Guardar la foto del análisis en formato .BMP 59
Configurar los parámetros de análisis 61
Borrar un resultado en la base de datos 67
La limpieza de la base de datos 68
Imprimir los resultados de la base de datos. 70
Imprimir los resultados con una imprenta externa 72
Guardar los resultados como archive PDF: 73
Guardar los resultados en el archivo Excel: 75
El enfoque de LACTOSCAN SCC COMPACT 77
El trabajo en modo avanzado 81
Renovación de la información para los tipos de LACTOCHIP, disponibles en software. 91
El cambio de los filtros de LACTOSCAN SCC COMPACT .... **Error! Bookmark not defined.**
Limpieza y mantenimiento. 97

 Todos los derechos reservados

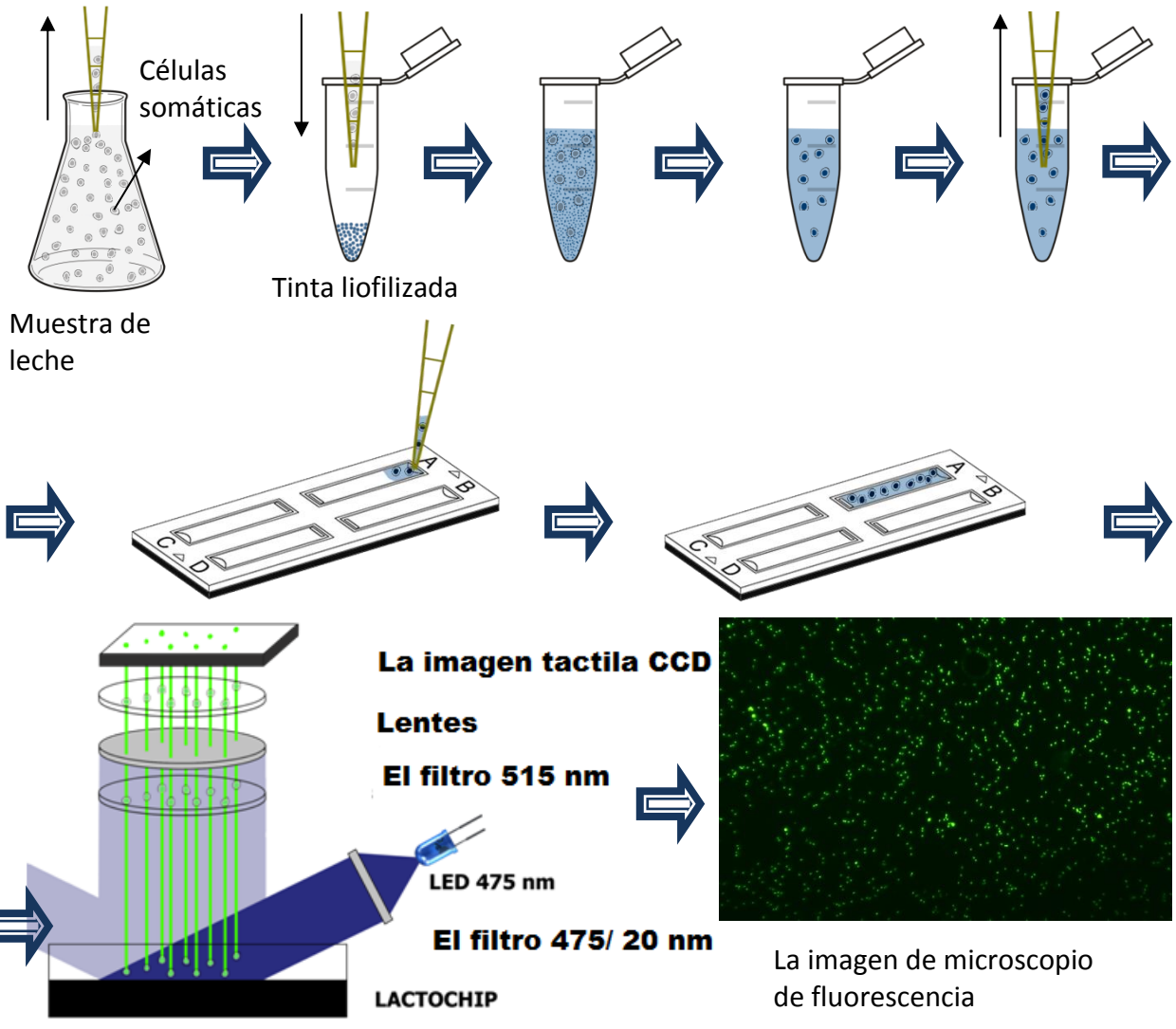
LACTOSCAN SCC COMPACT método para determinación de la cantidad de células somáticas en la leche cruda con LACTOSCAN SCC COMPACT 98

 Todos los derechos reservados

Introducción

LACTOSCAN SCC COMPACT se basa en la técnica de microscopio de fluorescencia de contar células. Gracias a la tinta fluorescente, la óptica LED y las tecnologías de rodaje CCD, el análisis de la lechees preciso, fiable y rápido.

Para contar las células somáticas con LACTOSCAN SCC COMPACT, la muestra se mezcla con la tinta SOFIA GREEN. Son sólo 8 µL que necesitan estar goteados sobre el LACTOCHIP. Después de eso, el chip se carga en el equipo. El análisis se realiza entre un periodo de 10 segundos y 2 minutos y la duración depende del número de los campos filmados. El sistema de LACTOSCAN SCC COMPACT se está enfocando automáticamente en el chip y las células teñidas están filmados por la cámara sensible CMOS. El algoritmo de análisis de las imágenes digitales determina el número de las células fluorescentes y calcula su concentración y tamaño. El resultado se muestra automáticamente en la pantalla.



La célula somática

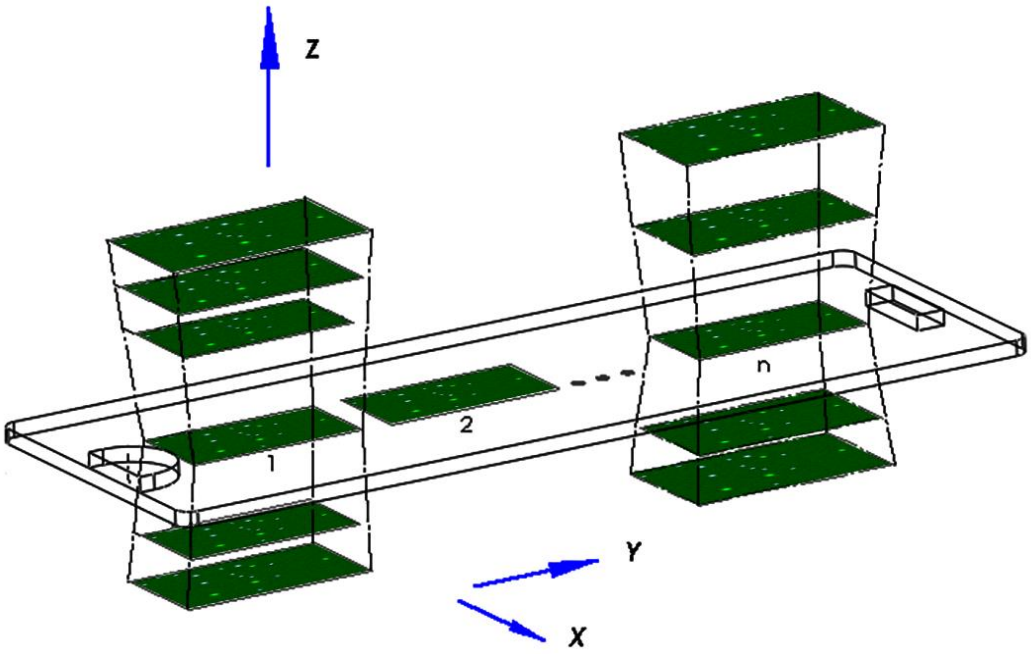
La imagen de microscopio de fluorescencia

 Todos los derechos reservados

Principio de funcionamiento de LACTOSCAN SCC COMPACT

Único, 3D, multi-imagen, programa de patente protegido, proceso de escaneo secuencial, basado en una óptica fluorescente precisa y de baja ampliación, software de análisis de imágenes, LACTOSCAN SCC es rápido, preciso y un contador confiable de células somáticas. Al mover automáticamente mecanismo por el eje X - Y y la lente líquido en Z, el dispositivo está capturando un máximo de 60 imágenes. Después de capturar, las imágenes son procesadas por el software incorporado y se muestra el resultado promedio (calculado usando la fórmula de IDF / ISO 13366/) de todas las imágenes filmadas. Todo el proceso, después de colocar el LACTOCHIP en el carruaje, es automático.

Basado en un microscopio preciso con óptica fluorescente y bajo aumento, y un software de análisis de imágenes, LACTOSCAN SCC es un contador de células somáticas rápido, preciso y fiable. Por desplazamiento automático del mecanismo en los ejes X e Y, el equipo está filmando máximo de 60 imágenes. Después de la filmación, las imágenes están procesados por el software montado y se muestra el resultado promedio de todas las imágenes filmadas. El proceso completo, después de colocar la muestra en LACTOCHIP es automático.



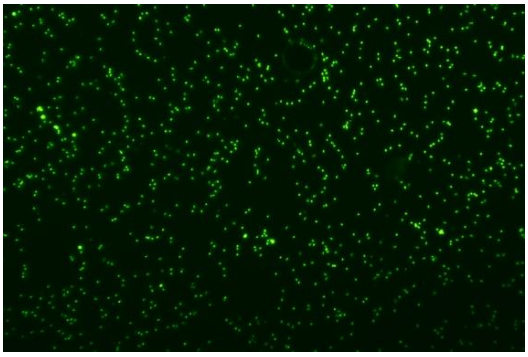
 Todos los derechos reservados

LACTOSCAN SCC COMPACT en comparación con el Método Estándar para Recuento de Células Somáticas

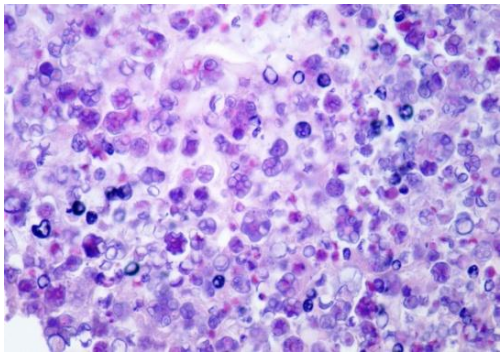
Los datos descritos abajo son basados en la validación y verificación de LACTOSCAN SCC COMPACT realizadas por departamento "Biotecnologías" en el Universidad "Prof. Assen Zlatarov", Bulgaria.

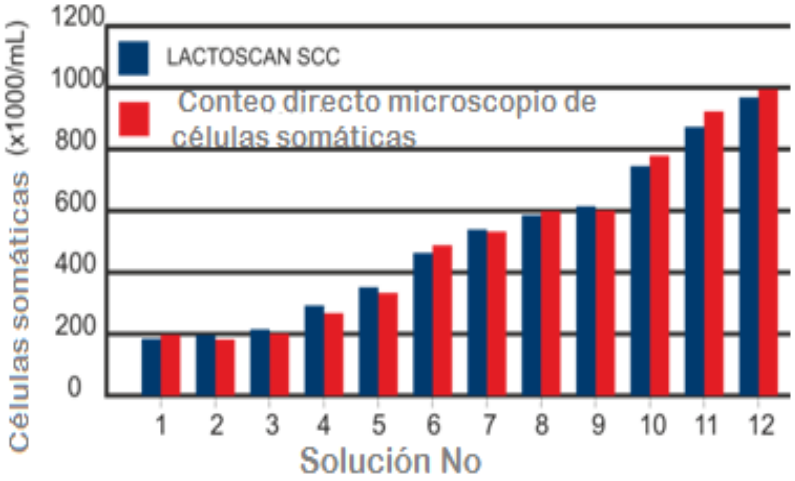
1. Exactitud de los análisis - comparación entre LACTOSCAN SCC COMPACT y un conteo microscópico directo de células somáticas (DMCSC)

Imágenes de células somáticas (LACTOSCAN SCC COMPACT)



Imágenes de células somáticas (DMCSC)



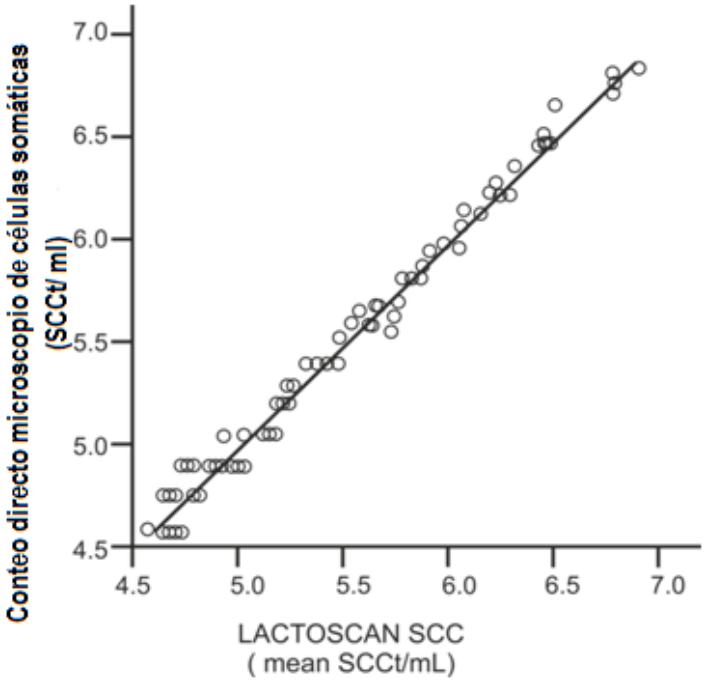


 Todos los derechos reservados

LACTOSCAN SCC COMPACT		Métodoestandar	
NSC (células/ml)	***CV %**	**NSC (células/ml)**	***CV %**
100 000	5%	100 000	7%
500 000	3%	400 000	5%
1 000 000	2%	600 000	4%

*Coeficiente de variación

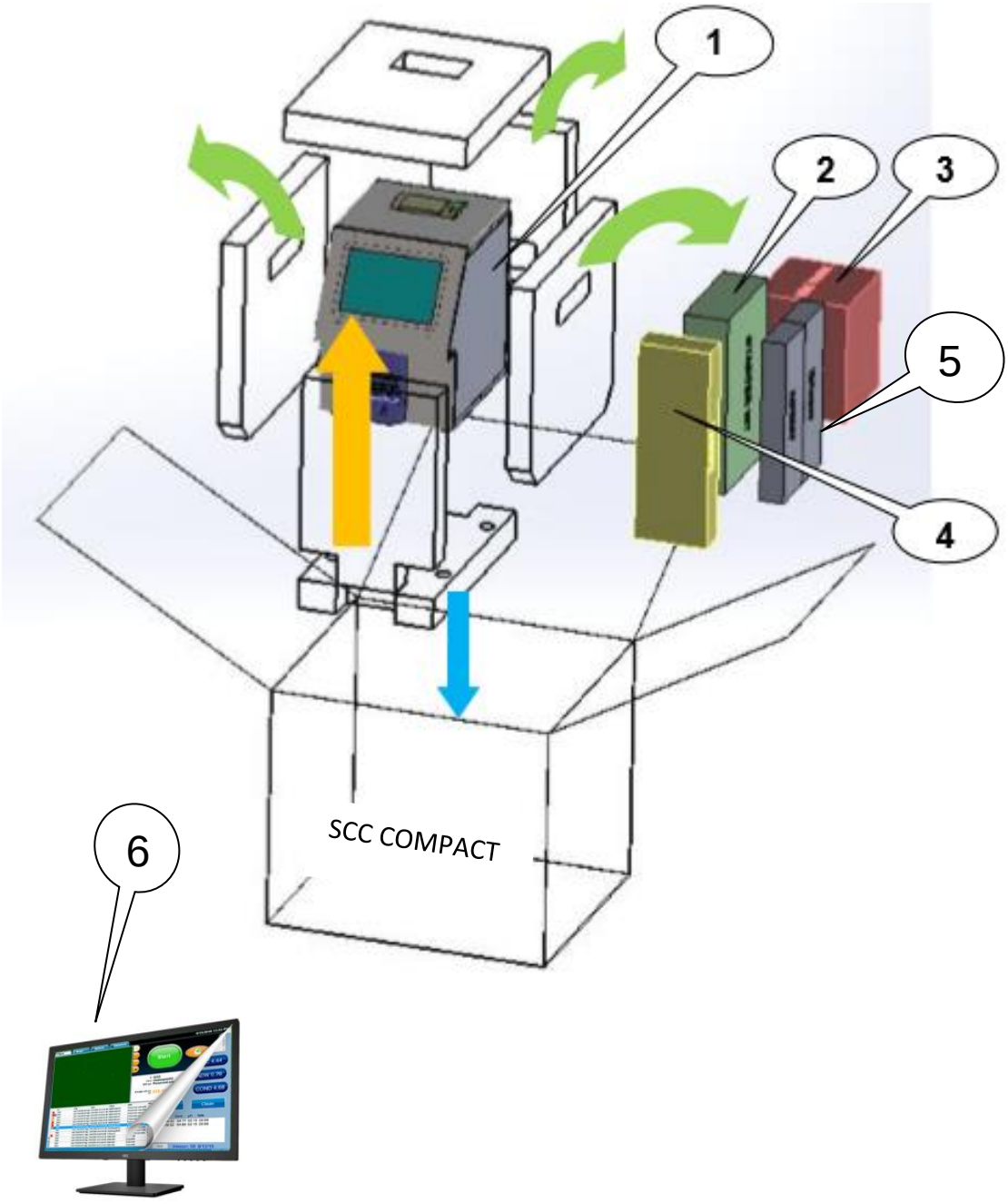
2. Compatibilidad – proporción entre los datos de LACTOSCAN SCC COMPACT y DMCSC



 Todos los derechos reservados

Desembalaje de LACTOSCAN SCC COMPACT

Desembale con cuidado LACTOSCAN SCC COMPACT siguiendo la secuencia ilustrada abajo:



 Todos los derechos reservados

Leyenda:

1. LACTOSCAN SCC COMPACT
2. LACTOSCAN START KIT
3. Mini Vortex
4. Ratón y teclado inalámbricos
5. Pipetas automáticas
6. Monitor externo (Viene con cada LACTOSCAN SCC COMPACT)

Contenido de la caja

El contador de células somáticas LACTOSCAN SCC COMPACT contiene los siguientes artículos:

Artículo	Cantidad
Contador de células somáticas LACTOSCAN SCC COMPACT	1
LACTOSCAN SCC COMPACT START KIT	1
LACTOSCAN SCC COMPACT 12V cable de alimentación	1
Guía rápida de LACTOSCAN SCC COMPACT	1
Pipeta automática de 10 hasta 100 µL - fijada en 8 µL	1
Pipeta automática de 20 hasta 200 µL - fijada en 100 µL	1
Teclado inalámbrico USB con baterías	1
Ratón inalámbrico USB con baterías	1

Todos los derechos reservados

Mini Vortex	1
LACTOSCAN FARM ECO (opcional)	1
Monitor externo	1

Al recibir el equipo, por favor asegúrese de que no se ha dañado durante el transportación. También asegúrese de que todos los artículos, incluyendo los mencionados anteriormente, están en la caja. En caso de piezas dañados/faltados, póngase en contacto con la empresa transportista. La garantía no cubre daños causados durante el transporte.

Atención:

Si no se quitan todos los partes del embalaje, eso puede llevar a un daño del equipo. Los protecciones de transporte, espuma de poliestireno, deben ser colocados antes de transportar, con el fin de evitar un daño.

Registración del equipo:

Cadacliente puede registrarsu LACTOSCAN SCC COMPACT visitando www.lactoscan.com/device_registration. Es necesario llenar el número de serie del equipo, el nombre del propietario y los datos de contacto. Después de la registración, serán recibidos notificaciones sobre las actualizaciones de software e información sobre análisis nuevos, que se pueden hacer con el LACTOSCAN SCC COMPACT.

Designación del equipo:

LACTOSCAN SCC COMPACT está diseñado solamente para análisis de leche en centros de recogida de leche, laboratorios, etc. Nodebe usarse para analizar leche materna o animal, con uso terapéutico o diagnóstico.

Condiciones de medio de trabajo.

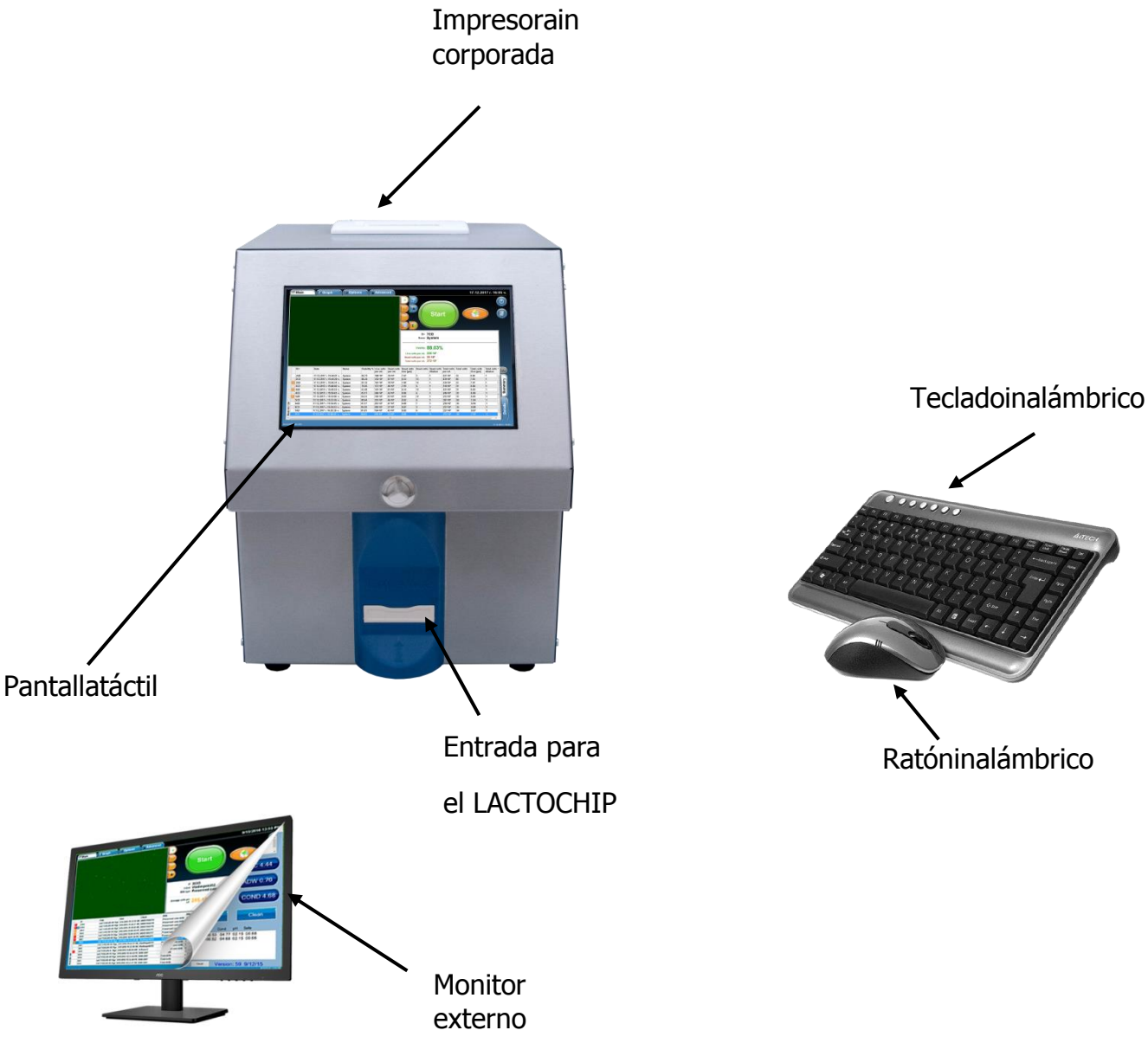
Con el fin de funcionar correctamente y estable durante un largo período, LACTOSCAN SCC COMPACT necesita ser instalado en una sala con las siguientes condiciones ambientales:

- Temperatura interior ^{0}C 15-35. No se recomienda colocarlo en un local cuya temperatura está por debajo de 4 ^{0}C.
- Evitar exponer el equipo a luz solar directa.
- Evitar exponer a una vibración continua.
- Humedad relativa 0-95%.
- En un lugar sin gases corrosivos o otras sustancias corrosivas.
- En un lugar sin polvo.
- 10 cm (4 pulgadas) es la distancia mínima requerida desde un flujo del aire normal.
- No coloque objetos pesados sobre el equipo.

Todos los derechos reservados

Descripción de LACTOSCAN SCC COMPACT

El panel frontal y el panel superior, así como los accesorios externos, son mostrados abajo.



Entrada para el LACTOCHIP. Se abre automáticamente y emerge la bandeja para el LACTOCHIP con la muestra de análisis.

Pantalla táctil. Dirige el equipo. Las funcionesnecesarios y los resultados de los análisis se muestran allí.

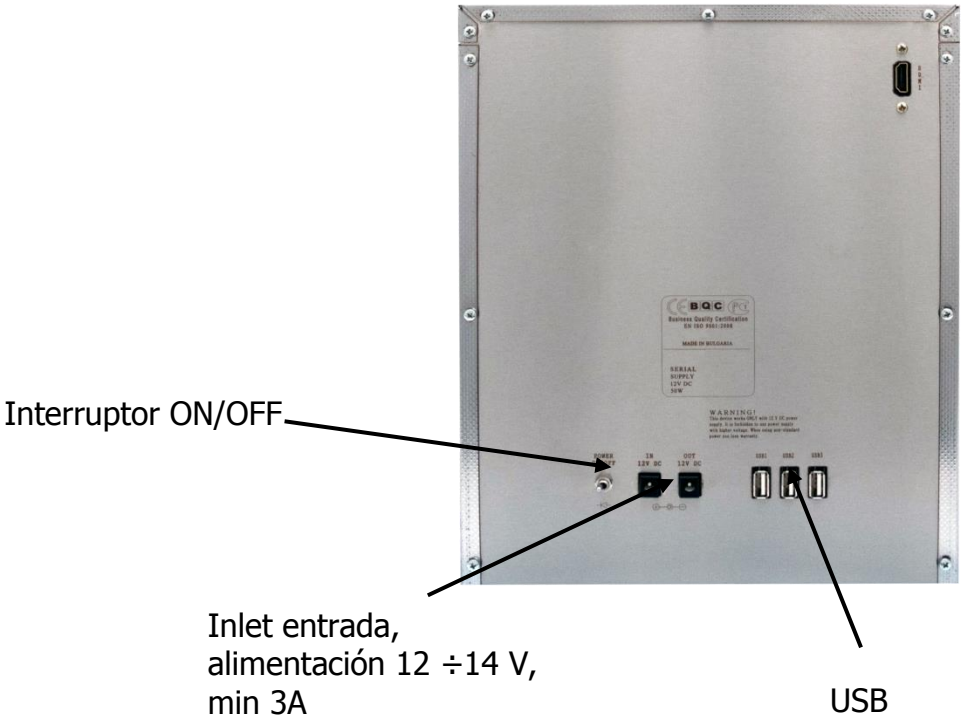
Impresora incorporada. Permite imprimir los resultados después de los análisis o los resultados de las pruebas anteriores.

Todos los derechos reservados

Teclado y ratón inalámbricos. Hace la introducción de los datos más fácil.

Monitor externo. Viene con cada LACTOSCAN SCC COMPACT

Panel posterior.



Interuport ON/OFF - interruptor básico de alimentación, entender y apagar el equipo.

Inlet entrada 12 ÷ 14 V, min 3 A. Fuente de alimentación. Siempre conecte sólo el adaptador de alimentación suministrado junto con el equipo.

Atención!
No conecte la fuente de alimentación del equipo si el interruptor ON / OFF no está en posición de "apagado".

USB puertos. Para conectar USB flash drive y teclado y ratón inalámbricos.

Atención!
No desconecte la USB Flash drive mientras el equipo está funcionando.

Todos los derechos reservados

Descripción de LACTOSCAN SCC COMPACT KIT

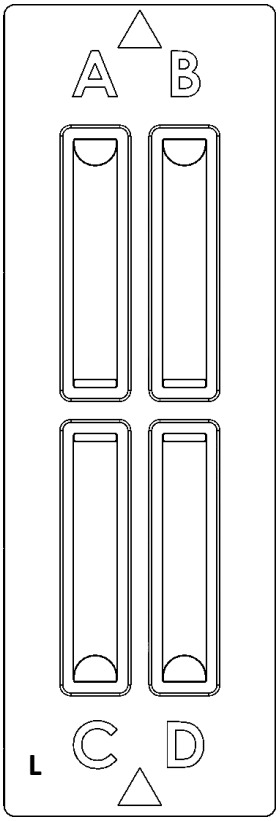
Tipos de LACTOSCAN SCC COMPACT KIT:

- LACTOSCAN SCC COMPACT START KIT 100 tests – consiste de 25 LACTOCIPx4 desechables, 100 tubos de ensayo micros con tinte liofilizado SOFIA GREEN y 200 puntas para pipeta automática. La fecha de vencimiento del conjunto es un año después de su fecha de fabricación.
- LACTOSCAN SCC COMPACT KIT x4 400 tests – consiste de 100 LACTOCHIP x4 desechables, 400 tubos de ensayo micros con tinte liofilizado SOFIA GREEN y 800 puntas para pipeta automática. La fecha de vencimiento del conjunto es un año después de su fecha de fabricación.

Todos los derechos reservados

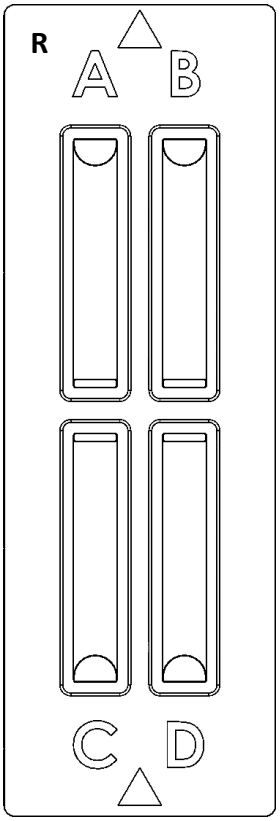
Descripción de LACTOCHIP

LACTOCHIP es un chip desechable, especialmente diseñado para ser utilizado con LACTOSCAN SCC COMPACT.



LACTOCHIP 4L

LACTOCHIP x4 tiene cuatro cámaras cerradas separadas (A, B, C y D), que permiten analizar cuatro muestras diferentes. La capacidad de cada una cámara es 8 µL. LACTOSCAN SCC COMPACT toma 16 imágenes de la muestra en cada una cámara y luego realiza el análisis por un algoritmo específico.



LACTOCHIP 4R

Atención!
Antes de comenzar a trabajar con el LACTOSCAN SCC COMPACT KIT, debe verificar la letra del LACTOCHIP. Esta puede ser L o R. La letra L significa LACTOCHIP 4L y la letra R significa LACTOCHIP 4R. Las letras del LACTOCHIP coinciden con los datos dados en el programa para el LACTOCHIP. Un LACTOSCAN SCC COMPACT KIT contiene chips solo con la letra L o solo con la letra R.

Todos los derechos reservados

Especificaciones

LACTOSCAN SCC COMPACT		
CARACTERÍSTICAS	**Tipo:**	Contador de células somáticas
	Dimensiones (Alto x Ancho xLargo):	25.5 cm x 38 cm x 30 cm
	Peso:	7.300 kg
	Tensión de trabajo:	100-230 VAC, 2.5A, 120V
	Frequencia:	50/60 Hz
	Fuente de energia:	12 V, 5A, 60W
	Lugar de montaje:	Solamente interior!
	Temperaturadelaire:	15-35 ºC
	Humedadrelativa:	0-95%
ESPECIFICACIÓN TÉCNICA	**Tiempo de análisis:**	De 10 segundos hasta 2 min dependiendo del número de las fotografías tomadas.
	Concentración de células en la muestra:	0 ÷ 1x10^{7}células/mL
	Cantidadnecesaria de muestra:	8µL
	Firmware:	LACTOSCAN SCC COMPACT Firmware (para actualizaciones visite

Todos los derechos reservados

		www.lactoscam.com/updates)
	USB:	4 Gigabyte
ÓPTICA	**Lente:**	4 x
	LED:	5 W azul LED, 465 nm
	Filtro:	Filtros de excitación y emisión
	Cámara:	CMOS
	IEC 60825-1:	1993+A1; 1997+A2; 2001

LACTOSCAN SCC COMPACT STARTER KIT 100 tests

ESPECIFICACIONES TÉCNICAS	**Dimensiones (AlxAnxL):**	355 mm x 255 mm x 135 mm
	Peso:	1.500 kg
	Número de LACTOCHIP x4:	25 pcs
	Número de SOFIA GREEN tinte liofilizado:	100 pcs
	Número de puntas para la pipeta automática:	200 pcs

Todos los derechos reservados

LACTOSCAN SCC COMPACT KIT x4 400 tests

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS	**Dimensiones (AxAnxL):**	355 mm x 255 mm x 135 mm
	Peso:	1.500 kg
	Número de LACTOCHIP x4:	100 pcs
	Número de SOFIA GREEN tinte liofilizado	400 pcs
	Número de puntas para la pipeta automática:	800 pcs

LACTOCHIP x4

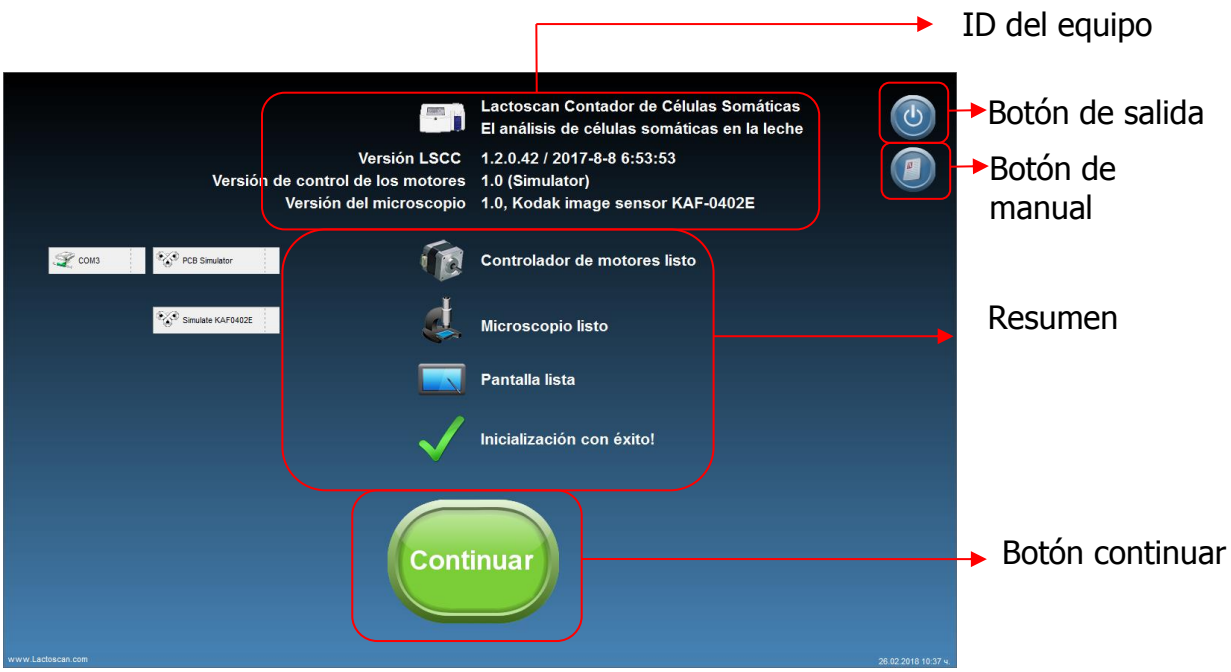
ESPECIFICACIONES TÉCNICAS	**Material:**	ABS y PMMA
	Dimensiones (AlxAnxL):	2 mm x 25 mm x 75 mm
	Peso:	0.005 kg
	Volumen de la cámara	8 µL
	Espesor de la cámara microfluídico	50 µм

Todos los derechos reservados

Descripción de las pantallas básicas de software

LACTOSCAN SCC COMPACT software incluye lassiguientes pantallas básicas:

- **Pantalla "Inicial"**

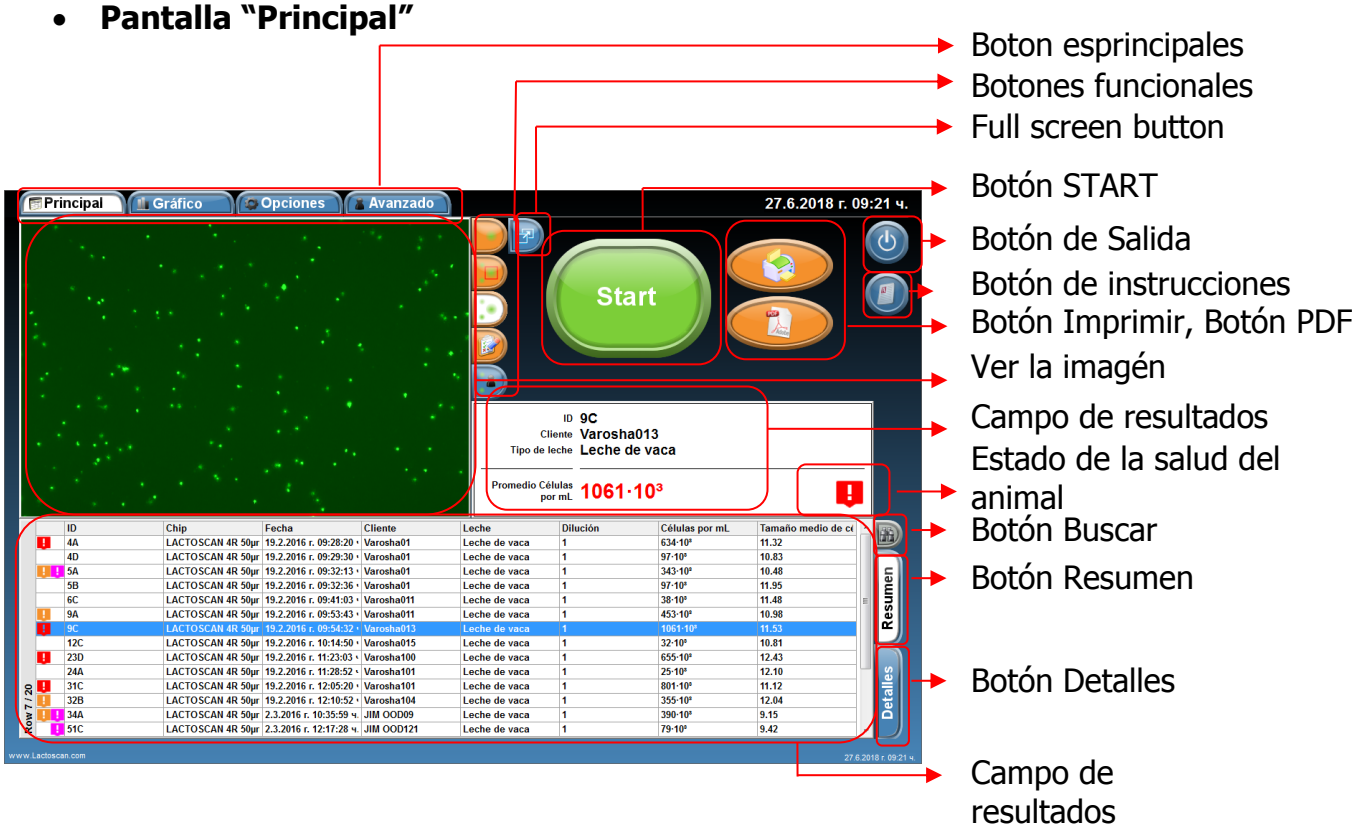


Pantallainicial	
ID del equipo	Información sobre las versiones de software del equipo
Botón de salida	Pulsando este botón el operador pasa al menú Apagar/Sistema de operación de donde puede elegir si apagará el equipo o sólo el programa.
	Presionando este botón el manual de uso de LACTOSCAN SCC COMPACT se abre en PDF
Resumen	Contiene información sobre el estado del equipo después de la prueba auto-diagnóstica.

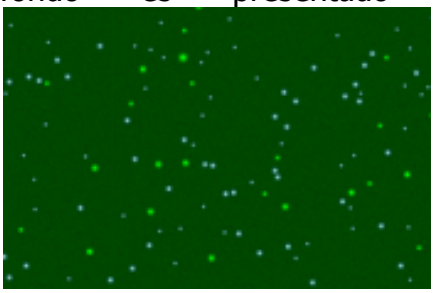
	Pulsando el botón el operador pasa a la pantalla principal del software.
	COM 3 debe ser seleccionado para que el aparato funcione correctamente.
	Dispositivo PCB debe ser seleccionado para que el aparato funcione correctamente. Para demostraciones, seleccione «Simulador», así solo el software estará funcionando, sin el dispositivo en sí.
	Dispositivo Microscopio debe ser seleccionado para que el aparato funcione correctamente. Para demostraciones, seleccione «Simulador», así solo el software estará funcionando, sin el dispositivo en sí.

 Todos los derechos reservados

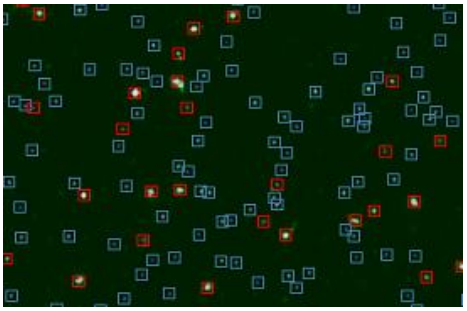
- **Pantalla "Principal"**



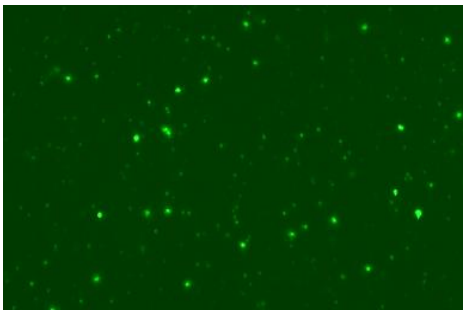
Pantalla Principal

Botones principales	Cambiar las pantallas principales del software
Botones funcionales	Permiten marcar y desmarcar todas las células contadas, seleccionar células, acercarelimagen pulsando los botones.
	Muestra imagen elaborada por software donde células de mastitis son de color verde, células de cultivo en azul y el fondo es presentado completamente limpio. 

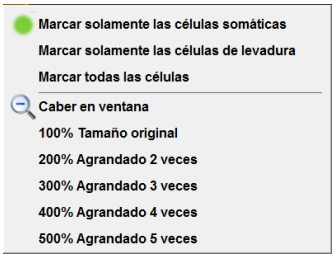
El software marca todas las células contadas. Las células de mastitis están marcadas con un cuadrado rojo, las células de cultivo en cuadrado azul.



Muestra la imagen real.

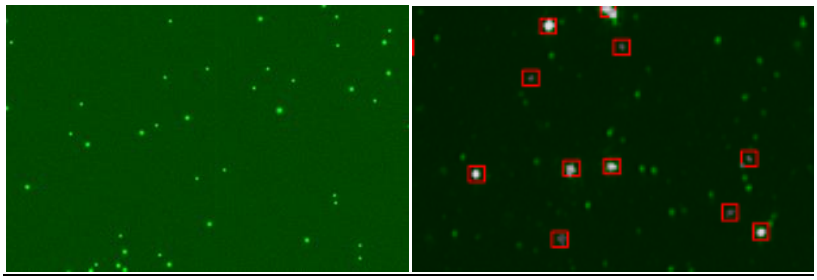


Permite al usuario seleccionar si desea ver sólo las células de mastitis o células de levadura o todas las células y acercar la imagen:



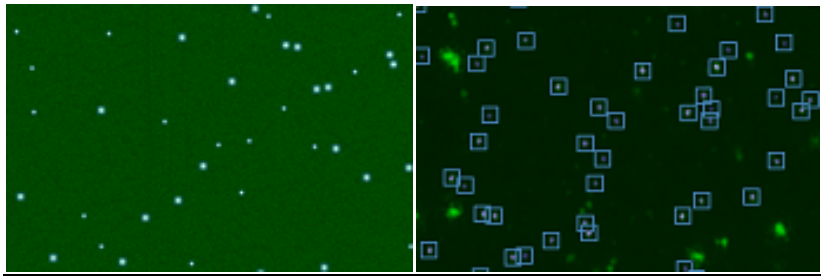
Marcar solo las células de mastitis

Imagen editada por software *Imagen real*



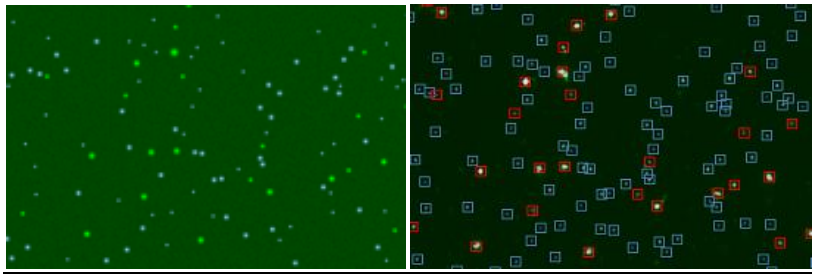
Marcar solo las células de levadura

Imagen editada por softwareImagen real

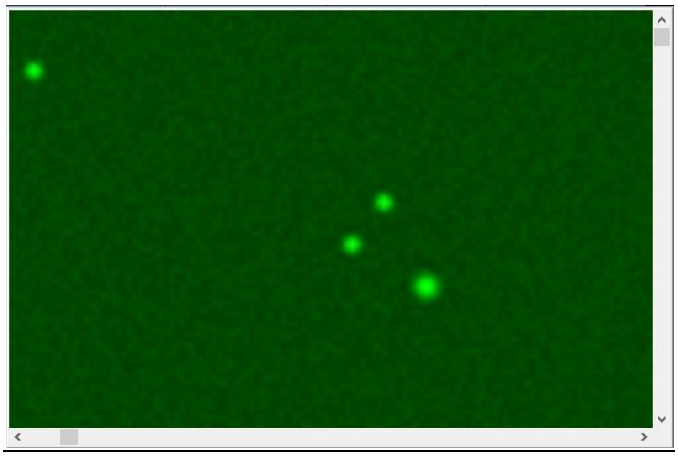


Marcar todas las células

Imagen editada por softwareImagen real



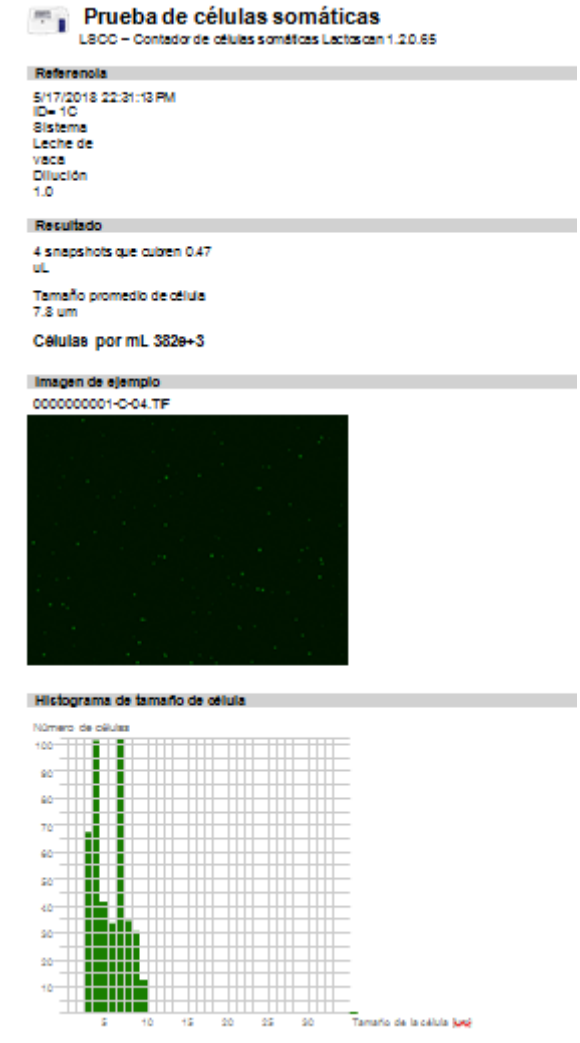
Acercamiento



Abra la imagen a la pantalla completa y regresa la imagen al Modo principal.

 Todos los derechos reservados

	Transfiere la imagen en modo Avanzado en el que el usuario puede examinar en detalles.
	Inicia el análisis de la muestra
	Apagar el equipo
	Pasa a página Imprimir
	Muestra un informe del análisis en formato PDF.



Prueba de células somáticas

LSCC – Contador de células somáticas Lactoscan 1.2.0.65

Referencia

5/17/2018 22:31:13 PM
ID= 1C
Sistema
Leche de
vaca
Dilución
1.0

Resultado

4 snapshots que cubren 0.47
uL

Tamaño promedio de célula
7.8 um

Células por mL 382e+3

Imagen de ejemplo

0000000001-C-04.TF

Histograma de tamaño de célula

 Todos los derechos reservados

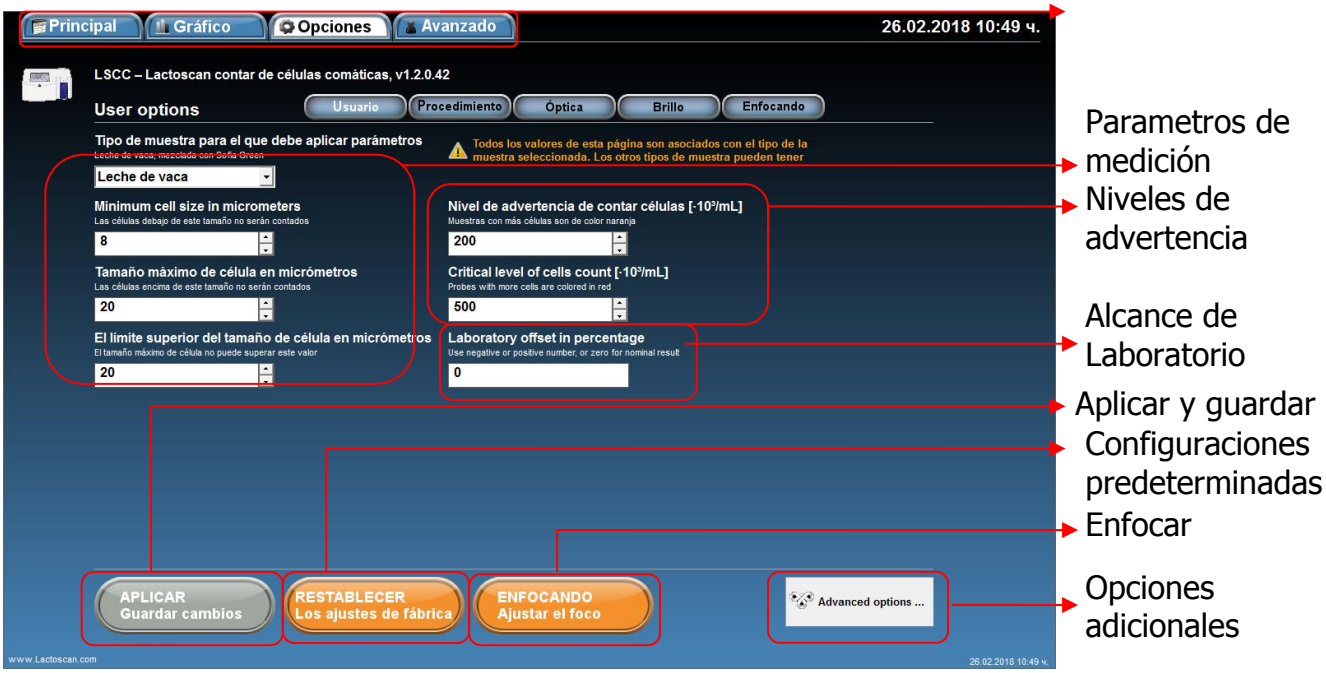
Ver la imagén	Muestra la densidad de las células somáticas en la muestra analizada.
Campo de resultados	Resumen del análisis seleccionado
	Las banderas muestran los siguientes estados de salud del animal: **1. - mastitis sub-clínica** **2. - mastitis clínica** **3. - Presencia de células de levadura en la muestra de leche. Posibilidad de mastitisde levadura. Es necesariorealizar una prueba paraconfirmarlo.**
	Abre el panel Buscar
	Pasa a una tabla con información resumida sobre los análisis realizados
	Pasa a una tabla con información detallada sobre los análisis ya realizados

- **Pantalla "Opciones"**

Permite al operador configurar ajustes de análisis de acuerdo con los requisitos locales o regionales de los diferentes tipos de leche.

Boton esprincipales

 Todos los derechos reservados



Pantalla "Opciones"

Botones principales	Cambiar las pantallas principales del software
Parametros de medición	Establece el tamaño mínimo y máximo de las células contadas para las diferentes muestras de leche
Niveles de advertencia	Ajusta un nivel de advertencia de mastitis sub-clínica y clínica de acuerdo de las especies y raza delosanimales
Alcance de Laboratorio	Coeficiente de corrección
Aplicar y guardar	Aplica las opciones de configuración y sus almacenamiento
Ajustes Predeterminados	Ajusta configuraciones predeterminadas para parámetros de medición y niveles de advertencia.
Opciones adicionales	Abre un menú con opciones necesarias únicamente para servicio
Enfocar	Presionando el botón pasa al menú Enfocar

Todos los derechos reservados

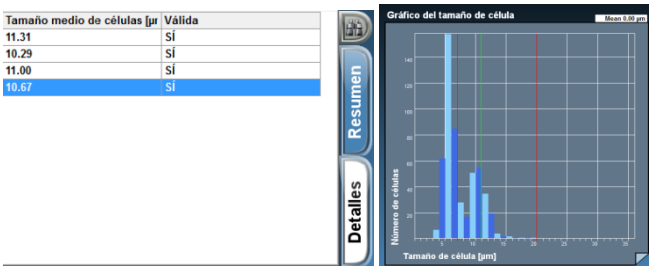
- **Pantalla "Gráficos"**

Pantalla "Gráficas"

Botones principales	Cambiar las pantallas principales del software
Resumen	Resumen de los datos utilizados para hacer las gráficas
	Cambia la fuente de información utilizada para crear los gráficos
Campos del tamaño mínimo y máximo de la célula	Presionando los botones de flecha se ajusta el límite del tamaño de las células incluidas en el resultado final del análisis
Gráficas	Representación gráfica de los datos de análisis. "LagráficaTamaño de la célula" presenta los números de las células de acuerdo con su tamaño. "Lagráfica Muestra" presenta el tamaño y el número de las células que entraron en los cálculos de los resultados del análisis.
Tamaño promedio	Tamaño promedio de las células

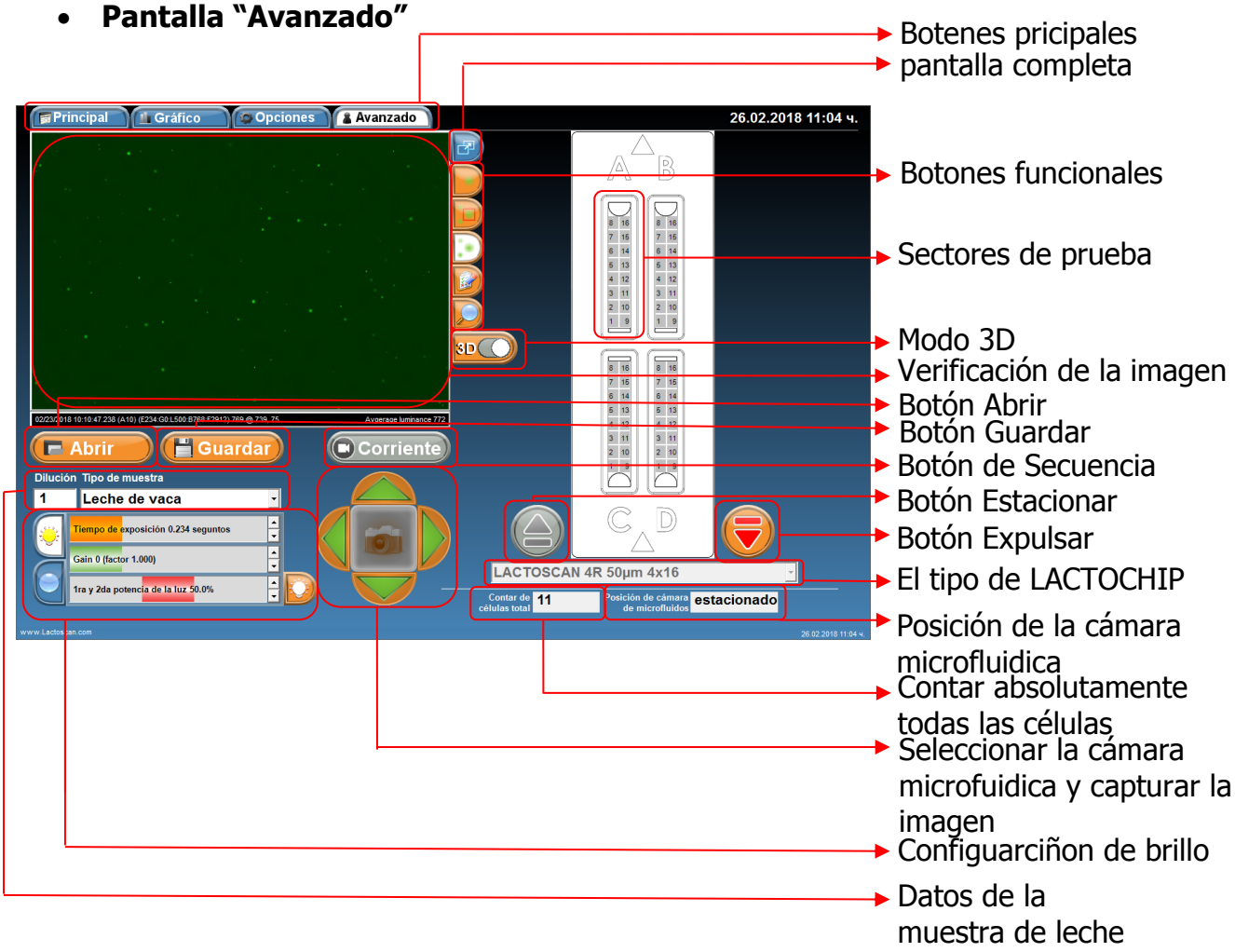
Todos los derechos reservados

Línea verde	Muestra el tamaño promedio de las células
Columna roja	Muestra una imagen que no está incluida en el cálculo del resultado final. En la tabla de datos del análisis la imagen está marcado con NO en la columna VÁLIDO, por causa de desviación inaceptable respeto aresultado promedio.



Todos los derechos reservados

- **Pantalla "Avanzado"**



Pantalla "Avanzado"

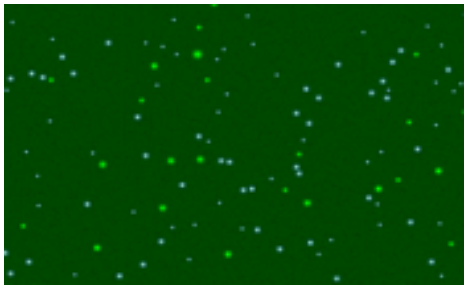
Botones principales Cambiar las pantallas principales del software

Abra la imagen a la pantalla completa y regresa la imagen al modo principal.

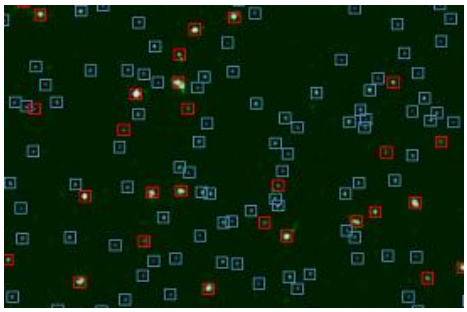
Botones funcionales

Permite al usuario marcar y desmarcar células, seleccionar células, ampliar la imagen pulsando los botones.

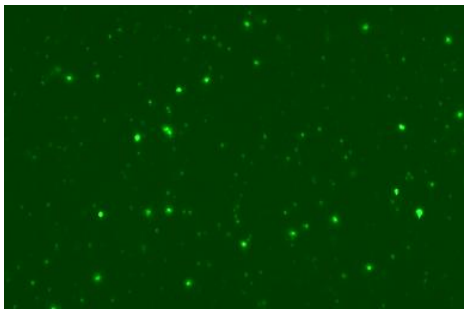
Muestra la imagen editada del software en la cual las células de la mastitis se colorean en verde, las células de la levadura en azul y el fondo se presenta completamente liso.



El software marca todas las células contadas. Las células de la mastitis están marcadas con cuadrado rojo, células de levadura en cuadrado azul.

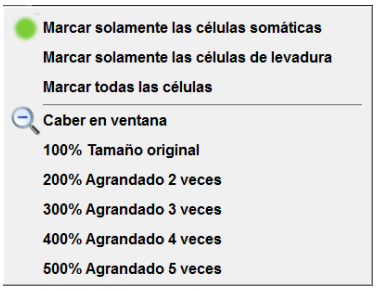


Presenta la imagen real.



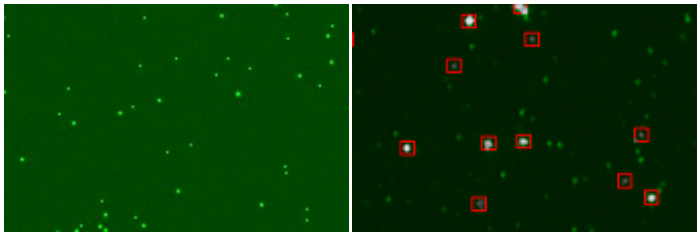
Todos los derechos reservados

Permite al usuario se leccionar si desea ver sólo células de mastitis, células de levadura o todas las células, también para ampliar la imagen



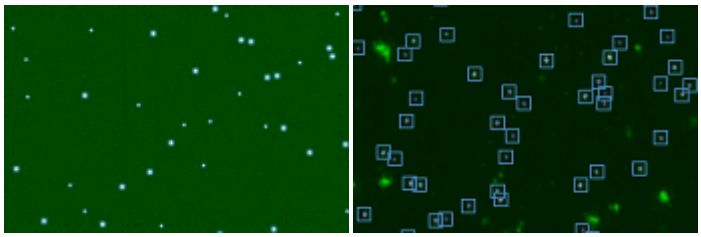
Marcadas son solo células de mastitis.

Imagen editada del Software *Imagen real*



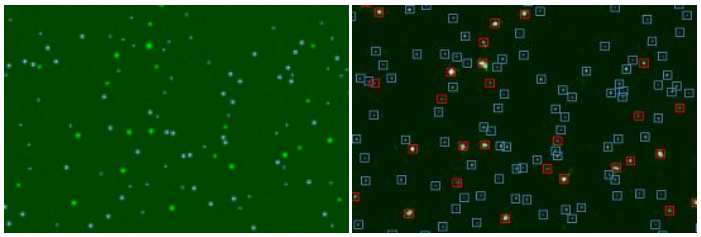
Marcadas son solo células de levadura

Imagen editada del Software *Imagen real*

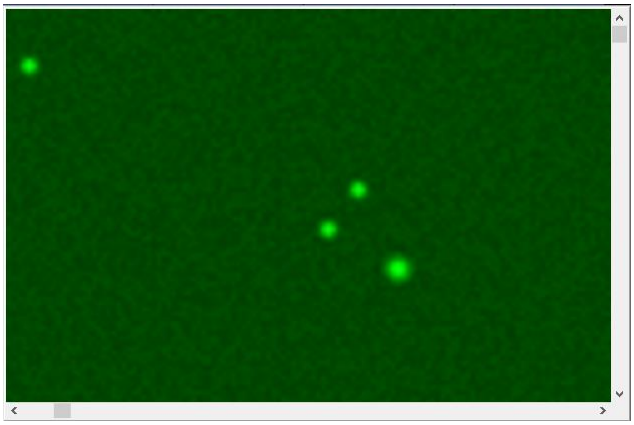
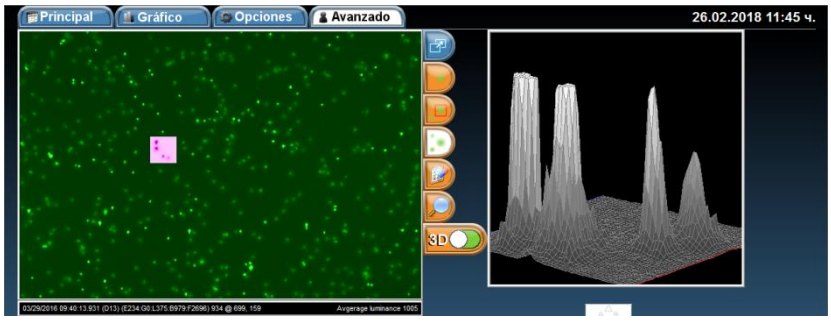


Maradas son todas las células

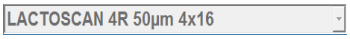
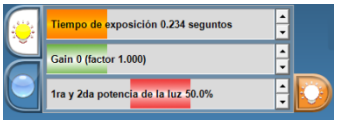
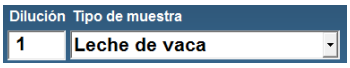
Imagen editada del Software *Imagen real*



 Todos los derechos reservados

	Ampliado 
Sectores de prueba	Permita que el usuario seleccione el sector exacto de la cámara microfluidica que desea probar y examinar en el modo avanzado.
	Examinala imagen de prueba enel modo 3D. 
Verificación de la imagen	Muestra la densidad de las células somáticas en el sector seleccionado.
	Abre una imagende una prueba anterior para un examen posterior en Modo Avanzado.
	Guarda la imagen mostrada en el campo „Verificación de la imagen“
	Estaciona la carruaje con el LACTOCHIP cargado.
	Expulsala carruaje con el LACTOCHIP.

 Todos los derechos reservados

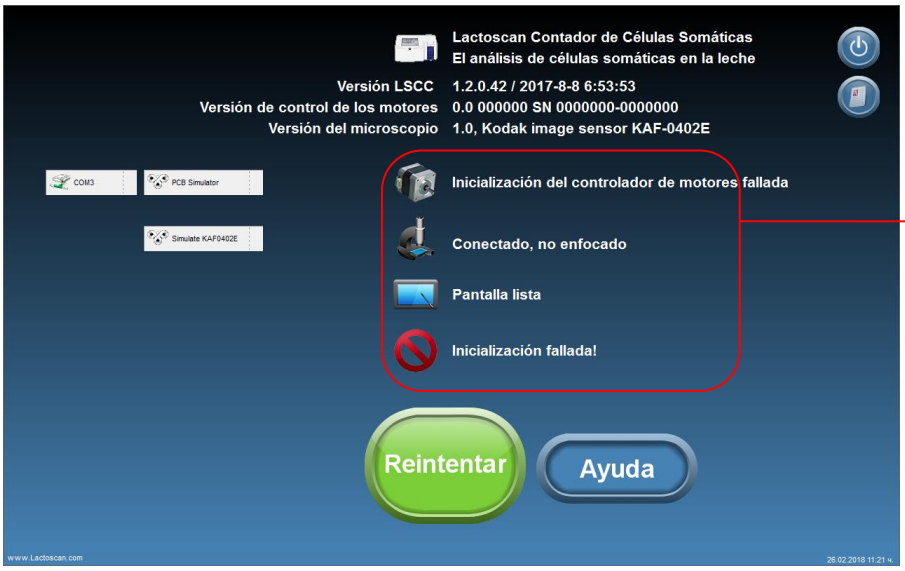
	Seleciona el tipo del LACTOCHIP.
	Muestra la posición de la carruaje con la camara microfluidica / LACTOCHIP.
	Muestra las células contadasde la imagen del sector de prueba seleccionado.
	Usando las flechas el usuario puedese leccionar el sector de prueba de la camara microfluidica y presionando el botón de captura puede hacer una foto.
	Permite realizar cambios manuales o automáticos de brillo, potencia de la luz y enfoque.
	Introducir informacion sobre la dilucón y el tipo de muestra examinada.

 Todos los derechos reservados

Preparación para trabajar con LACTOSCAN SCC COMPACT

La secuencia en la preparación para trabajar con LACTOSCAN SCC COMPACT:

1. Coloque el equipo sobre una superficie lisa, nivelada, seca, sin nada de su alrededor (10 cm; 4 pulgadas).
2. Asegúrese de que la fuente de alimentación eléctrica es igual a la necesaria y conecte el cable a la entrada en el panel trasero. El uso de fuente de alimentación eléctrica inadecuada puede dañar el equipo.
3. Coloque el enchufe a la red eléctrica.
4. Pulse el botón ON / OFF, situado en el panel trasero del analizador y espere un minuto para cargarse el equipo.
5. Encienda la pantalla utilizando el botón ON / OFF colocado en su lado superior.
6. LACTOSCAN SCC COMPACT carga el software y realiza una prueba de diagnóstico independiente, incluyendo todos los componentes ópticos. Si se encuentra un problema durante la verificación con cualquier de los componentes, el programa no permitiría continuar a la pantalla principal y mostrará donde se encuentra el problema.



Problemas relacionados con la óptica, la mecánica y la operación

Los problemas pueden ser causados por desconexión de los cables, falta de la fuente de alimentación o un fallo del software durante el proceso de encender. Para eliminarlos es necesario actualizar el programa pulsando el botón Reintentar (inténtelo de nuevo).

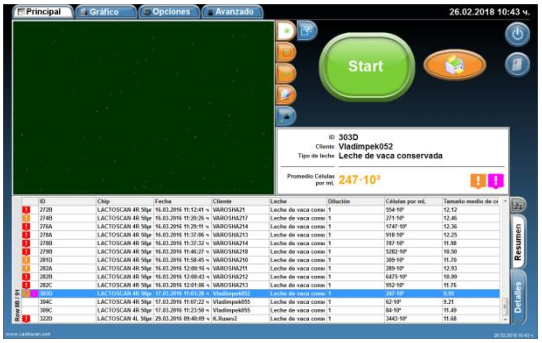
7. Pulse el botón

para abrir una instrucción de ayuda para verificar los cables.

Si el problema no se resuelve, póngase en contacto con su distribuidor local o www.lactoscan.com/service.

Todos los derechos reservados

8. Pasar a la pantalla Principal pulsando el botón Continuar



Preparación de muestra para análisis

Para preparar una muestra para análisis se necesita:

- Lechecruda;
- LACTOSCAN SCC COMPACT KIT;
- 2 uds. Pipetas automáticas.

Atención!
Para obtener resultados precisos de referencia, se deben cumplir los requisitos de muestre o especificado sen lanorma ISO 707 | FIL 50.

Atención!
La precisión del ensayo depende de la aplicación correcta de todas las etapas de preparación de la muestra y su buena mezcla. Para minimizar la diferencia de los resultados de varias pruebas en la misma muestra de leche, siempre mezcle bien la muestra antes de tomar una parte de ella. La muestra es representativa solamente cuando está bien mezclada.

Etapas:

1. Preparación de la leche cruda:
Es obligatorio usar leche cruda, que puede ser acabo de ordeñado, o conservada en temperatura ambiental de 15-25^{0}C. Se necesita el volumen mínimo de 30 ml.

Atención!
De acuerdo con **el Estándar Internacional ISO 13366-1DF|148-1:2008**, para obtener los mejores resultados, debe respetarse los siguientes principios:

Si las muestras son sin conservante, deben ser medidos dentro de las 6 horas después del ordeño.

Si las muestras no pueden ser medidos en el curso de estas 6 horas, deben ser conservados con Bronopol ($C_3H_6BrNO_4$), Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) o Formalina ($H_2C=O$) en cantidades especificadas en las normas de toma de muestra para análisis. La concentración final de Bronopol no debe exceder de 0,05 g por 100 ml de muestra de prueba. La concentración final de dicromato de potasio no debe exceder de 0,1 g por 100 ml de muestra de prueba. Pueden almacenarse en un refrigerador de 4 °C no más de 6 dias.

Recomendamos usarse Bronopolcomo el preservador de la leche!

Todos los derechos reservados

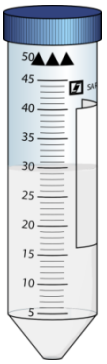
Antes delensayo, las muestras deben ser calentadas hasta 40 °C y enfriadas hasta 20 °C y después mezcladas con cuidado por el mezclador MiniVortex. Cuando la leche está en un refrigerador, los glóbulos de grasa salen en la superficie y la mayoría de los leucocitos se adhieren a ellos, y por lo tanto las células somáticas suben junto con los glóbulos de grasa. A menudo, si la muestra no se calienta hasta 40 °C y no se enfría hasta 20 °C, no es posible mezclarse bien, lo que lleva a una distribución desigual de las células somáticas en el volumen de la muestra. A continuación, los resultados variarán.

Las muestras conservadas deben almacenarse en una nevera no más de 5-6 días.

La muestra debe ser no más de 50 ml, y no debe llenarse la botella con el fin de permitir más fácil mezclarse con el mezclador Vortex o por la mano.

Atención!
Si el análisis no se realiza dentro de las 3-4 horas después del ordeño, es necesario que conservar la leche. Cuando se conserva la leche cruda, se recomienda el uso de conservantes **formol, bronopol** o **dicromato de potasio**.

Atención!
Si la leche conservada está enfriada por debajo de 10 ^{0}C, debe ser templado naturalmente a temperatura ambiental 15-25^{0}C. Leche recién ordeñada, no es necesario ser enfriado o calentado.



Atención!
No utilizar para análisis leche cruda o conservada con una acidez por encima de:

- 18 °T (Therner) para leche de vaca
- 17 °T para leche de búfala
- 16 °T para leche de cabra
- 22 °T para leche de oveja

Atención!
En caso de medir leche con grasa más de 5%, por ejemplo leche de búfalo, es necesario diluir con agua la muestra de leche en proporción 1:1.Luego se toman 100 µL y se añaden al tinte liofilizado. Adicionar agua, evita las dificultades de entrada de la muestra de leche en la cámara microfluidica.

Utilizando la mezcladora Mini Vortex agite la muestra de leche cruda. Situando la punta del envase en la mescladora, pulse y mantenga pulsado durante 1-2 segundos, (ver 1, 2, 3.). Repita 3-4 veces prestando atención de que durante el proceso de agitación la muestra no llegará a la tapa del envase.

Todos los derechos reservados

1.1

1.2

1.3

2. Gotear 100 µL de leche cruda en el micro-tubo con SOFIA GREEN tinte liofilizado:

Tome un micro tubo que contiene SOFIA GREEN tinte líquido, ábralo y colóquelo sobre el soporte.

Atención!
Antes de empezar a trabajar con las pipetas automáticas, lea cuidadosamente su manual de instrucciones. Haga unos ensayos chupando y pipeteando agua con el fin de comprender en qué momento llega el primer y el segundostop del botón de trabajo.

Tome una pipeta automática previamente ajustada a 100 µL. Asegúrese de que el cono frontal de la pipeta está limpio. Póngala verticalmente por encima de una punta de la caja para pipeta automática e inserte el cono de la pipeta en la entrada de la punta presionando suavemente.

Desde la posición inicial (ver 2.1), apriete el botón de trabajo de la pipeta hasta que se alcanza el primer stop (ver 2.2), mantenerlo apretado y sumerja 2-3 mm de la punta en la leche (ver 2.3). Suavemente suelte el botón y retire la punta del líquido. Toque las paredes de la botella para eliminar el exceso de leche (ver 2.4, 2.5).

2.1

2.2

2.3

2.4

2.5

Gotea lalecheen un micro-tubo ya abierto presionando suavemente el botón de trabajo de la pipeta desde la posición inicial hasta el primer stop (ver 2.6, 2.7). Después de un corto período de tiempo, presione el botón al segundo stop (ver 2.8). De esta manera vaciará la

punta y garantizará el pipeteado preciso. Siempre gotea la leche sin sumergir la punta en el tinte liofilizado.

Suelte el botón a su posición inicial (ver 2.9)

2.6

2.7

2.8

2.9

3. Agitar la muestra:

Cierre el micro-tubo con el tinte SOFIA GREEN y la muestra de leche. Tómelo del estante y coloque su punta en la abertura delamezcladora Mini Vortex. Pulse y mantenga pulsado durante 1-2 segundos y aparte. Repita 8-9 veces cuidando que la solución no llegue hasta la tapa del micro-tubo. (Ver 3.1, 3.2 y 3.3).

3.1

3.2

3.3

4. Interacción de la leche con el tinte:

Se necesita 1 minuto para esta interacción. Si es menos de 1 minuto o más de 20, el resultado del análisis puede ser con una desviación 2-3%.

5. Repetida agitación de la leche

Tome el micro-tubo que contiene la muestra y coloque su punta en la abertura del agitador MiniVortex. Pulse y mantenga pulsado durante 1-2 segundos, retire. Repita 3-4 veces cuidando mientras agitar que la solución no llegue hasta la tapa del micro-tubo. (Ver 3.1, 3.2 y 3.3).

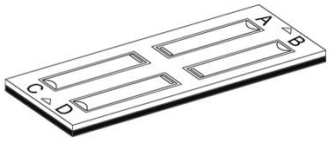
Atención!

Todos los derechos reservados

Si han pasado más de 5 minutos de colocación de la leche dentro del micro-tubo con tinte SOFIA GREEN, la muestra debe estar agitada por el Mini Vortexotra vez, antes de llenar el LACTOCHIP.

6. Gotear una muestra de 8 µL en la cámara de micro-fluidos del LACTO CHIP x4:

Abra un LACTOCHIP x4.



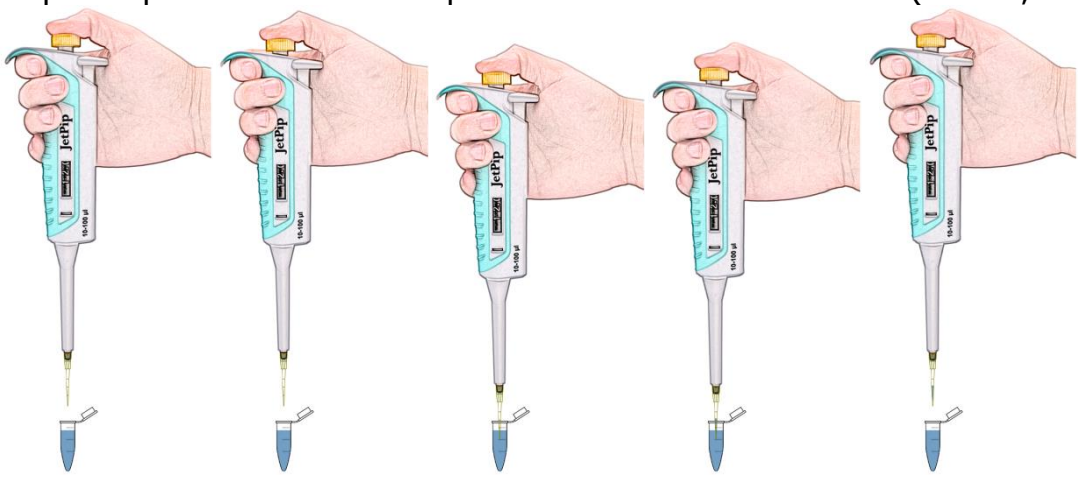
Atención!
No toque la superficie superior del LACTOCHIP x4. Tómalo por sus bordes laterales.

Para colocar la muestra dentro la cámara de microfluidos LACTOCHIP x4, tome una pipeta automática previamente ajustada de 8 µL.

Asegúrese de que el cono frontal de la pipeta está limpio. Colóquelo sobre una punta ya preparada e inserte el cono de la pipeta en la abertura de la punta presionando suavemente.

Abra el micro-tubo que contiene la solución.

Desde la posición inicial (ver 6.1), pulse el botón de trabajo de la pipeta hasta que se alcanza el primer stop (ver 6.2), mantenerlo pulsado y sumerja 2-3 mm de la punta en la solución (ver 6.3). Suavemente suelte el botón de trabajo y retire el punta del líquido. Toque las paredes de la botella para eliminar el exceso de leche (ver 6.4, 6.5).



6.1 6.2 6.3 6.4 6.5

Ahora hay 8 µL de solución en la punta.

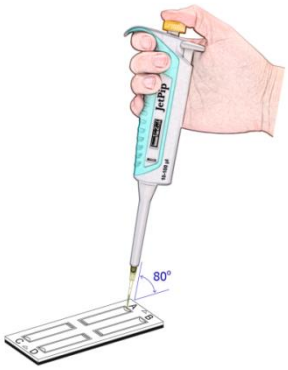
Tome el LACTOCHIP x4 por sus bordes laterales.
Gotea la solución en un ángulo aproximadamente 80^0 en el orificio con la forma semicircular.Presiona suavemente el botón desde la posición inicial hasta el primer stop

 Todos los derechos reservados

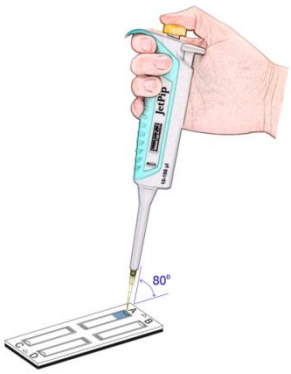
(ver 6.6, 6.7). Mantenga apretando el botón en primer stop, retire la pipeta del LACTOCHIP y suavemente suelte el botón a la posición inicial (ver 6.8).
De esta manera va a vaciar la punta y asegurar un trabajo adecuado.

Atención!
No utilice el segundo stoppara evitar entrada delaire en la cámara de microfluidos.

Atención!
Evitar formar burbujas en la cámara de microfluidos y salpicaduras.



6.6



6.7

6.8

Para cargar las cámaras restantes de LACTOCHIP x4, repita el procedimiento descrito en puntos 1 - 6 rellenando consecutivamente las cámaras de micro-fluidos de A-D.

Atención!
Se recomienda el uso de todas las cámaras de microfluidos a la vez. Si utiliza sólo 1 o 2, almacene el LACTOCHIP x4, teniendo cuidado de no contaminarlo con polvo o otros tipos de contaminación para evitar resultados falsos.

Atención!
Se recomienda colocar LACTOCHIP x4 ya cargado dentro del equipoe iniciar los análisis en máximode1 minuto. El retraso puede causar resultados inexactos debido a la evaporación de la muestra y la entrada delaire en la misma.

7. El inicio de los análisis:

Coloque la muestra cargada con LACTOCHIP x4 en el bandeja del LACTOSCAN SCC COMPACT. Usando el software, inicie el análisis.

8. Tirar los residuos:

Todos los derechos reservados

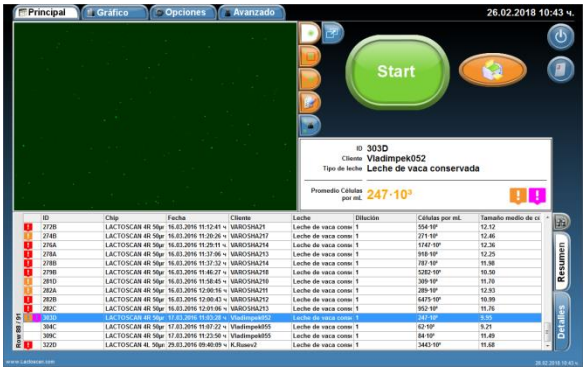
Usando el botón "quitar la punta", retire la punta dentro del micro-tubo con la muestra. Deseche el micro-tubo con el residuo de la muestra, la punta y el LACTOCHIP utilizado para el análisis en un recipiente apropiado.

Todos los derechos reservados

Analizar la muestra

1. Pulse

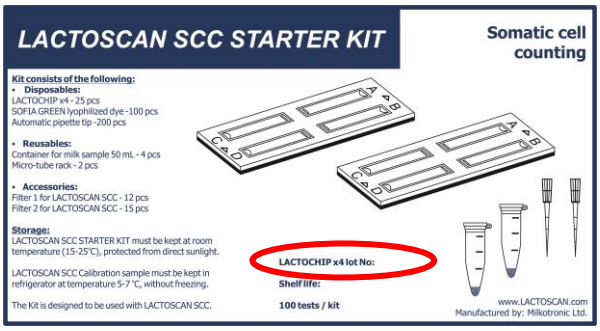
en la pantalla principal para introducirlos datos de la muestra.

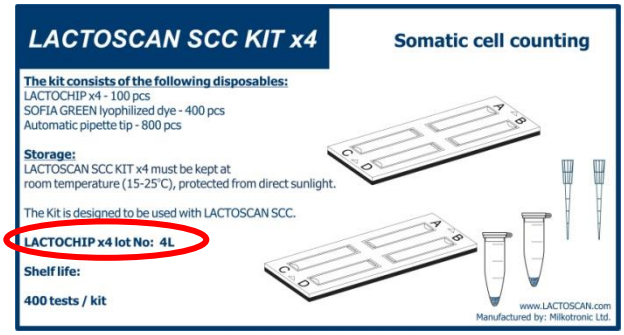


2. Elija el tipo del chip del menú desplegable LACTOSCAN 4R 50µm 4x16

Atención!

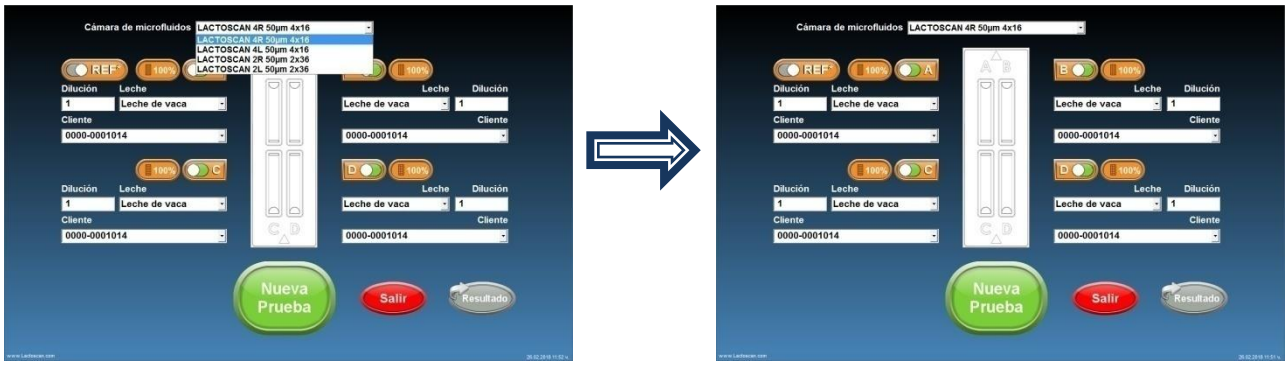
Antes de comenzar a trabajar con el LACTOSCAN SCC COMPACT KIT, debe verificar la letra del LACTOCHIP. Esta puede ser L o R. La letra L significa LACTOCHIP 4L y la letra R significa LACTOCHIP 4R. Las letras del LACTOCHIP coinciden con los datos dados en el programa para el LACTOCHIP. Un LACTOSCAN SCC COMPACT KIT contiene chips solo con la letra L o solo con la letra R.





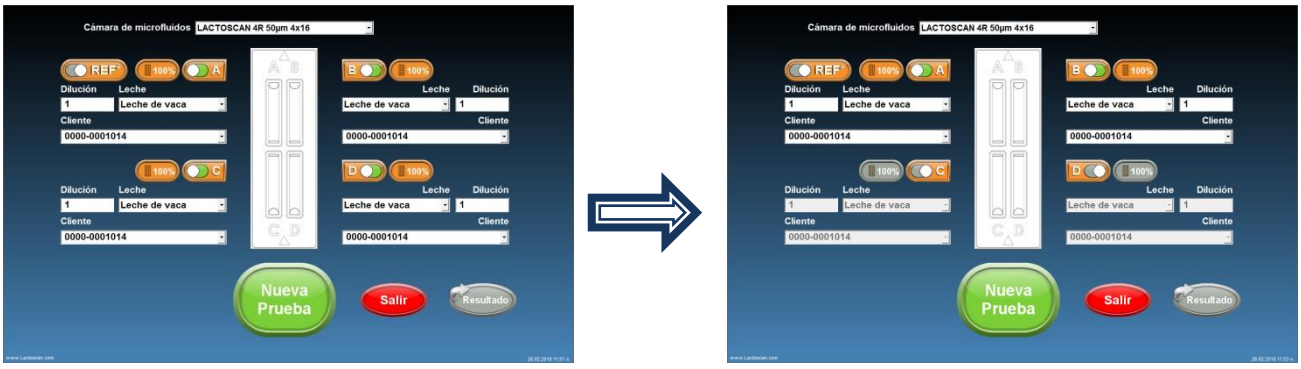
En nuestro ejemplo elegimos LACTOSCAN 4R 50µm 4x16 para LACTOCHIP 4X16 con grosorde las cuatro cámaras microfluídicas de 50 µm

 Todos los derechos reservados

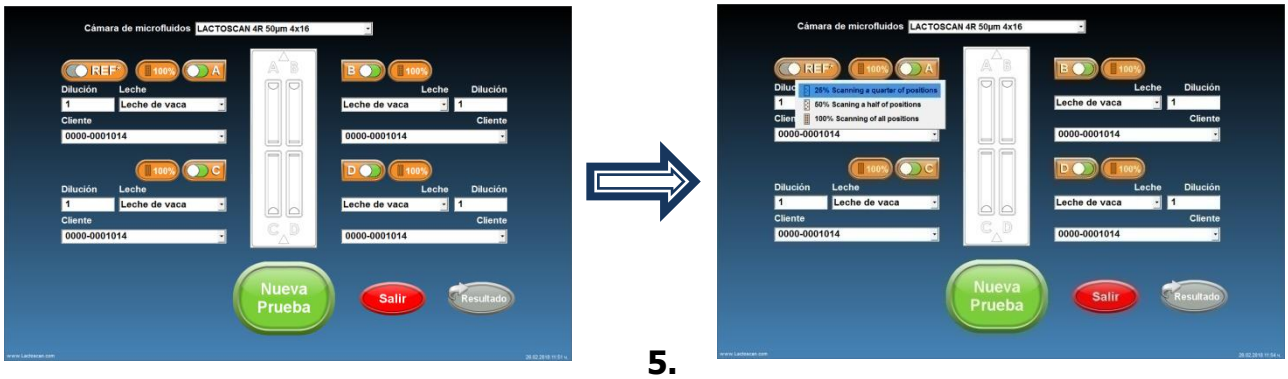


3. Todas las cámaras micro-fluídicas del LACTOCHIP están se leccionadas. Si desea utilizar sólo 1 o 2, usando el botón **anule las cámaras que no va a utilizar en esta prueba.**

En nuestro ejemplo anulamos C y D.



4. Para un análisis rápido, pulse **y seleccione una prueba del menú desplegable. Puede seleccionar la prueba "Escanear 25% de las posiciones", prueba "Escanear 50% de las posiciones", prueba "Escanear 100% de las posiciones".**



5. Complete el valor del multiplicador de dilución en el campo **bajo de Dilución.**

Atención!
El valor de multiplicador de dilución depende del contenido de grasa en la leche.

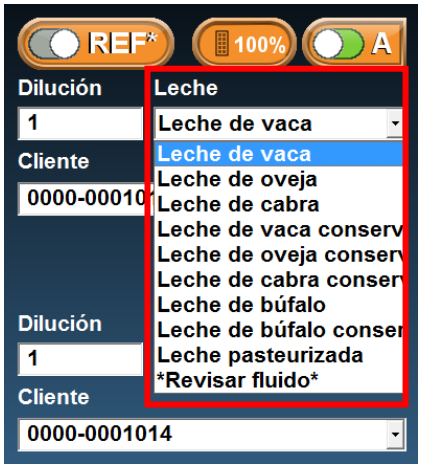
Para leche con grasa:

- Hasta 5%, el valor del multiplicador de dilución es 1, la leche se añade directamente al tinte liofilizado en el micro-tubo.

- Por encima de 5%, el valor del multiplicador de dilución es 2, por ejemplo la leche de búfala, es necesario diluir la muestra con agua en proporción 1:1. Luego se toman 100 µL y se añaden al tinte liofilizado. Añadir agua evita el riesgo de dificultarla entrada de la muestras en la cámara de microfluidos.

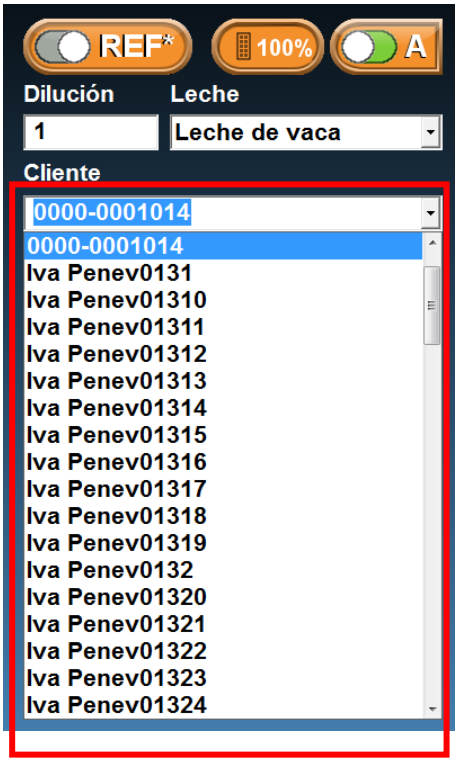
Atención!
No olvide cambiar el multiplicador de dilución en el campo "Dilución" al trabajar con leche que contiene grasa más de 8% y añadir agua destilada.

6. Elija el tipo de la leche del menú desplegable.



7. Introduce el nombre del cliente o seleccione delmenú desplegable.

 Todos los derechos reservados



8. Después de introducir la información de todas las muestras, pulse

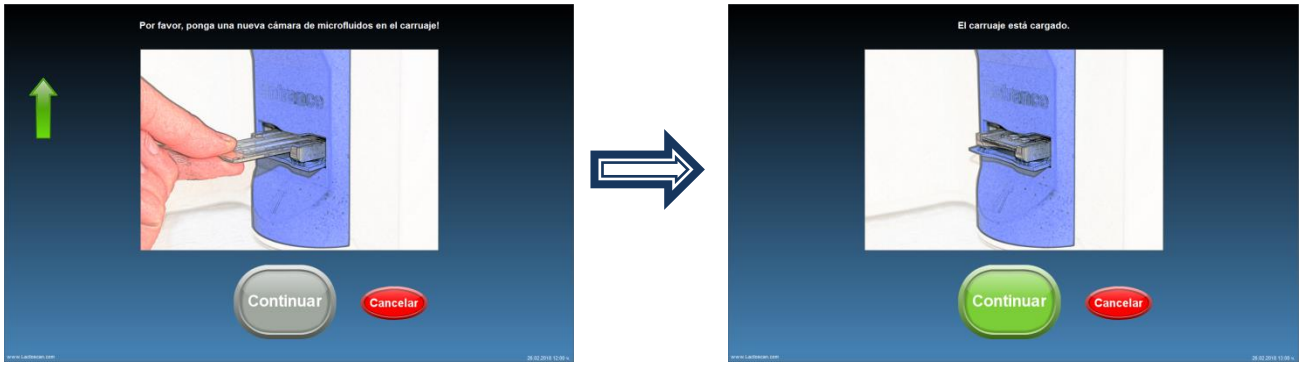
para continuar con el análisis. En la pantalla aparecerá un mensaje, mostrando que elbandeja para colocar el LACTOCHIP, sale por la puerta. Si presiona

volverá a la pantalla principal.

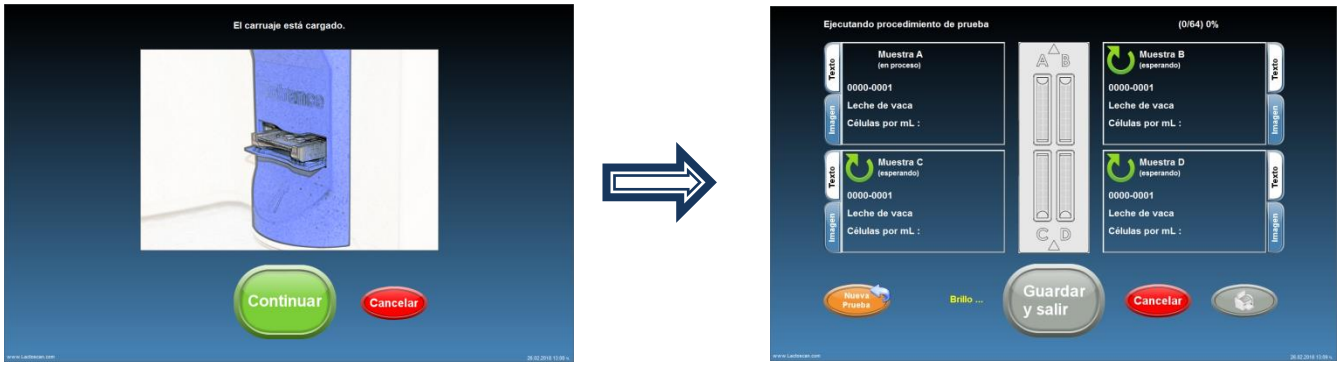
 Todos los derechos reservados

9. Coloque el LACTOCHIP en el carruaje y pulse

.

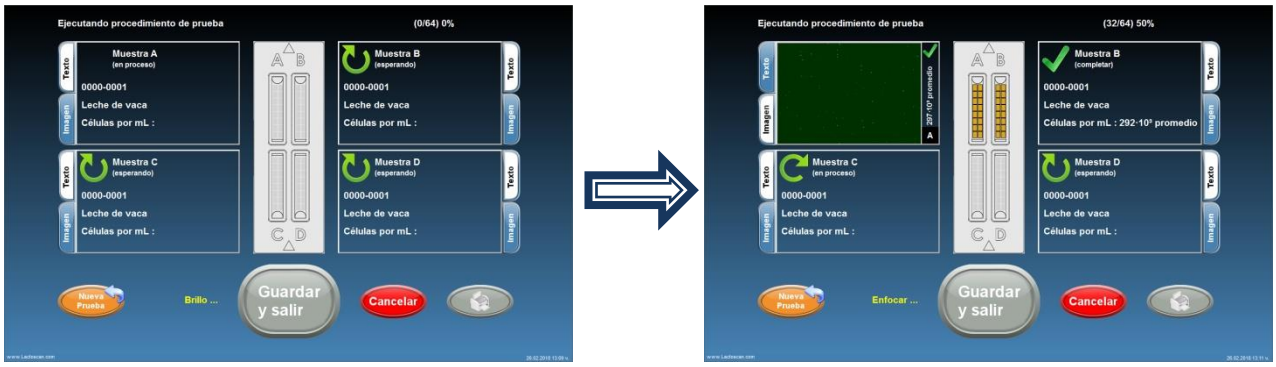


10. El equipo está realizando el análisis de las muestras.



11. Si desea ver la imagen de prueba en tiempo real, presione

.



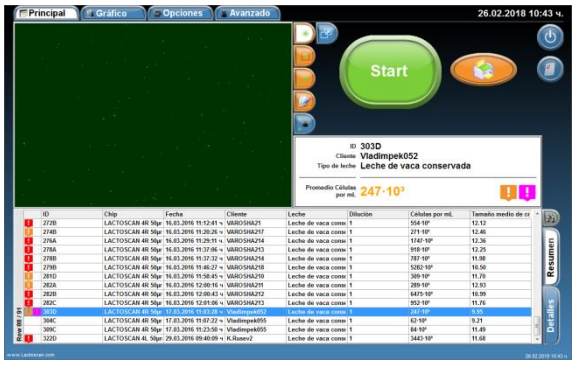
 Todos los derechos reservados

12. Para imprimir los resultados, pulse **.**

13. Para guardar los resultados y continuar el análisis de las muestras nuevas, pulse **o si desea pulse** **para continuar el análisis de las muestras nuevas, sin guardar los resultados.**

14. Retire el LACTOCHIP.

15. Para volver a la pantalla Principal, pulse **.**



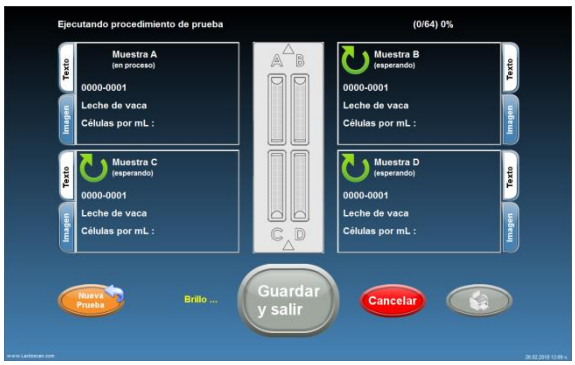
Introducción de datos de nuevas muestras durante el proceso de análisis

El software de LACTOSCAN SCC COMPACT permite introducir datos para nuevas muestras durante el proceso de análisis de las muestras ya introducidas en LACTOCHIP.

Para hacer esto:

1. Presione

y pasará a la forma de introducir datos de las muestras.



Los datos de las muestras que se están analizando por el momento se guardan para facilitar el trabajo del usuario que tiene que analizar muestras del mismo tipo de diferentes clientes o de animales iguales.

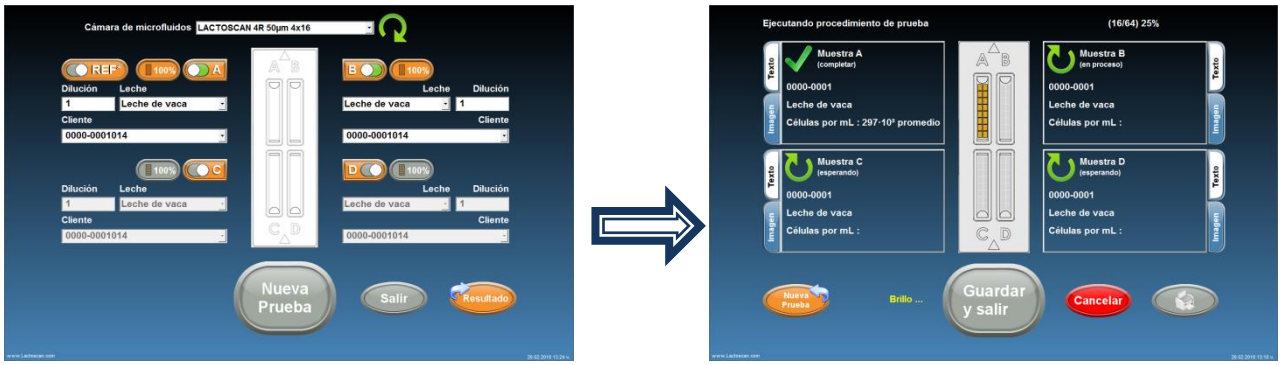
2. Introducir los datos de las nuevas muestras.

El colorgris significa que el análisis anterior no ha terminado. En este caso, espere que el análisis termine y el botón

se active, o vuelva a la pantalla con el análisis actual.

3. Presione

, para volver a la pantalla con el análisis actual.

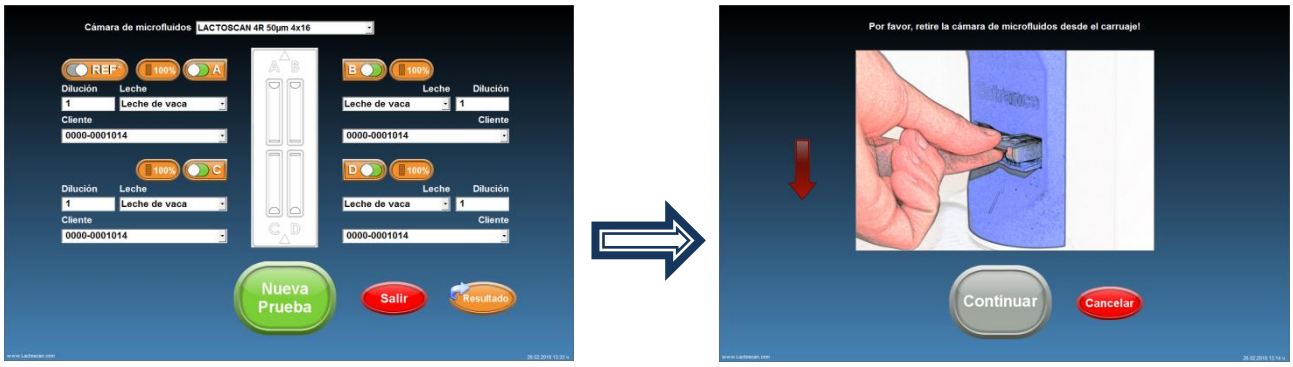


4. Presione

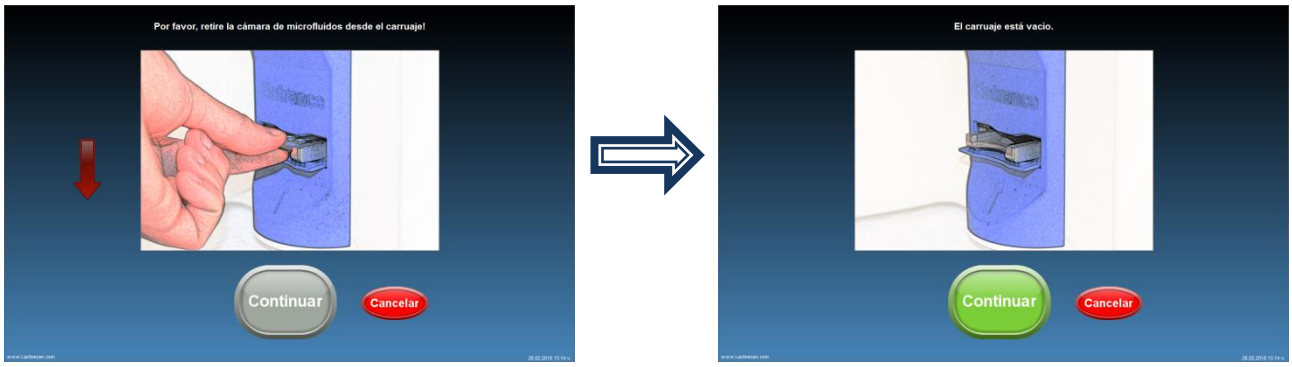
, para pasar directamente a los nuevos análisis.

Al presionar

, los resultados se guardan automáticamente en la base de datos del equipo. Además, el software pide que retire el LACTOCHIP de análisis anterior.



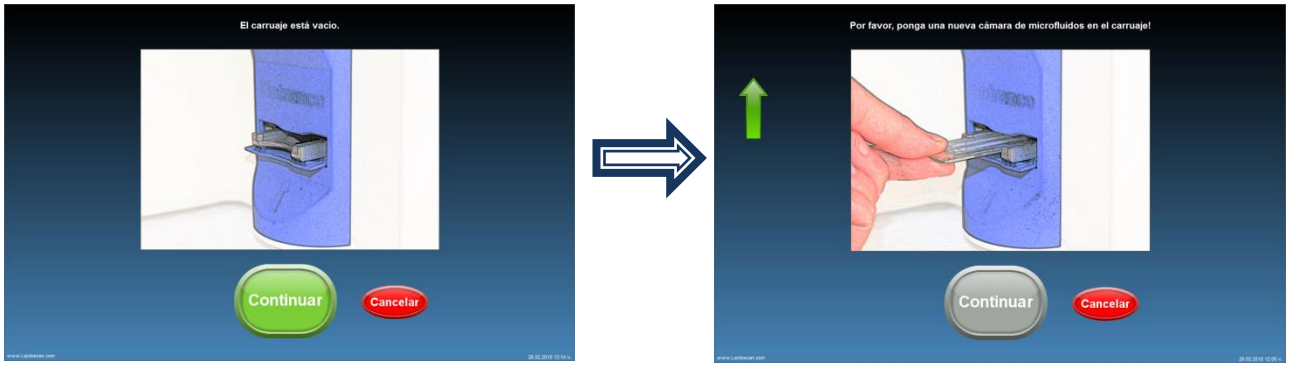
5. Retire el LACTOCHIP con las muestras del análisis anterior.



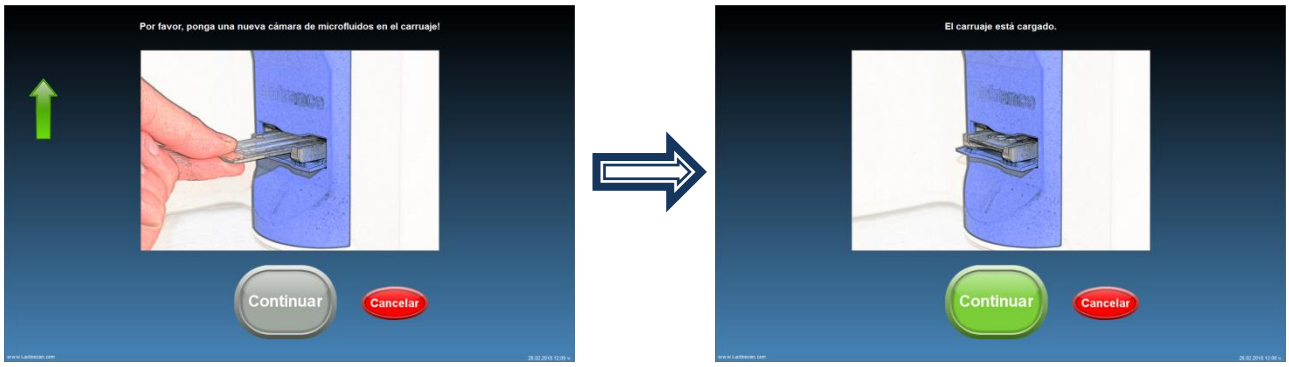
6. Presione

. El software solicita colocar el LACTOCHIP con las muestras y sudatos ya introducidos.

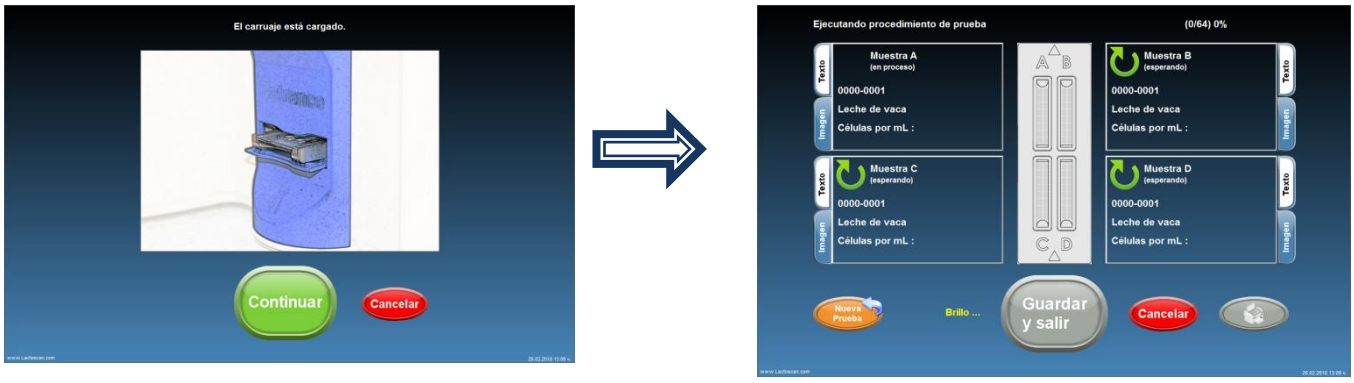
 Todos los derechos reservados



7. Coloque el LACTOCHIP con las muestras con datos ya introducidos.



8. Pulse Continuar para iniciar el análisis.



Análisis referencial de las muestras

Para obtener resultados con la precisión referencial en el conteo de las células somáticas, utilizando el LACTOSCAN SCC COMPACT, deben seguirse los siguientes pasos.

1. Toma de la muestra:

Las muestras deben ser tomadas según el método recomendado para toma de muestras en ISO 707|IDF 50.

2. Conservación de las muestras:

Las muestras deben ser conservadas según las recomendaciones de ISO 13366-1 | IDF 148-1:2008, página 4.

"7.1 Conservación

Antes del ensayo o la conservación, mantenga las muestras a una temperatura de 4 °C ± 2 °C.

Analice las muestras hasta 6 horas después de tomadas. En caso de un mayor tiempo de conservación, agrega un conservante químico como Bronopol o dicromato de potasio. La concentración final de Bronopol no debe ser superior a 0, 05 en 100ml. de la muestra. La concentración final de dicromato de potasio no debe ser superior a 0, 1g en 100ml de la muestra. Mantenga las muestras conservadas de esta forma, a una temperatura de 4 °C ± 2 °C por un periodo de tiempo no mayor de 6 días.

Por principios ecológicos se recomienda el uso limitado de dicromato de potasio en muestras que requieran un largo periodo de uso.

Atención! El Bronopol es el conservante recomendado en muestras analizadas con el LACTOSCAN SCC COMPACT.

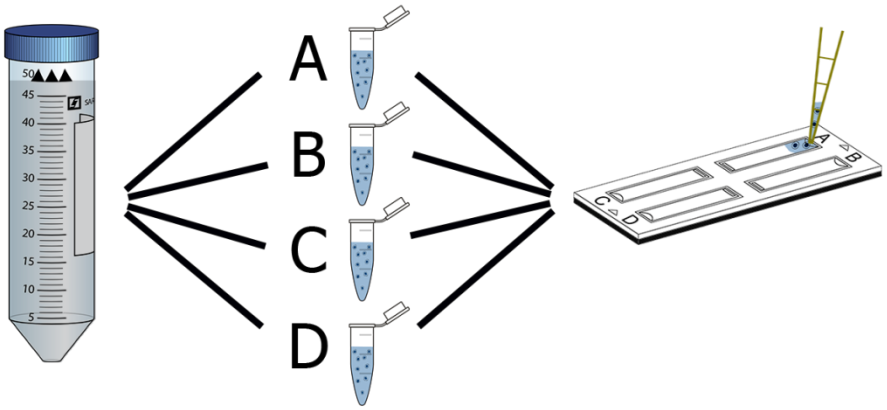
3. Procedimiento en la preparación de las muestras recomendado por IDF laboratorio referente:

Calentar la muestra en baño de maría a una temperatura entre 38 y 40°C (100 – 104°F) por un tiempo de 10 minutos. Agitar enérgicamente durante 2 minutos y después sumergir el recipiente en baño de maría durante otros 10 minutos. Enfriar la muestra a 20 °C.

4. Análisis:

Para realizar el análisis son necesarios los siguientes bienes de consumo: 1 x LACTOCHIP X4, 4 x recipientes cont tinte Sofia Green y 8 x puntas de pipeta.

 Todos los derechos reservados



- Después de preparar la muestra, tomar 100ml de la muestra y colocarla en el recipiente. Hacer eso 4 veces en total para las cuatro cámaras del chip.
- Encubar durante 5 minutos removiendo periódicamente.
- Después de la incubación remover por última vez y tomar 8ml de la muestra terminada y colocarla en el LACTOCHIP X4 - Hacer eso 4 veces en total, cada vez tomando prueba de nuevo recipiente

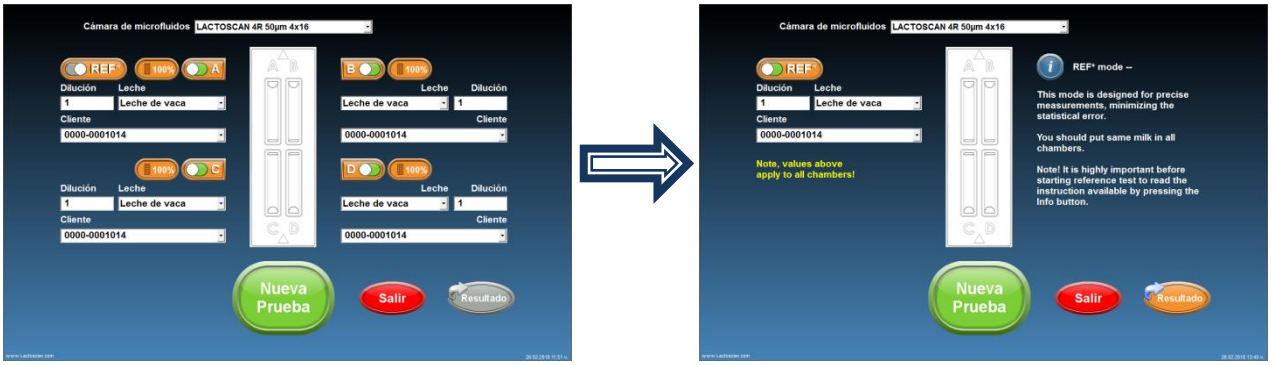
El proceso de preparación de una sola muestra para análisis se describe en el capitulo "Preparación de muestra de análisis."

Atención! Una nueva punta de pipeta debe ser usada en la preparación de cada una de las 4 muestras y una nueva punta debe ser usada e el pipeteado de la muestra en las cámaras A, B, C y D.

- Enfocar a un lado durante 30 segundos antes de análisis LACTOCHIP X4 para permitir que las células dejen de moverse dentro de las cámaras.

- En régimen de Análisis presione el botón

, para escoger "Régimen referente de análisis".

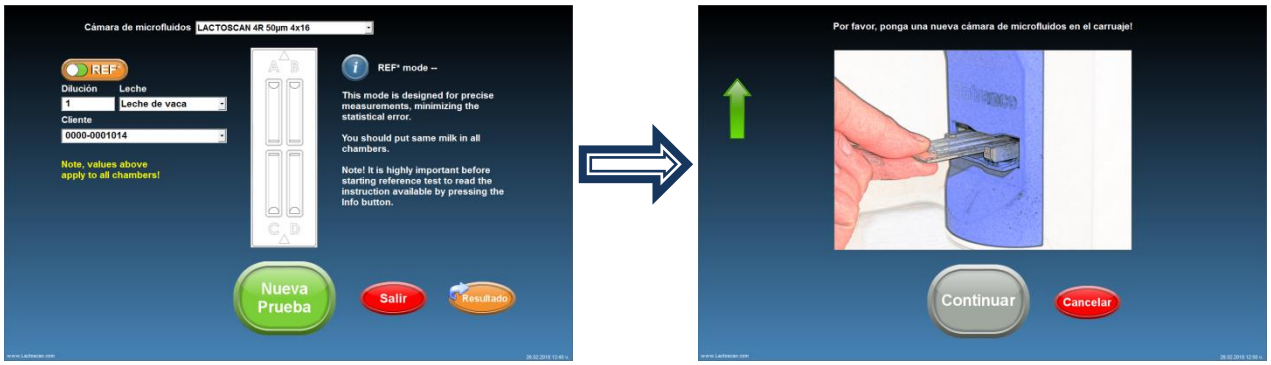


 Todos los derechos reservados

- Llenar los datos de la muestra de leche analizada.

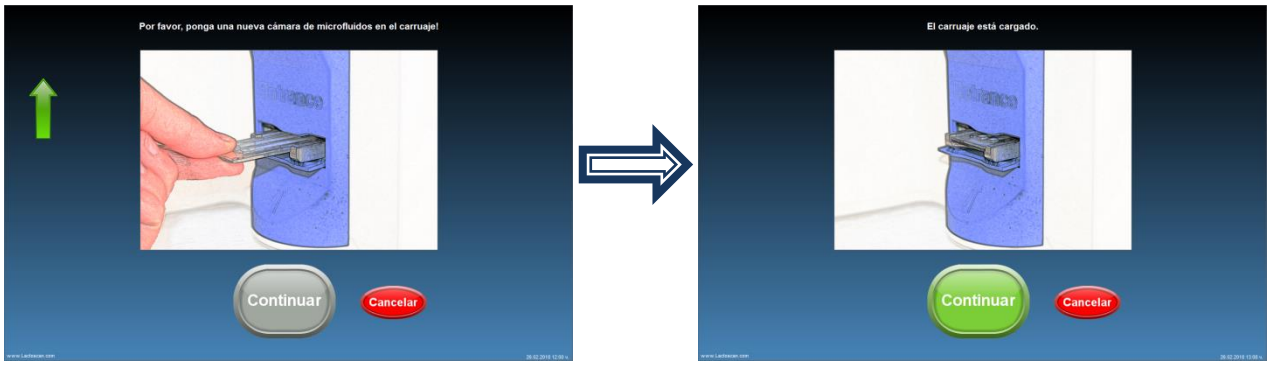
- Presione el botón

para comenzar el análisis.

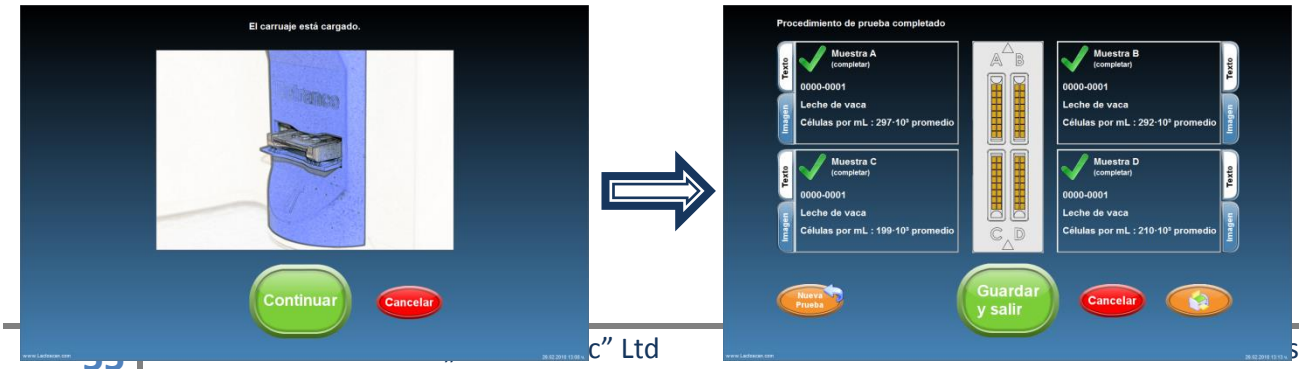


- Colocar LACTOCHIP en el carrito y presione

.



- El equipo analiza la muestra

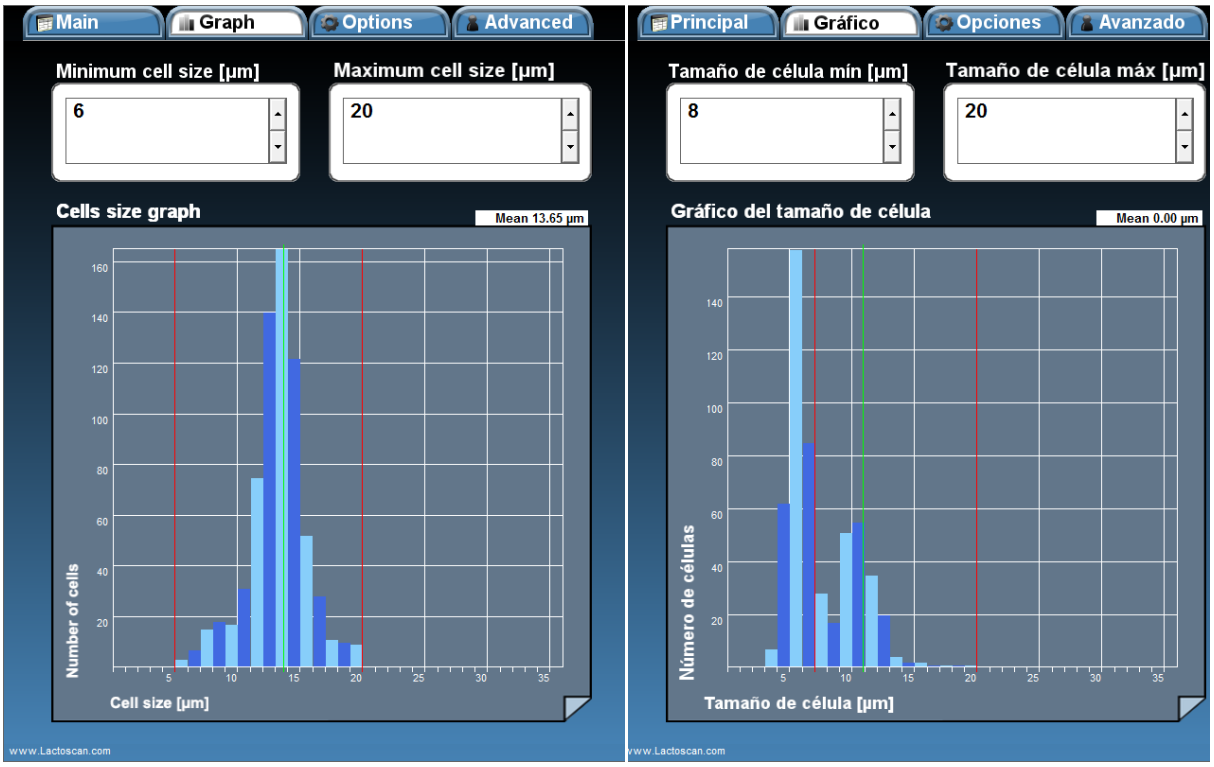


LACTOSCAN SCC COMPACT realiza el análisis y muestra el resultado final. El resultado final es calculado de forma automática. El resultado final promedio se obtiene de los resultados analizados en las cámaras A, B, C, D.

5. Coeficiente de variación (CV) %:

El coeficiente de variación (CV) % se calcula en el régimen de referencia, siguiendo las instrucciones del análisis de referencia. Se determina mediante el análisis de muestras de leche referentes estándar en laboratorios certificados para análisis de leche. Para determinar el coeficiente de variación (CV) % de referencia solamente deben usarse muestras de leche estándar referentes. Si se utilizan muestras de leche no estandarizadas pueden obtenerse desviaciones en el CV %. Las muestras estándar referentes no incluyen gran cantidad de partículas de células y no contienen hongos unicelulares. La presencia de hongos unicelulares puede determinarse fácilmente analizando el gráfico de la muestra de leche. Más abajo encontrará ejemplos de gráfico de leche normal sin hongos unicelulares y gráfico de leche con hongos unicelulares:

Leche normal **Leche con hongos unicelulares**



6. Calculo de coeficiente de variación (CV) %:

Para el cálculo del coeficiente de variación (CV) %, siguiendo el procedimiento, se debe ensayar 10 veces una muestra de leche con una concentración de células somáticas igual a 50000-200000 células/ml, ensayar 10 veces una muestra de leche con una concentración de células somáticas igual a 400000-600000 células/ml y ensayar 10 veces

una muestra de leche con una concentración de células somáticas igual a 800000-1400000 células/ml. Después de esto llevar los resultados a la tabla mostrada más abajo.

Tablas ejemplo:

Vacia

Datos brutos	Muestra 50000-200000 cel/mL 1	Muestra 400000-600000 cel/mL 2	Muestra 800000-1400000 cel/mL 3
Medición 1			
Medición 2			
Medición 3			
Medición 4			
Medición 5			
Medición 6			
Medición7			
Medición8			
Medición9			
Medición10			
valor medio			
desviación estándar			
Coeficiente de variación %			

Llena

Datos brutos	Muestra 50000-200000 cel/mL 1	Muestra 400000-600000 cel/mL 2	Muestra 800000-1400000 cel/mL 3
Medición 1	142,000	571,000	1,153,000
Medición 2	161,000	563,000	1,164,000
Medición 3	147,000	548,000	1,146,000
Medición 4	157,000	530,000	1,142,000
Medición 5	142,000	543,000	1,146,000
Medición 6	145,000	584,000	1,122,000
Medición 7	151,000	558,000	1,100,000
Medición t 8	150,000	584,000	1,154,000
Medición 9	140,000	539,000	1,120,000
Medición 10	145,000	570,000	1,155,000
valor medio	**148000**	**559000**	**1140200**
desviación estándar	6815	18708	19904
Coeficiente of variación %	4.60	3.35	1.75

Fórmulas para calcular:

Valor medio – Todas las 10 mediciones son sumadas y luego divididas en 10 (número de muestras).

La desviación estándar en las estadísticas, típicamente denotada por σ, es una medida de variación o dispersión (se refiere a la extensión de estiramiento o compresión de una distribución) entre los valores en un conjunto de datos. Cuanto menor sea la desviación estándar, más cercanos estarán los puntos de datos a la media (o valor esperado), μ. Por el contrario, una desviación estándar más alta indica un rango de valores más amplio.

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

Donde

xi es el valor de la muestra

$\bar{x}$ es la media de la muestra

N es el tamaño de la muestra

 Todos los derechos reservados

Coeficiente de variación: CV, % = Desviación estándar x 100/valor medio.

La tabla anterior se puede descargar de: https://autocellcount.com/page/coefficient-of-variation

7. Calibración de LACTOSCAN SCC COMPACT:

Para medir las muestras de leche estándar referentes de laboratorios certificados para el análisis de leche y el cálculo del Coeficiente de variación (CV) % LACTOSCAN SCC COMPACT debe ser calibrado de la forma siguiente:

- Minimumcellsize in micrometer : 6 Un tamaño celular mínimo en micrómetro: 6
- Maximumcellsize in micrometer : 20 Un tamaño celular máximo en micrómetro: 20

Menú Opciones permite al usuario crear los parámetros de análisis para distintos tipos de leche.

Todos los derechos reservados

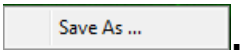
Guardar la foto del análisis en formato .BMP

LACTOSCAN SCC COMPACT al usuario guardar la foto de un análisis ya terminado en el formato .BMP. El formato .BMP es fácil para un uso posterior y puede ser abierto o enviado en cualquier programa Windows.

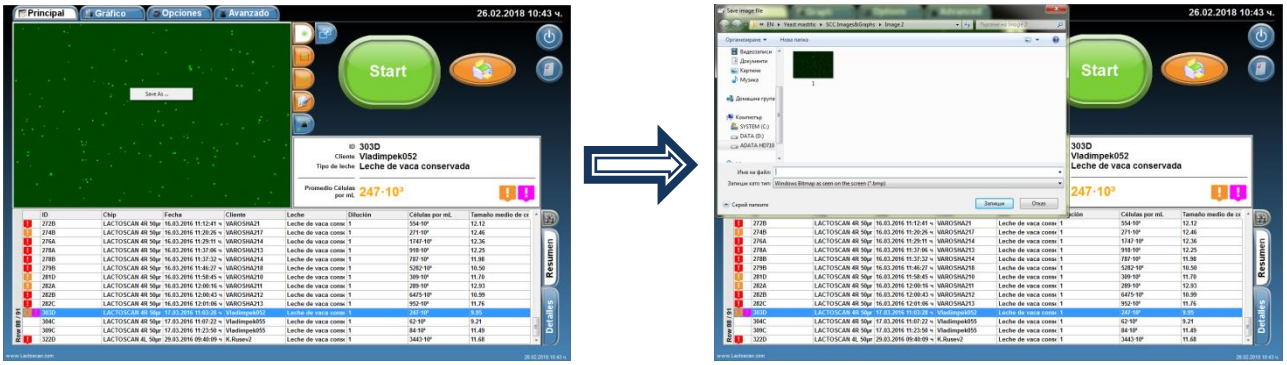
Para hacer eso:

1. Escoja un análisis de la base de:

2. Ir a la foto y pulsar el botón derecho del ratón.

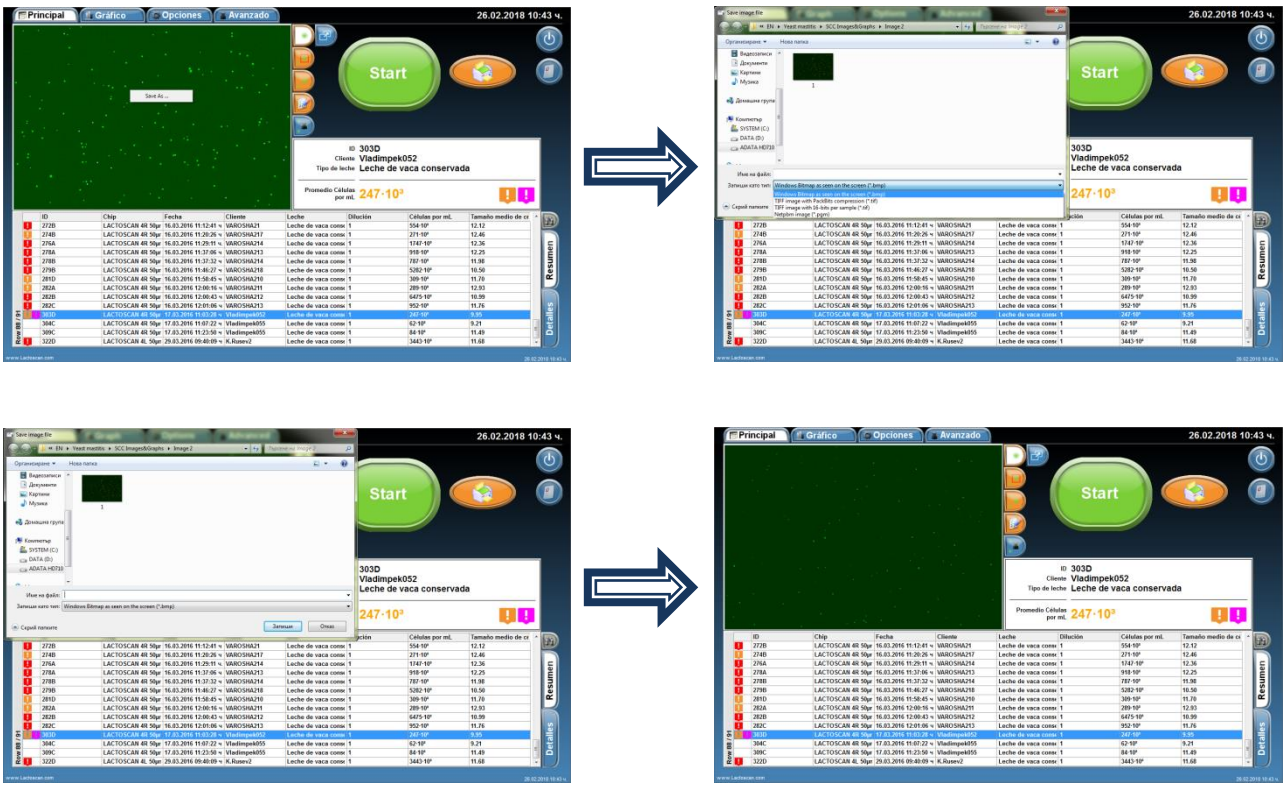
3. Pulsar el botón 

.



 Todos los derechos reservados

4. Escoja la carpeta en la que quiere guardar la foto, escriba al nombre de la foto, escoja al formato .BMP del menú desplegable y pulse el botón SAVE para guardar definitivamente la foto en formato .BMP.

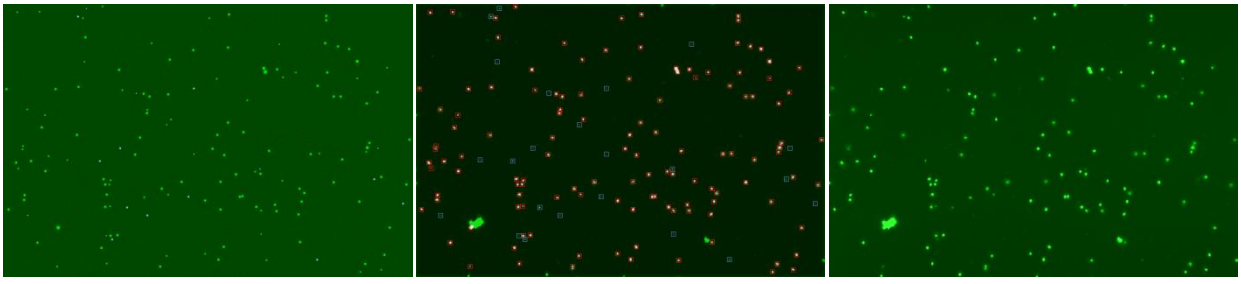


Atención! La foto también puede ser guardada en el formato .TIFF. TIFF es un formato de fotos no elaborado y la foto guardada puede ser elaborada en un software especial sin que la foro inicial pierda su calidad.

Antes de guardar la foto, el usuario puede escoger el régimen de visualización como foto elaborada en software, la foto con células marcadas, foto no elaborada y guardarla en formato .BMP, así como se ve en el software del equipo.

Ejemplos:

Foto elaborada en software Foto con células marcadas Foto no elaborada



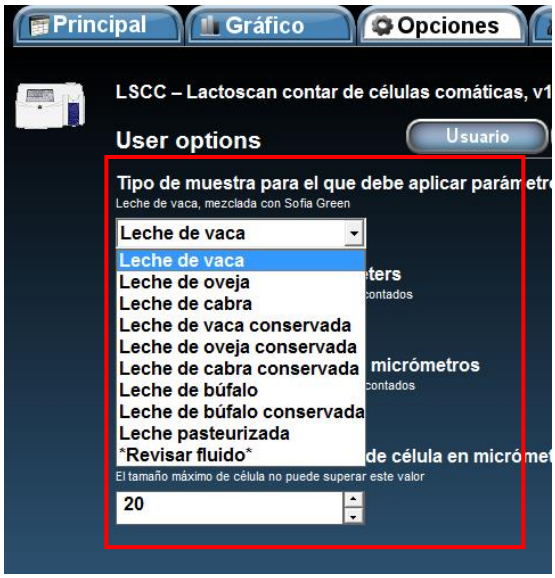
Configurar los parámetros de análisis

El menú "Opciones" permite al usuario configurar los parámetros de análisis para los distintos tipos de leche.

1. Configurar las dimensiones mínimos y máximos de las células que se van a contar:

1.1. Elegir la muestra de leche para la cual se aplican los parámetros configurados.

Con el menú desplegable el usuario elige la muestra de leche para cambiar los parámetros predeterminados.



1.2. Introducción de los nuevos parámetros.

Por debajo de la muestra de leche escogida salen los valores predeterminaods minímos y máximos de las celulas que se van a contar. Ese diapason se puede cambiar, movimiendo las flechas arriba oabajo, o introduciendo valores nuevos.

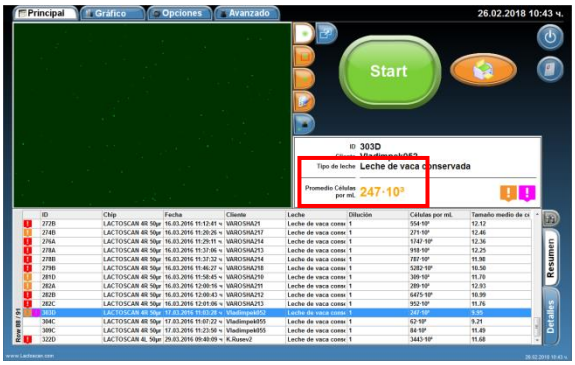
1.3. Configuración de los limites para el mastitis clínica y sub-clínica

En los distintos países los límites del mastitis clínica y sub-clínica varían en dependencia de la raza del animal y las exigencias estatales y regionales.

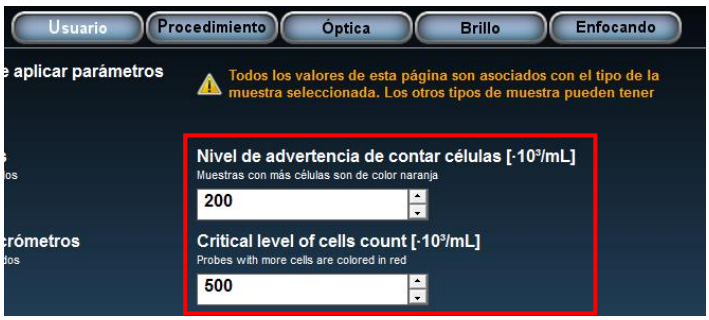
Todos los derechos reservados

Por ejemplo en Alemania se considera que los animales están sanos, si su leche contiene células somáticas hasta 100 000 células/ml hasta 400 000 células/ml el animal tiene mastitis sub-cínica y más de 400 000 células/ml mastitis clínica.

El equipo LACTOSCAN SCC COMPACT nos informa sobre el estado de salud de animal, mostrando el resultado del análisis en el color verde, naranja o rojo.



En el campo "Nivel de advertencia de conteo de células" (nivel de advertencia de conteo de células), manualmente o con las flechas "arriba, abajo" se introduce el valor del límite para el mastitis sub-clínica. La introducción del límite para el mastitis clínica se hace cambiando el valor en el campo "Nivel crítico de conteo de células" (Nivel crítico de conteo de células) con las flechas o manualmente.



1.4. Guardarlosajustes introducidos

Todos los ajustes introducidos se memorizan presionando el botón

Cuando los ajustes están guardados el botón cambia su color de verde a gris.

 Todos los derechos reservados

2. Calibración de compensación laboratorio en porciento:

Es aceptable que exista diferencia entre los resultados de análisis de la misma muestra de leche realizada en dos laboratorios. Según ISO 13366-1:2008 "leche - conteo de células somáticas - Parte 1: Método Microscópico (método referente)", Anexo A análisis compatible, Tabla A. 1 - Resultados de análisis de laboratorio interino, la desviación entre dos laboratorios puede ser hasta un 20%. Si LACTOSCAN SCC COMPACT está verificado utilizando muestras referentes en un laboratorio local, la diferencia de los valores resultantes de muestras referentes y los resultados de LACTOSCAN SCC COMPACT pueden aparecer. En ese caso puede hacerse la corrección utilizando la compensación de laboratorio y se introduzca el numero que muestra el porciento de corrección.

El numero de compensación de laboratorio puede ser:

0 (cero) – significa que no se ha hecho corrección.
+N (numero positivo) – significa que se ha hecho una corrección positiva en porciento%. El resultado final del análisis se aumenta con los porcientos dados.
–N (numero negativo) – significa que se ha hecho una corrección negativa en porciento%. El resultado final del análisis se descuenta con el porciento dado.

Atención!
Para determinar la necesidad de corrección y hacer esta, hay que seguir estrictamente las instrucciones dadas a continuación:

- Para determinar la desviación deben utilizarse solamente **muestras de leche referentes de IDF laboratorios acreditados.**

- Utilizar al menos 3 diferentes muestras referentes con los diapasones de concentración de células siguientes:

1ª muestra referente con un diapasón de concentración de células:
50 000 – 200 000 cel/mL
2ª muestra referente con un diapasón de concentración de células:
400 000 – 600 000 cel/mL
3Tª muestra referente con un diapasón de concentración de células:
800 000 – 1 200 000 cel/mL

- Las muestras referentes obligatoriamente deben ser contadas en el **Régimen Referente** de LACTOSCAN SCC COMPACT siguiendo el procedimiento de análisis referente de muestras.

- Los resultados obtenidos de los análisis se llevan a la tabla Excel para el cálculo de compensación de laboratorio mostrada en:
http://lactoscan.com/editor/ufo/files/Laboratory_offset_table.xlsx

 Todos los derechos reservados

Datos no elaborados	Muestra 50000-200000 cel/mL 1	Muestra 400000-600000 cel/mL 2	Muestra 800000-1400000 cel/mL 3
Medición 1			
Medición 2			
Medición 3			
Medición 4			
Medición 5			
Medición 6			
Medición 7			
Medición 8			
Medición 9			
Medición 10			
Valor medio			
Valor de la muestra referente			
Diferencia en porcientos			
Coeficiente de desviación			

o escribirlos en la tabla mostrada:

- El valor medio de cada muestra se calcula utilizando la formula siguiente:

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

Donde:

MV – Valor medio del resultado de las 10 mediciones a la misma muestra referente.

M1,M2,M3,M4,M5,M6,M7,M8,M9,M10 – Resultado de 10 mediciones ala misma muestra referente.

- Los valores medios obtenidos del cálculo de las 3 muestras, compararlos con los valores de la muestra referente de la etiqueta de las muestras referentes analizadas. La diferencia en porcientos entre el valor medio y el valor de las muestras referentes se calcula utilizando la formula siguiente:

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

Donde:

D1% - Diferencia en porcientos de la primera muestra referente
RSV1 – Valor en la etiqueta de la primera muestra referente
MV1 – Valor medio de la primera muestra

- **La diferencia en los resultados obtenidos en las 3 muestras debe ser un valor positivo (+) o un valor negativo (-) para las 3 diferencias. Si se obtener diferencias positivas y negativas eso significa que hay inexactitudes en los valores de la muestra referente de la etiqueta de muestras, resultados de**

 Todos los derechos reservados

laboratorio. En ese caso no se deben hacer correcciones hasta que no se demuestra la veracidad de las muestras de laboratorio.

- Si los resultados de las 3 muestras son solo positivos o solo negativos entonces debe calcularse la desviación en porcientos. Eso se hace usando la formula siguiente:

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

Donde:

D% - Desviación media de las 3 muestras.
D1% - Diferencia en los resultados obtenidos en la primera muestra en porcientos.
D2% - Diferencia en los resultados obtenidos en la segunda muestra en porcientos.
D3% - Diferencia en los resultados obtenidos en la tercera muestra en porcientos.

Después de calcular la desviación media en las 3 muestras, el numero obtenido puede ser elevado en el campo "Compensación de laboratorio"

Ejemplo de tabla con los resultados calculados de la compensación laboratorio:

Datos no elaborados	Muestra 50000-200000 cel/mL 1	Muestra 400000-600000 cel/mL 2	Muestra 800000-1400000 cel/mL 3
Medición 1	142,000	571,000	1,153,000
Medición 2	161,000	563,000	1,164,000
Medición 3	147,000	548,000	1,146,000
Medición 4	157,000	530,000	1,142,000
Medición 5	142,000	543,000	1,146,000
Medición 6	145,000	584,000	1,122,000
Medición 7	151,000	558,000	1,100,000
Medición 8	150,000	584,000	1,154,000
Medición 9	140,000	539,000	1,120,000
Medición 10	145,000	570,000	1,155,000
Valor Medio	**148000**	**559000**	**1140200**
Valor de muestra referente	156000	565000	1230000
Diferencia en porcientos	5.13	1.06	7.30
Desviación media	4.50		

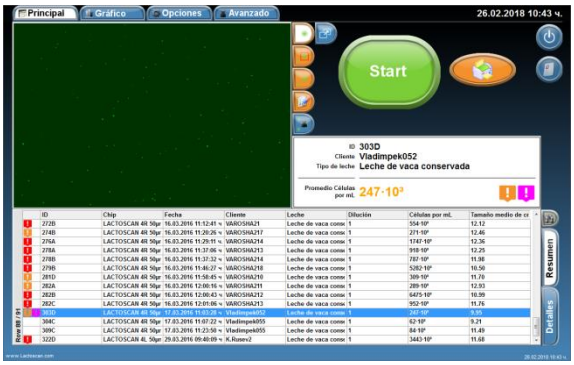
Formula Excel para el cálculo:

Valor medio: =AVERAGE(Medición 1: Medición 10)
Valor de muestra referente: se lleva el valor de la etiqueta de la muestra referente

Todos los derechos reservados

Diferencia en porcientos: =100*(Valor de muestra referente – Valor medio) / Valor de muestra referente
Desviación media: =(Diferencia en porcientos de la muestra 50000-200000 cel/mL + Diferencia en porcientos de la muestra 400000-600000 cel/mL + Diferencia en porcientos de la muestra 800000 -1400000 cel/mL)/3
Para hacer esto:

2.1. Del menú principal ir al menú Opciones:



2.2. Introducir el numero de desviación.

Atención! Si se obtiene una desviación de 5%, hay que introducir el numero 5. Si se obtiene una desviación de -5%, hay que introducir el numero -5.

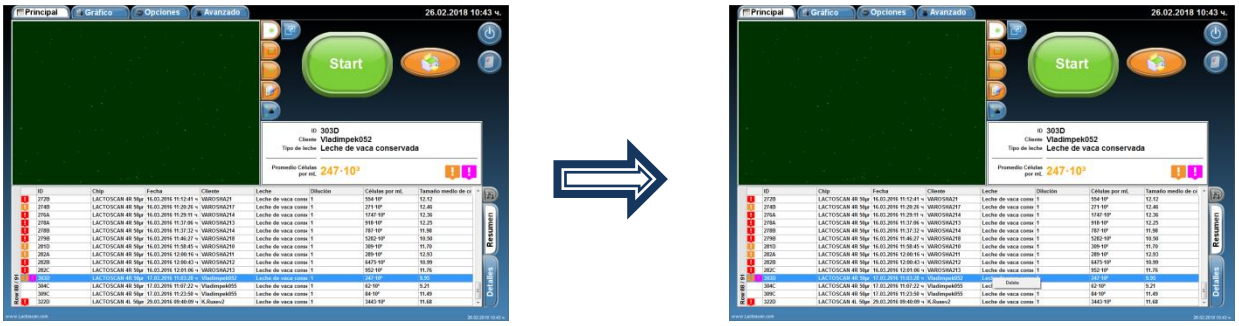
2.3 Presionar el botón .

Para restablecer la calibración de fábrica hay que introducir el número 0 en el campo con compensación laboratorio.

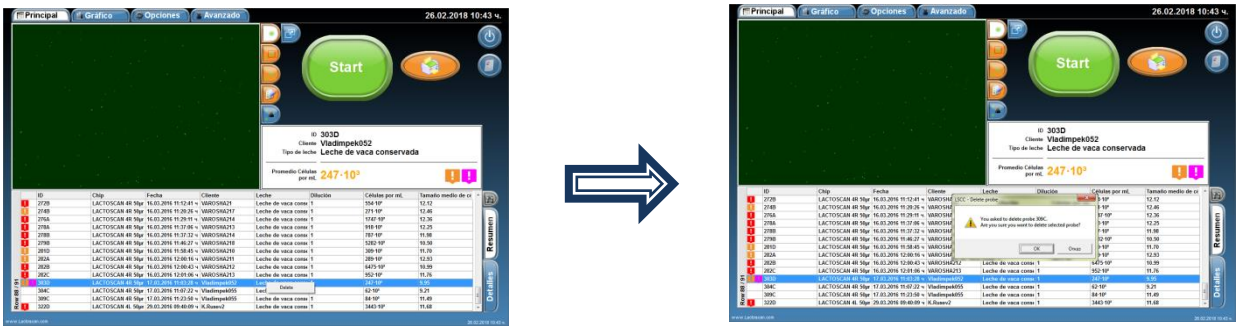
Borrar un resultado en la base de datos

El usuario puede borrar un resultado en la tabla dada en la base de datos:

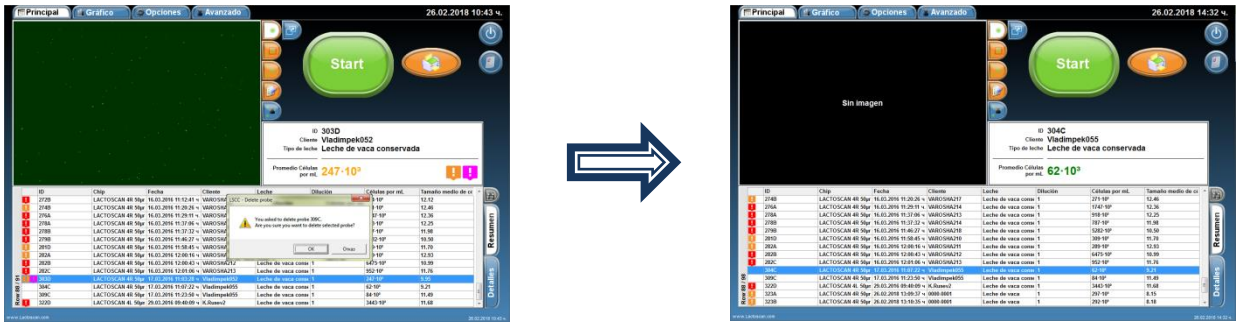
1. Escoge un resultado que desea borrar y presiona el botón derecho del ratón para aparecer el botón "Delete".



2. Presiona el botón "Delete" y confirme que desea borrar el resultado elegido



3. El resultado elegido está borrado.



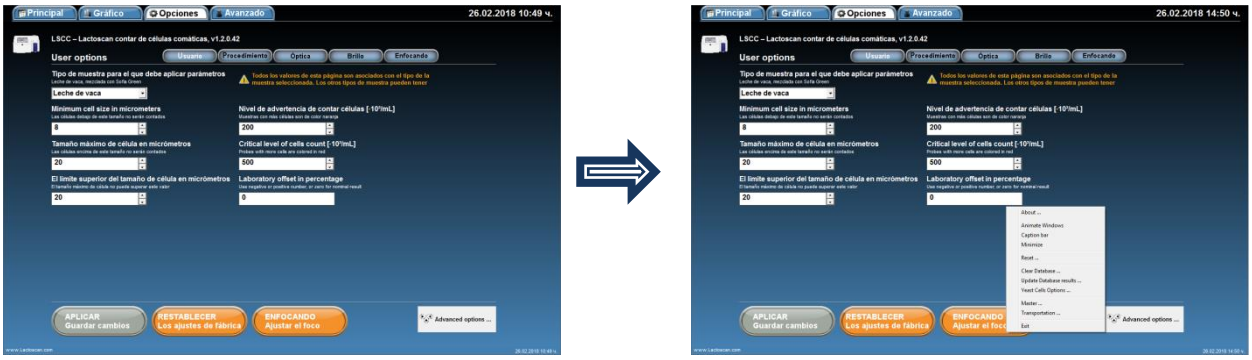
La limpieza de la base de datos

El software de LACTOSCAN SCC COMPACT permite borrar la base de datos cuando se acumula una gran cantidad de resultados de análisis para abrir el lugar de conservar datos futuros

Para limpiar la base de datos:

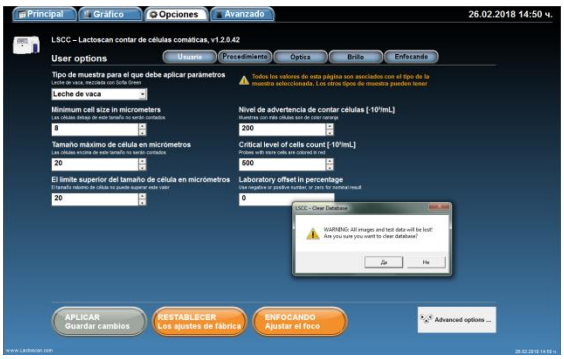
1. Vaya al menú Opciones

2. Presione el botón

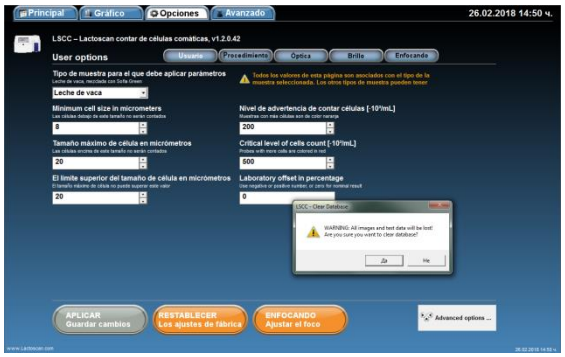


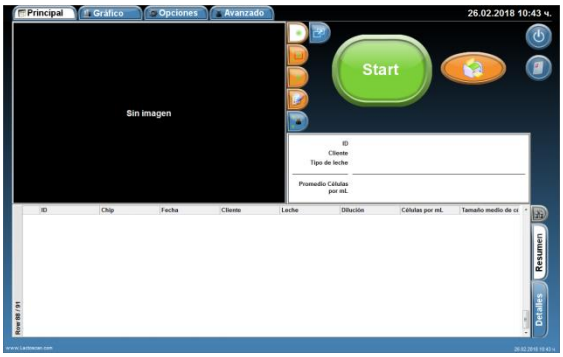
3. Del menú que sale escoja Clean Database

4.Presione Clean Database



Atención!
Los resultados una vez borrados no se pueden restableser!





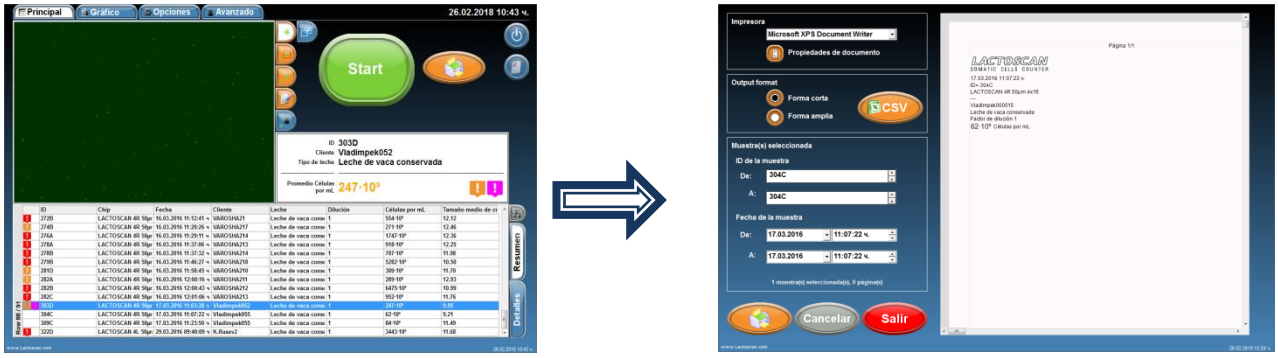
Imprimir los resultados de la base de datos.

El equipo LACTOSCAN SCC COMPACT permite imprimir cada uno de los resultados desde la base de datos.

Imprimir los resultados con la imprenta incorporada:

1. Selecciona el resultado deseado.
El usuario escoge un resultado y lo marca pulsando sobre la información en el campo "Summary".

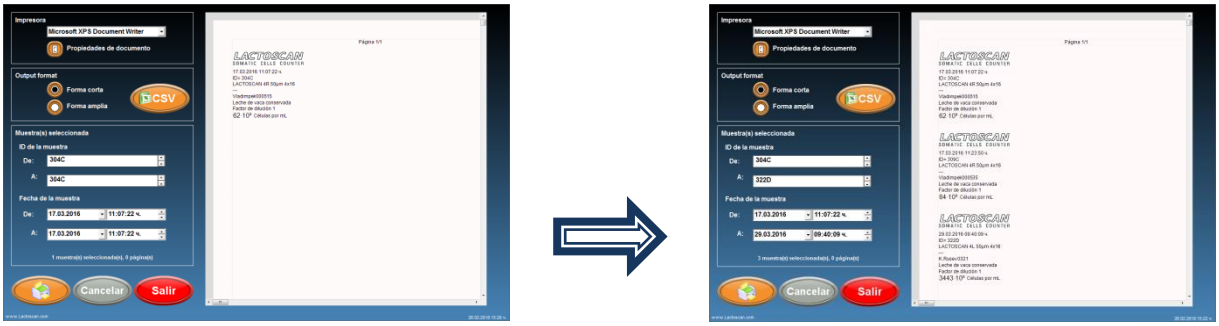
2. Presione **, para pasar el menú "imprenta".**



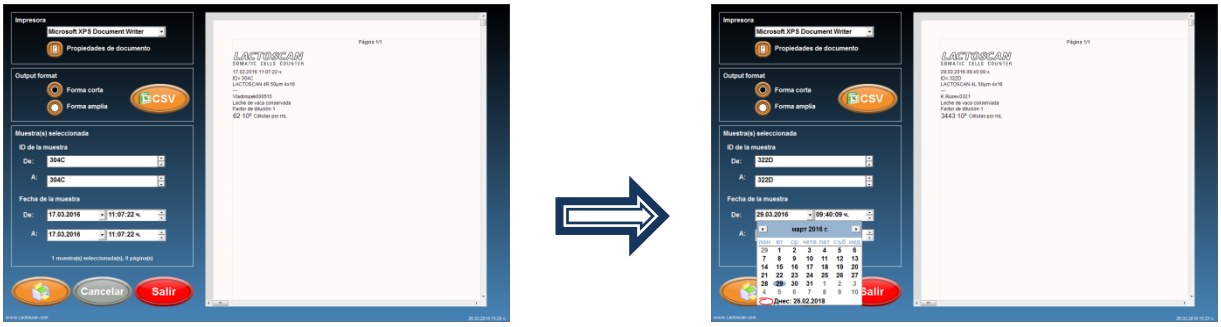
3. No es necesario señalar el formato LACTOSCAN SCC COMPACT, imprime los resultados en la forma corta con la imprenta incorporada.

 Todos los derechos reservados

4. Pulse las flechas en la parte derecha de ID de los resultados si desea cambiarlos o añadir unos nuevos.



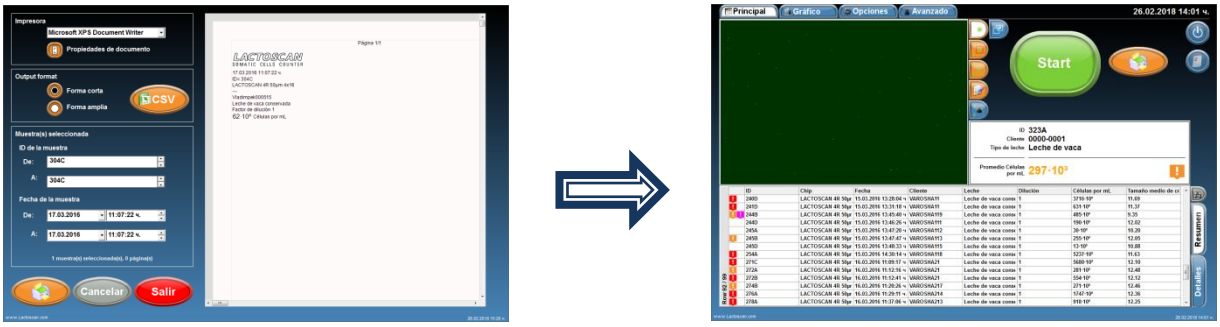
5. Si desea imprimir los resultados para un periodo de tiempo determinado ajuste la fecha del inicio y esa del final sobre el calendario.



6. Pulse el botón **paraimprimir los resultados elegidos.**

7. Para volver al menú Principal pulse el botón

.

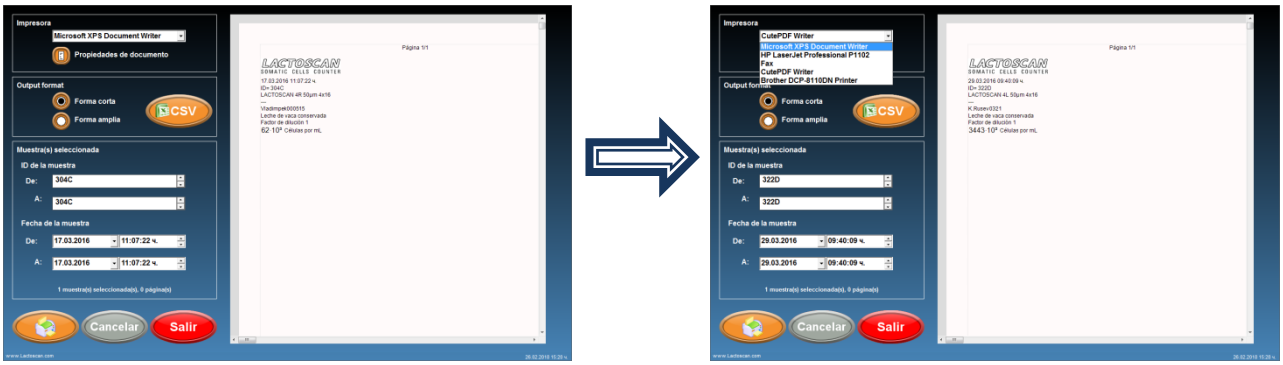


 Todos los derechos reservados

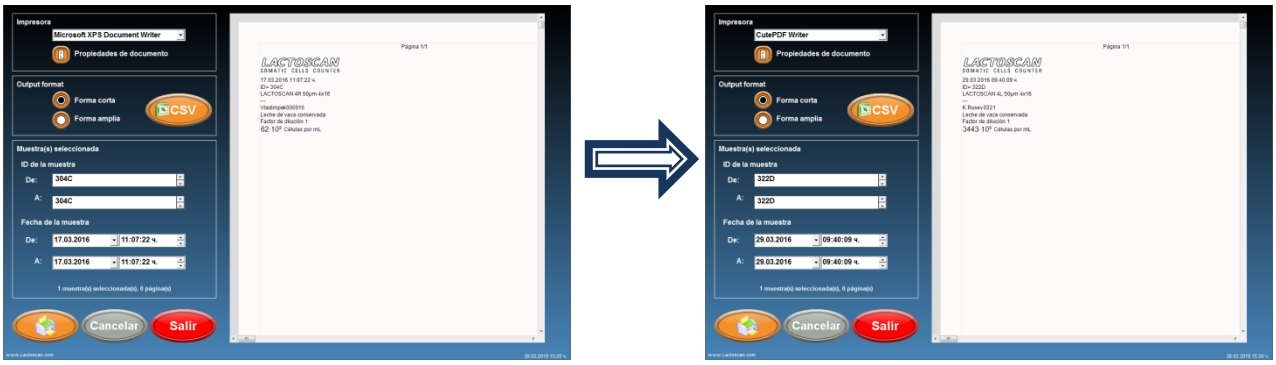
Imprimir los resultados con una imprenta externa

1. Antes de empezar asegúrese que la imprenta externa está instalada y conectada correctamente.

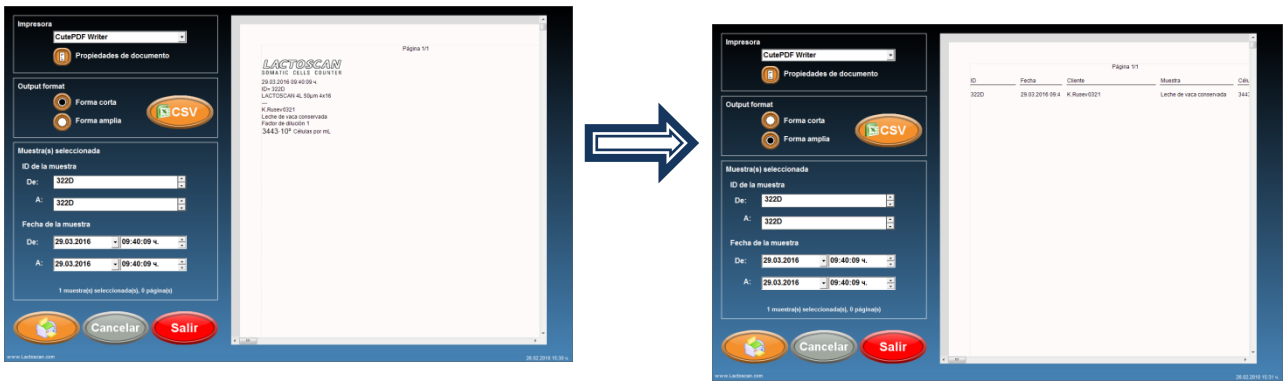
2. Del menú desplegable escoja el nombre de la imprenta externa.



3. Escoja WIDE form (Forma ancha) para imprimir los resultados en una tabla.



4. Pulse las flechas en la parte derecha de ID de los resultados, o si desea imprimir unos nuevos, utilice el calendario para añadirlos o cambiarlos.



5. Una vez escogidos los resultados pulse el botón **, para imprimirlos**

6. Para volver al menú MAIN-Principal pulse

.

Guardar los resultados como archive PDF:

1. Desde el menú despegable escoge MICROSOFT PRINT TO PDF.

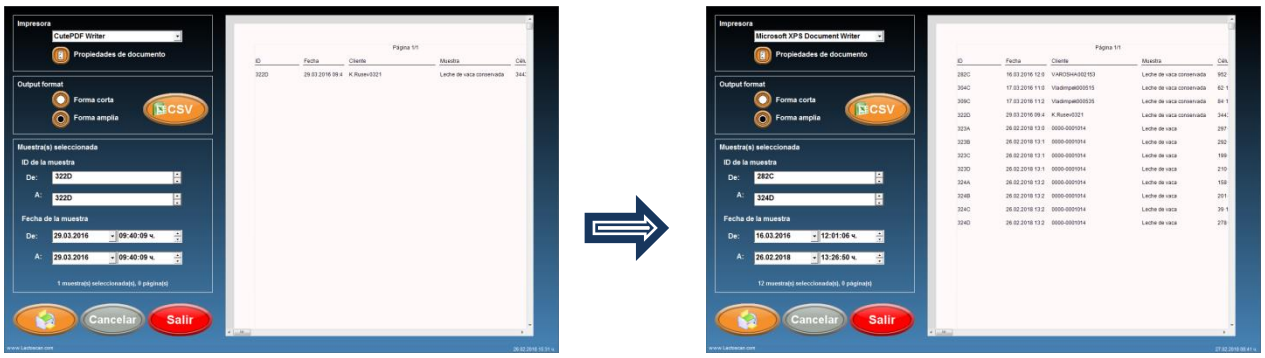
2. Antes deguardar los resultados revise la orientación de la página.

Si deseaguardar los resultados en WIDE form (forma ancha), la orientación debe ser (landscape) paisaje y el papel utilizado A4. Para revisar la orientación pulse Document properties.

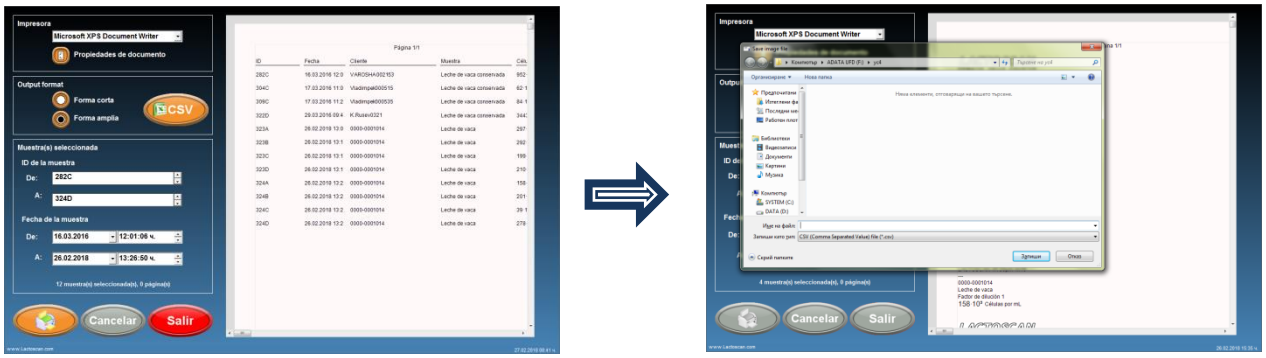
3. Escoge WIDE form (forma ancha) para imprimir los resultados en una tabla.

 Todos los derechos reservados

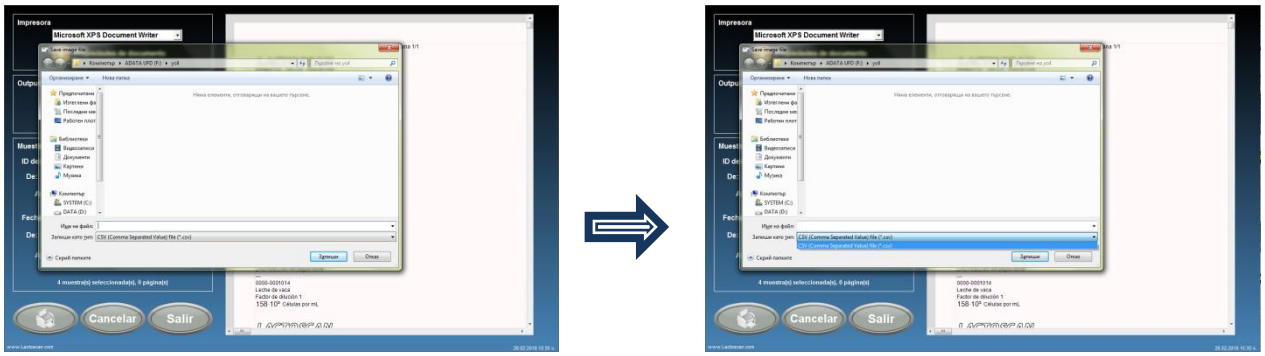
4. Añadir los resultados que desea incluir en el fichero PDF.



5. Presionar el botón **, para guardar el fichero.**

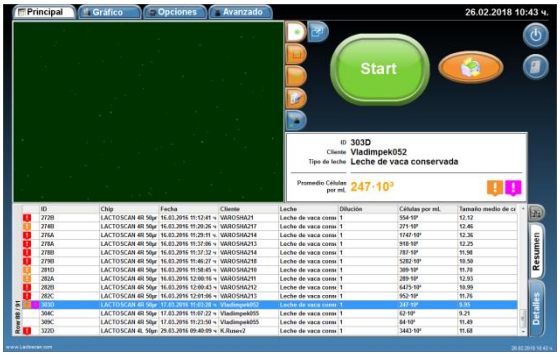


6. Seleccione el directorio donde desea guardar el archivo, escriba el nombre del archivo y pulse el botón SAVE para la conservación final de resultados como archivo PDF.

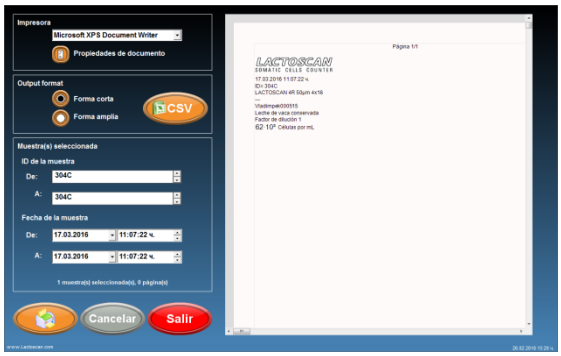


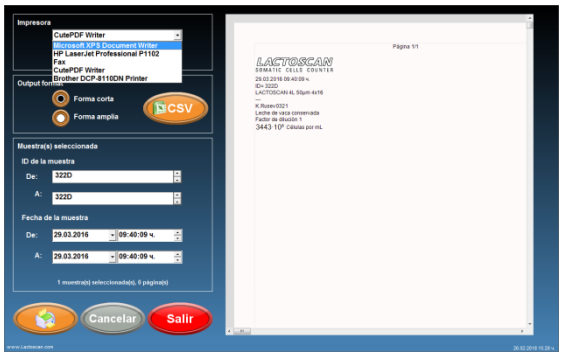
Guardar los resultados en el archivo Excel:

1. Entre en el menú IMPRENTA pulsando el botón **.**

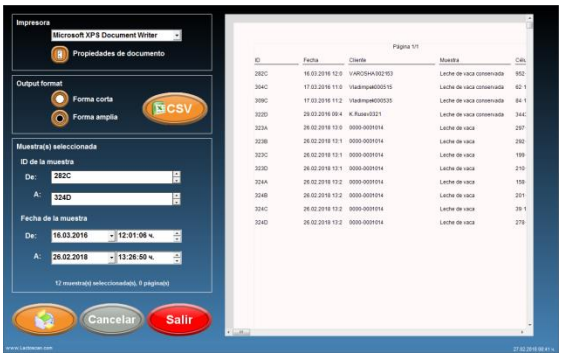


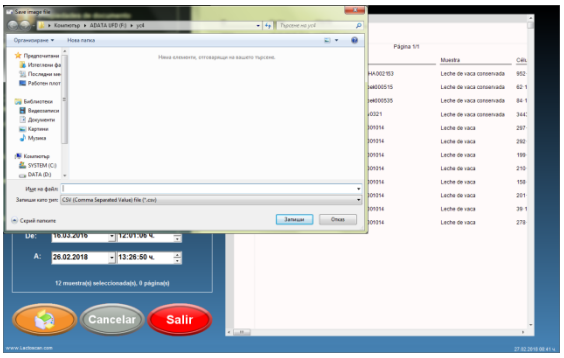
2. Añadir los resultados que desea incluir en el fichero Excel.



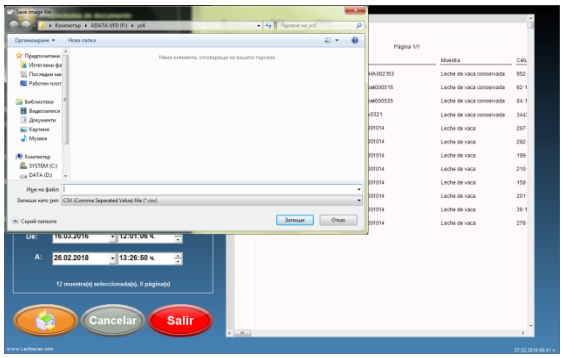


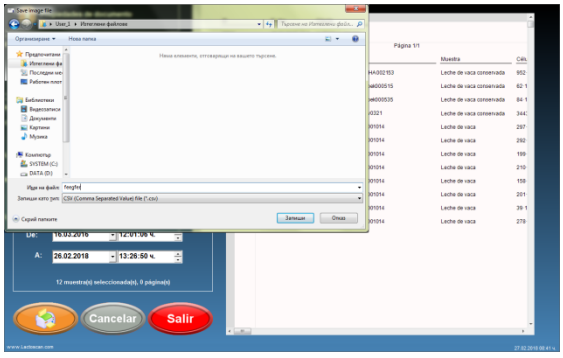
3. Presione el botón **para guardar el archivo.**





4. Seleccione el directorio donde desea guardar el archivo, escriba el nombre del archivo y pulse el botón SAVE para la conservación final de resultados como archivo Excel.





El enfoque de LACTOSCAN SCC COMPACT

De cada tres meses el equipo debe enfocarse.

El enfoque se hace siguiendo los pasos:

1. Preparar muestra de leche con 300-500x10^3 células somáticas por mililitro. Se puede utilizar muestra de leche del análisis anterior si tiene de 300x10^3 células somáticas por mililitro.
Si no dispone de muestra con esas características debe utilizarse una muestra de la cual se supone que las células somáticas estén entre 500x10^3 por mililitro. La muestra debe prepararse para el análisis según las instrucciones en el articulo "Preparación de la muestra para análisis".

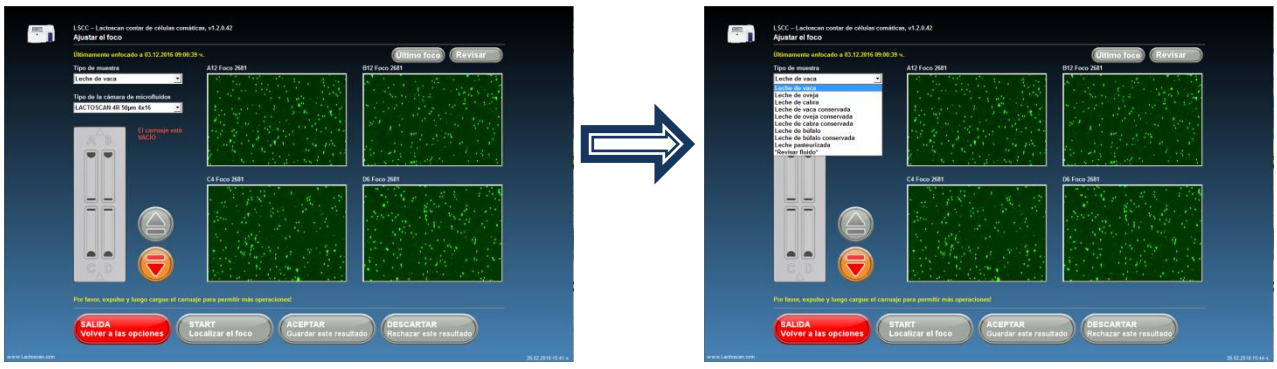
2. El enfoque de LACTOSCAN SCC COMPACT

2.1.Desdela pantalla "Opciones"para pasar al pantalla ENFOQUE pulse el botón

En

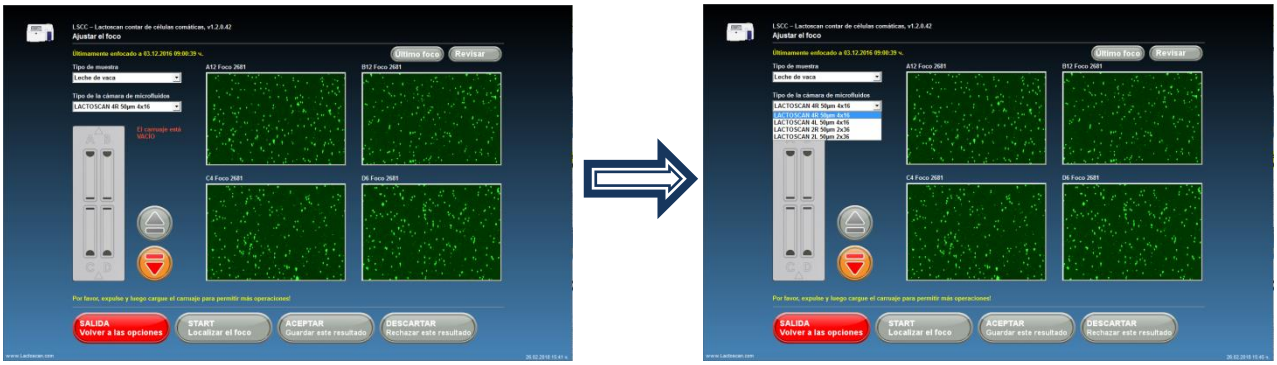
los cuatros cuadrados se ven los últimos enfoques encontrados.

2.2. Desde el menú desplegable escoge el tipo (“Type of sample”), leche de vaca.

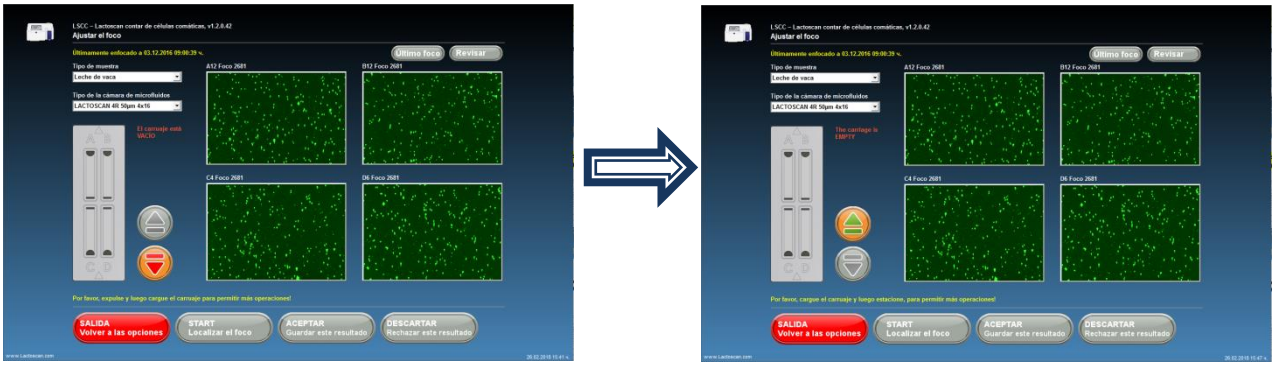


 Todos los derechos reservados

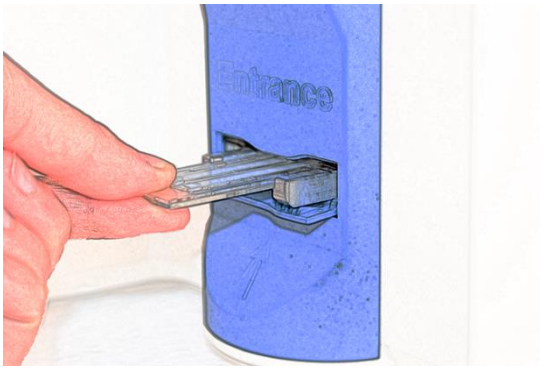
2.3.Escoge el tipo de la cámara microfluídica, cargada con la muestra.



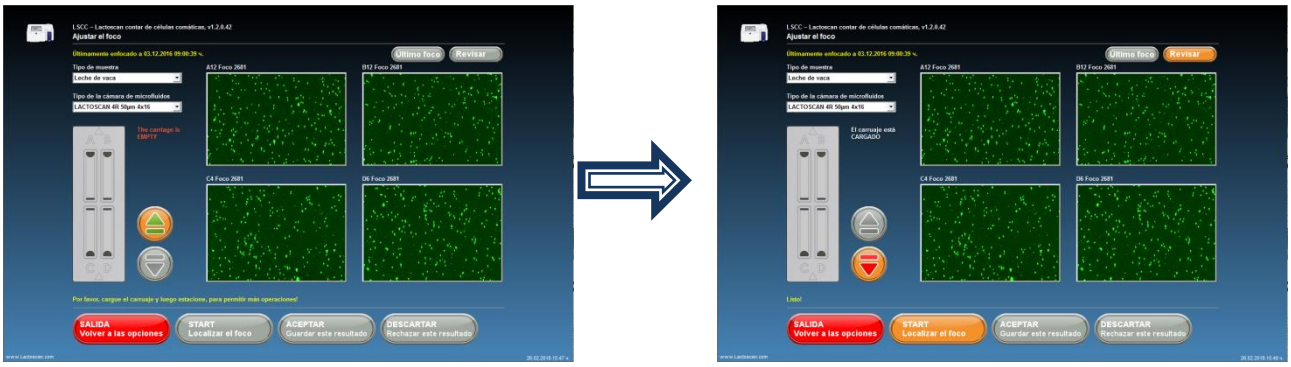
2.4. Pulse el botón y esperasalirel soporte.



2.5. Coloque en el soporte el LACTOCHIP cargado con la muestra de leche.



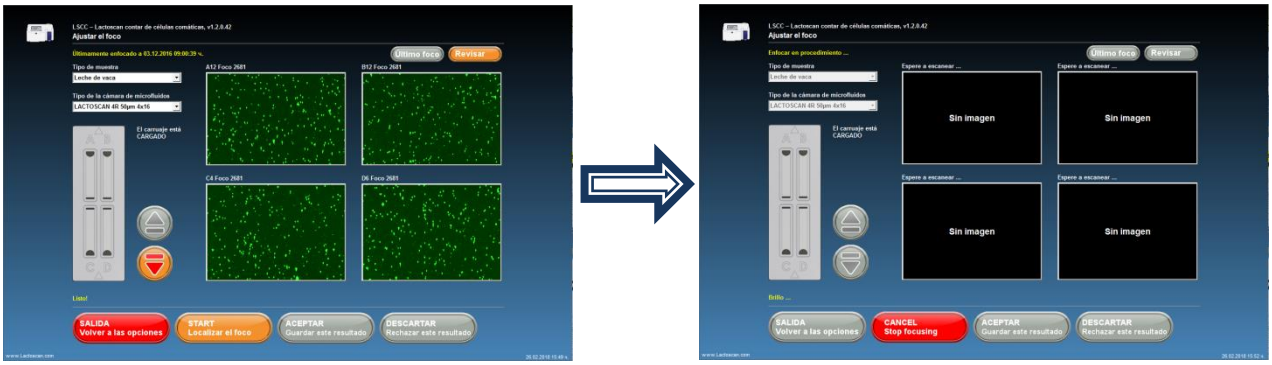
2.6. Pulse el botón.



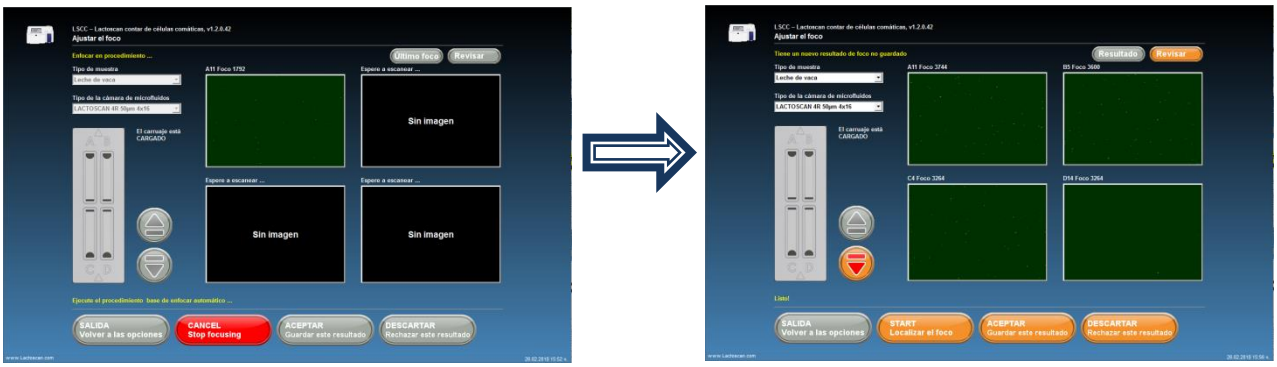
Elequipo guarda la bandeja y se puede pasar al enfoque.

2.7. Pulse el botón

para empezar el enfoque.



El equipo empieza a buscar el foco de los cuatros puntos básicos.

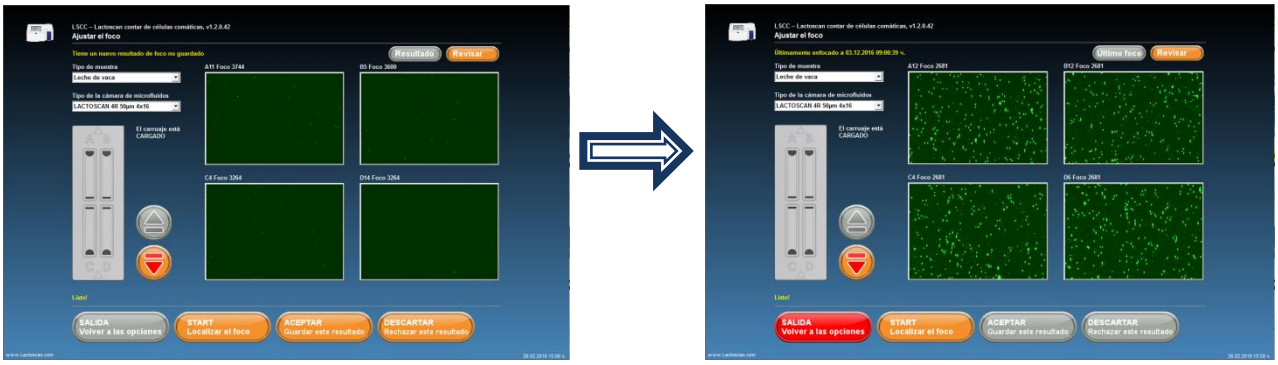


 Todos los derechos reservados

2.8.Pulse el botón

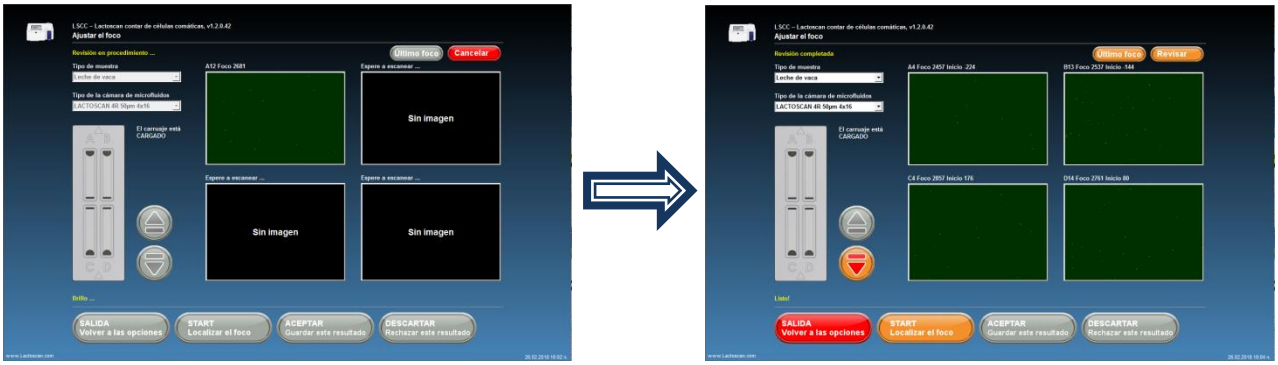
para guardar los nuevos focos encontrados o pulse el botón

para rechazarlos.



2.9. Pulse el botón

para chequear los focos encontrados.



El trabajo en modo avanzado

1.Pulse el botón para sacar el soporte.

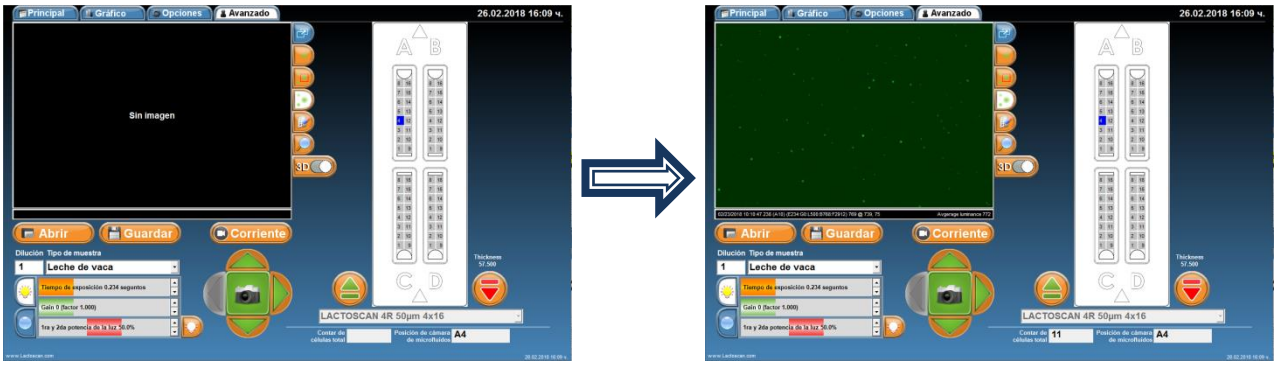
2. Coloque LACTOCHIP con la muestra en el soporte y seleccione su tipo.

3. Pulseelbotón para introducir el soporte con el LACTOCHIP.

 Todos los derechos reservados

4. Seleccione el sector de la cámara micro-fluídica que va a observar
En el caso nuestro por ejemplo, la cámara microfluidica es A, el sectór es 13

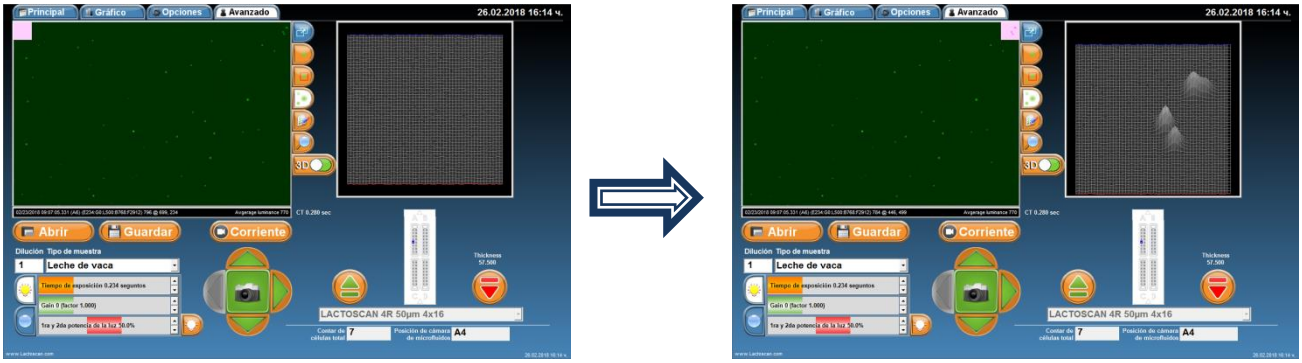
5. Para filmar y ver la imagen del sector seleccionado, pulse el botón



6. Para ver el gráfico 3D, pulse

. El gráfico 3D muestra las células como columnas. El brillo de las células determina la altura de esas columnas.

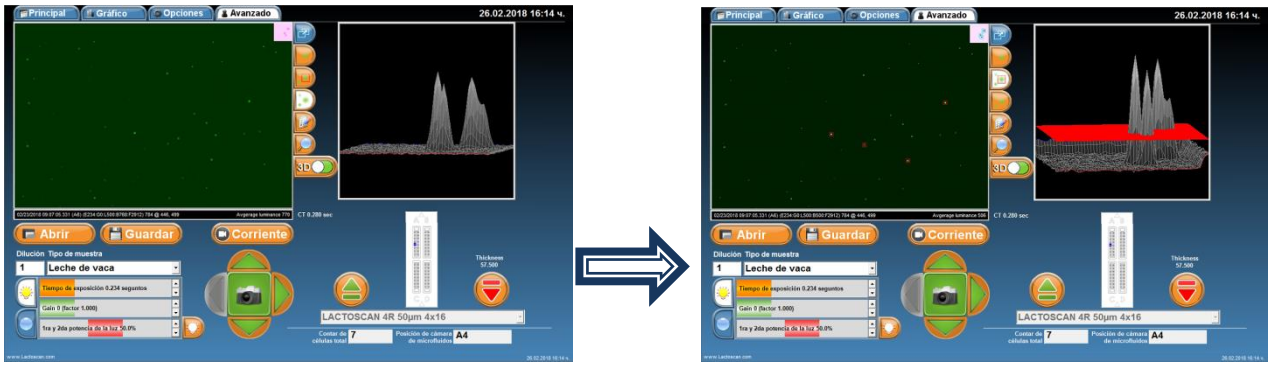
7. Para ver la gráfica 3D de un determinado grupo de células, mueva el pequeño cuadrado gris desde la esquina superior izquierda al grupo de células que quiere observar. El mismo movimiento se puede hacer con el ratón: situarlo sobre el cuadrado gris, apretar y aguantar su botón derecho y moverlo sobre la imagen.

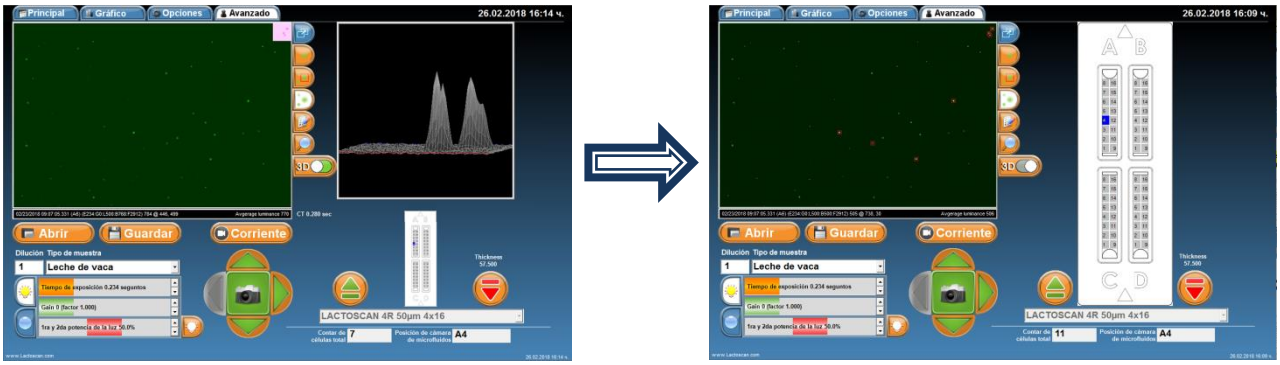


8. Se puede ver el grafico 3D por todos lados, apretar con un dedo y mover: arriba-abajo, derecho-izquierdo, hasta obtener la imagen deseada. Eso se puede hacer también con el ratón situándolo sobre el grafico 3D, apretar y aguantar su botón derecho y moverlo.

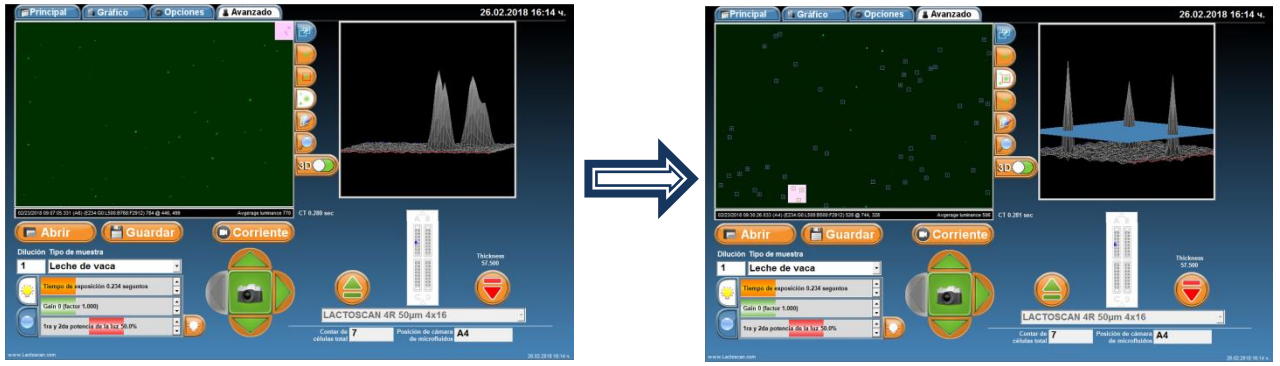
9. Para ver marcadas todas las células de la imagen, pulsa

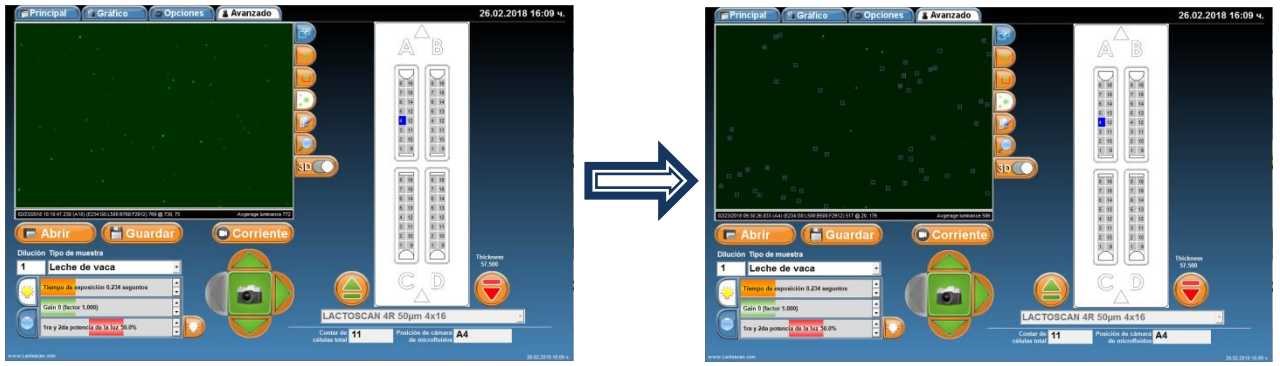
Células mastitis



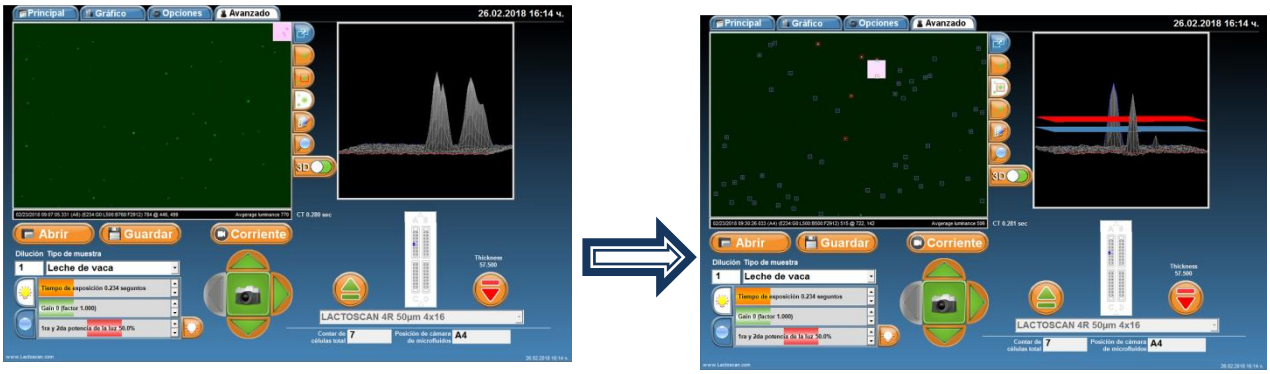


Células de levadura

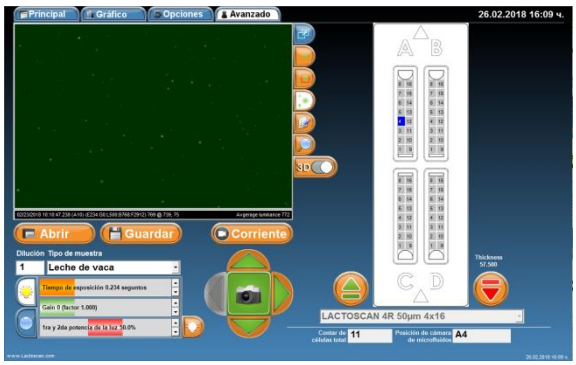


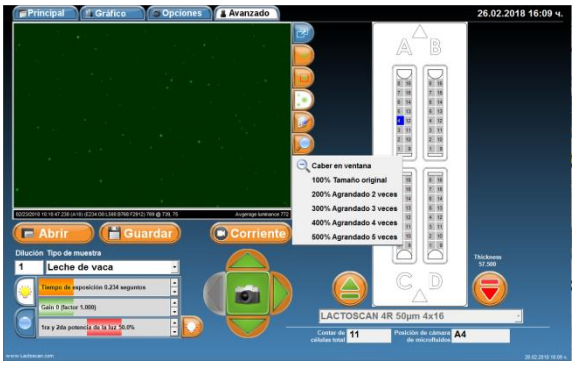


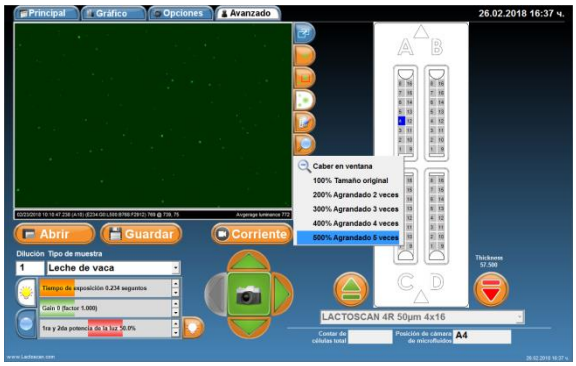
Todas las células

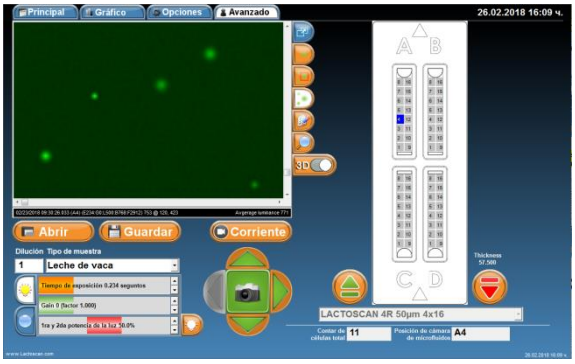


10. Para acercar la imagen, pulse **y elige el porciento de acercamiento.**





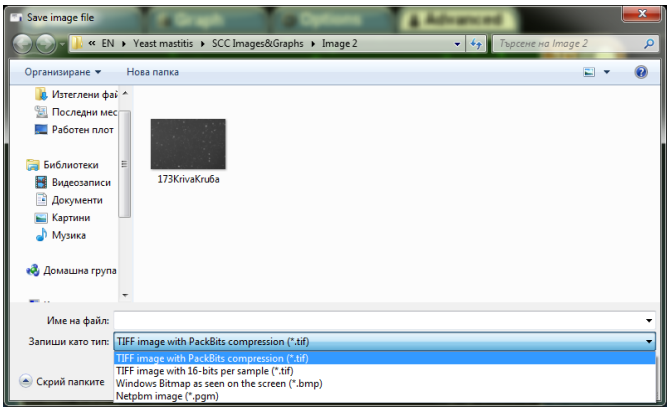




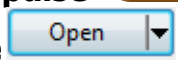
11. Paraguardar la imagen de un sector, pulse

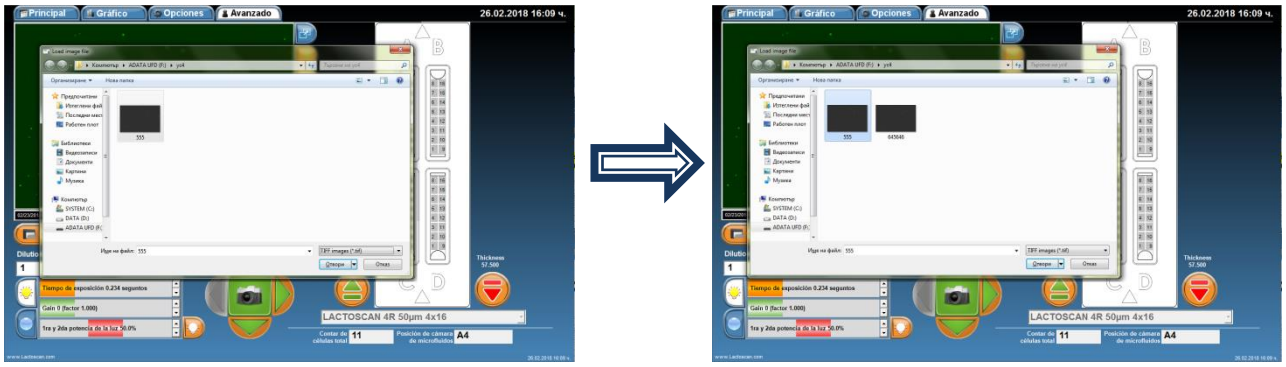
, escribe el nombre del archivo, seleccione donde desea guardarlo y pulse el botón

El usuario puede escoger el formato de la foto guardada. Los posibles formatos son .TIFF и .BMP. El formato .BMP es fácil para una elaboración posterior y puede ser abierto con cualquier de los programas de Windows.



12. Para abrir la imagen del análisis anterior, pulse

abriendo el archivo donde se guarda la imagen, CLICK y pulse 

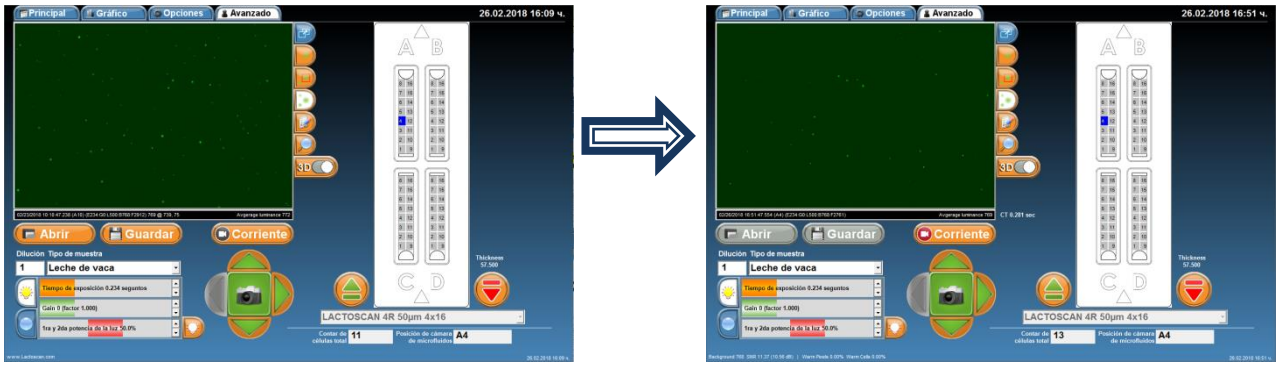


 Todos los derechos reservados

13. El botón

– Cuando se pulsa el botón

entramos en régimen VIDEO y el equipo LACTOSCAN SCC COMPACT empieza a fotografiar continuamente. La frecuencia del cambio de las imágenes depende del tiempo fijado para la exposición de las mismas. Por ejemplo, si el tiempo de exposición es 1,945 segundos las imágenes sobre la pantalla cambiaran cada 1,945 sec. El régimen VIDEO permite ver distintas sectores de la cámara micro-fluídica. En lugar de pulsar el botón **después de cada sector, LACTOSCAN SCC COMPACT automáticamente toma foto de cada sector nuevo. Cuando está activado el régimen VIDEO el usuario puede elegir un sector de la cámara micro-fluídica, cambiar la intensidad de LED diodo, cambiar el tiempo para exposición y el foco y el aumento de la sensibilidad del sensor óptico (CCD GAIN).**

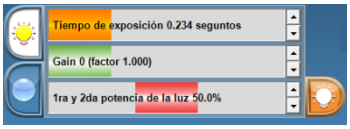


14. Pulsando los botones **se pueden elegir los distintos sectores de la cámara micro-fluídica. Cada sector se puede elegir también aprestando su número correspondiente. Para fotografiar y ver la imagen del nuevo sector, apriete el botón**

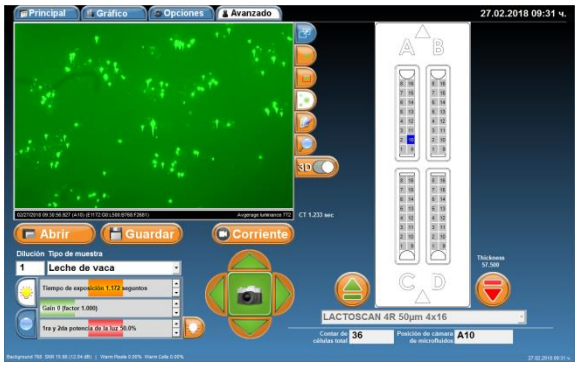
En nuestro ejemplo el sector es 10, la cámara micro-fluídica es A.

Todos los derechos reservados

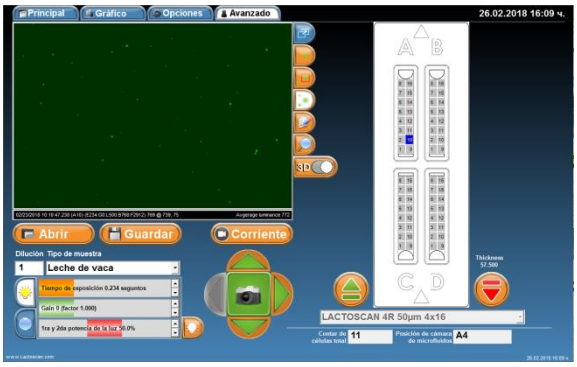
15. Para ajustar la intensidad del LED diodo 1 odiodo 2 (si está disponible en el equipo) y el tiempo para exposición, pulse el bóton

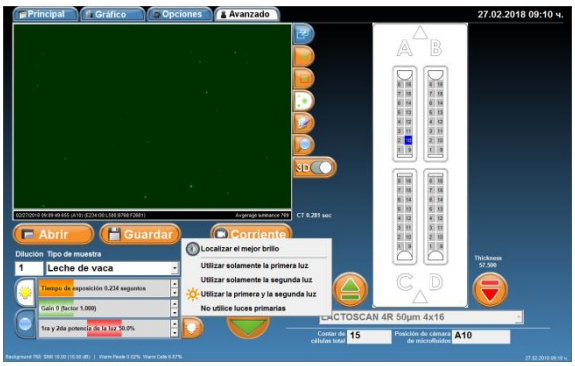
Con la ayuda de las teclas de desplazamiento, se 

pueden fijar los valores deseados.

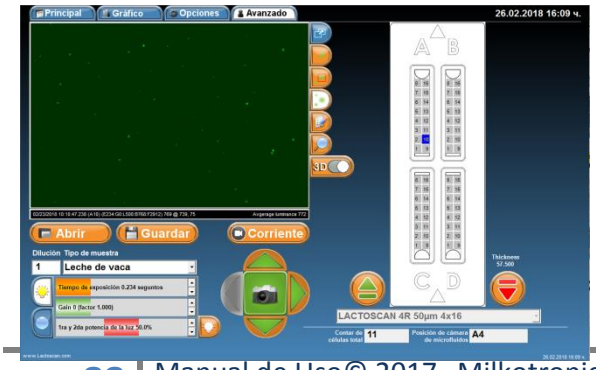


16. Para apagar uno o los dos LED luces, pulse



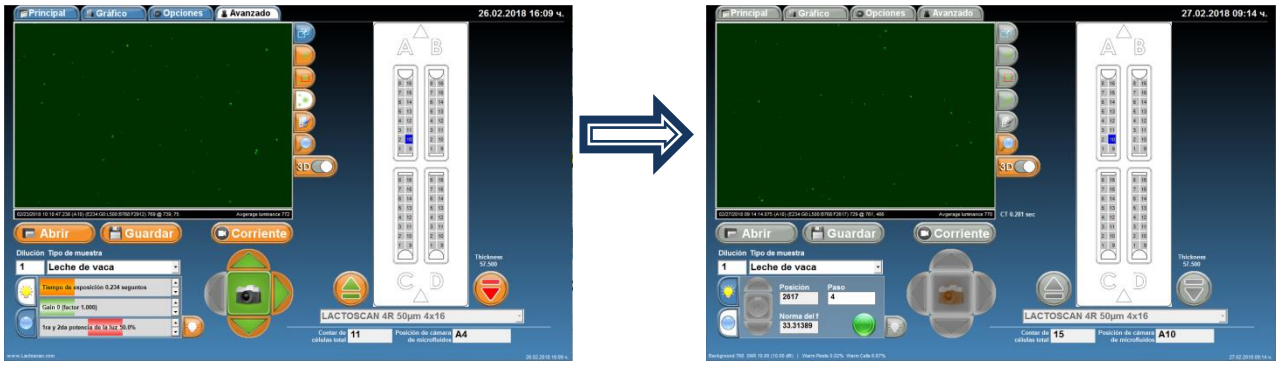


17. Para ver los botones que permiten el ajuste del foco del microscopio pulse el botón **.**



 Todos los derechos reservados

18. Para auto-enfocar pulse el botón

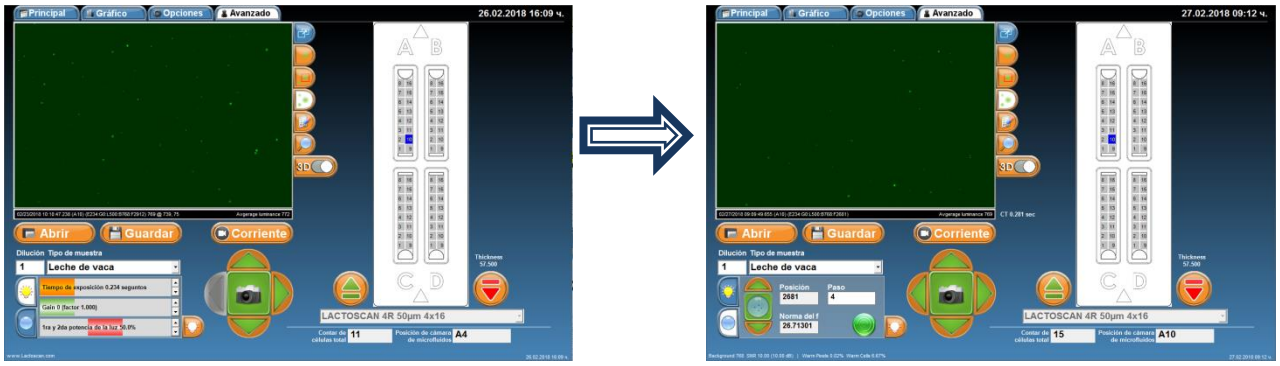


19. Apretando los botones **y** **ajusta manualmente la posición del foco.**

Atención!

El campo "Step"

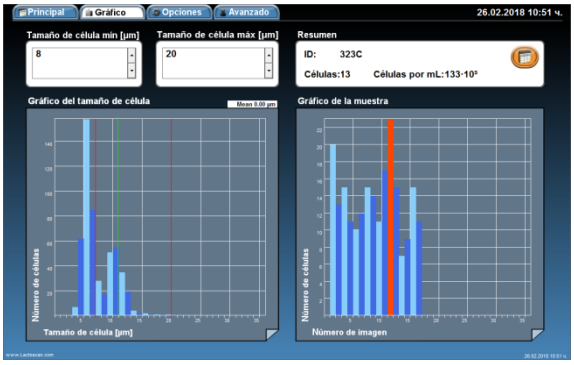
señala el paso del cambio de la posición del foco. Se puede cambia el valor del paso si en el campo se escribe el número correspondiente.



 Todos los derechos reservados

20. Si desea analizar el grafico de los resultados recibidos de la imagen antes de pasar al menú Graph es obligatorio completar dilución y el tipo de la probeta. Después de completar de "Dilution"y "Probetype" pulse

y después **.**

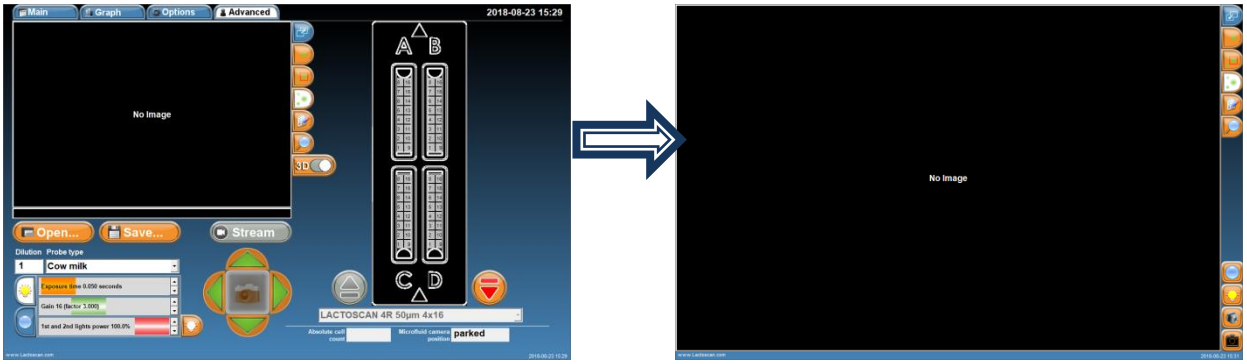


 Todos los derechos reservados

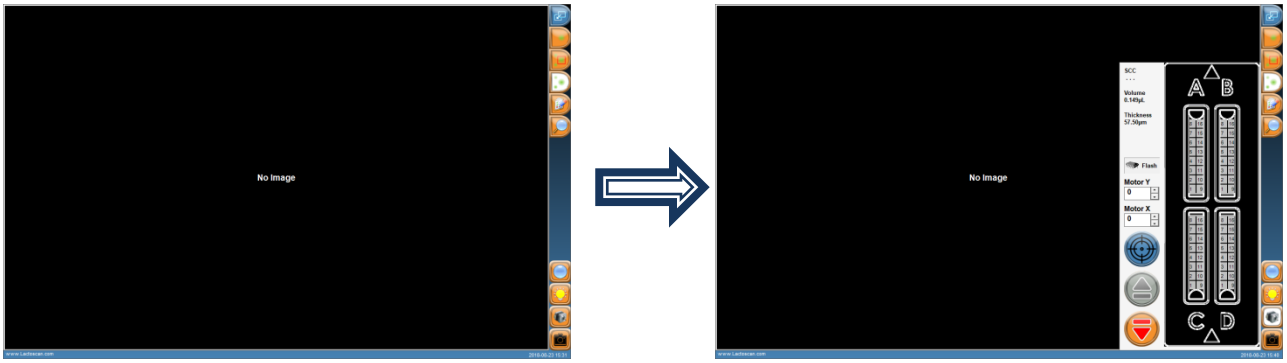
Comprobación de la magnificación de LACTOSCAN SCC COMPACT mediante una escala graduada

La comprobación de la magnificación de LACTOSCAN SCC COMPACT se realiza por el uso de un LACTOCHIP especial con escala graduada.

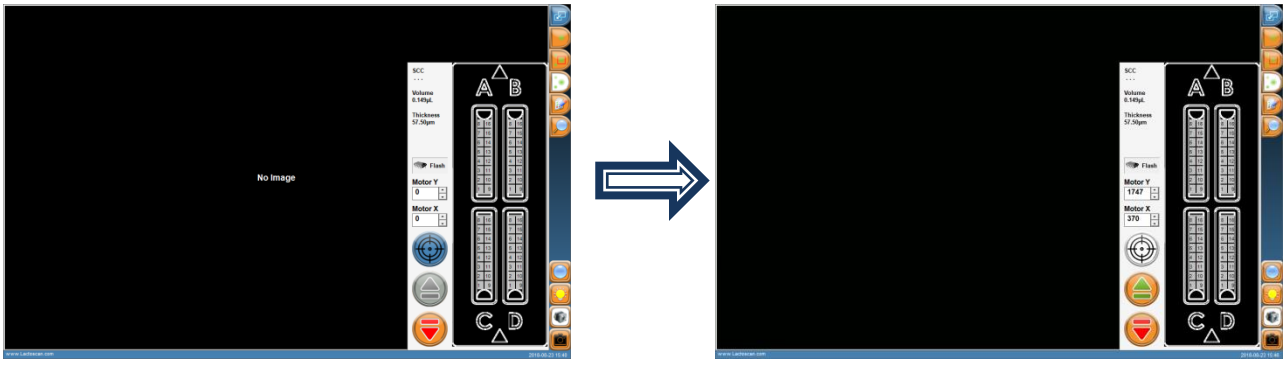
1. Para realizar la verificación, en el menú "Avanzado" presione el botón .

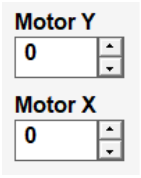


2. Presione el botón para abrir el menu para posicionar el microscopio LACTOSCAN SCC COMPACT en la escala graduada.

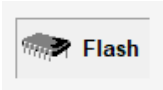


3. Presione para posicionar el microscopio en la escala graduada.



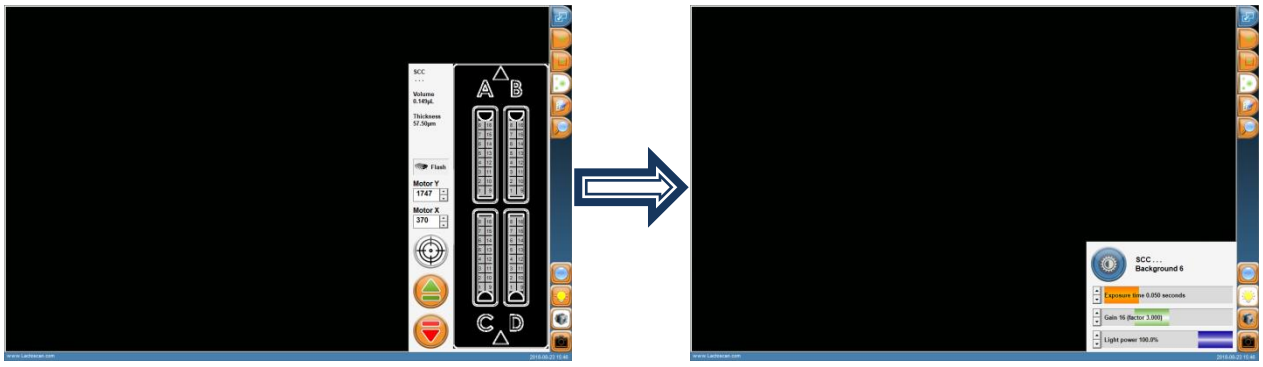
3.1. Utilice el Motor Y y el Motor X 

para una colocación más precisa del microscopio en la escala graduada.

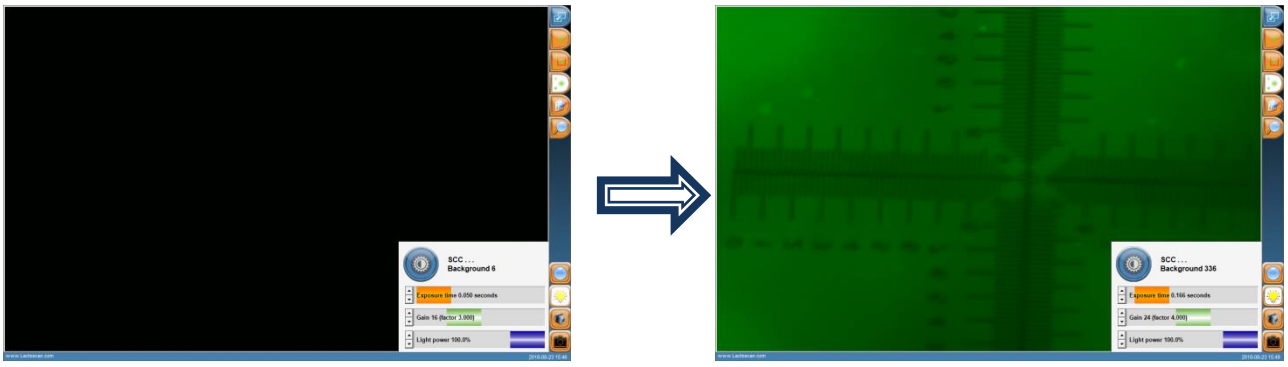
3.2. El Botón Flash 

abre un menú, que se debe usar solamente por un técnico capacitado. Todos los cambios, realizados en este menú, pueden provocar un mal funcionamiento del dispositivo.

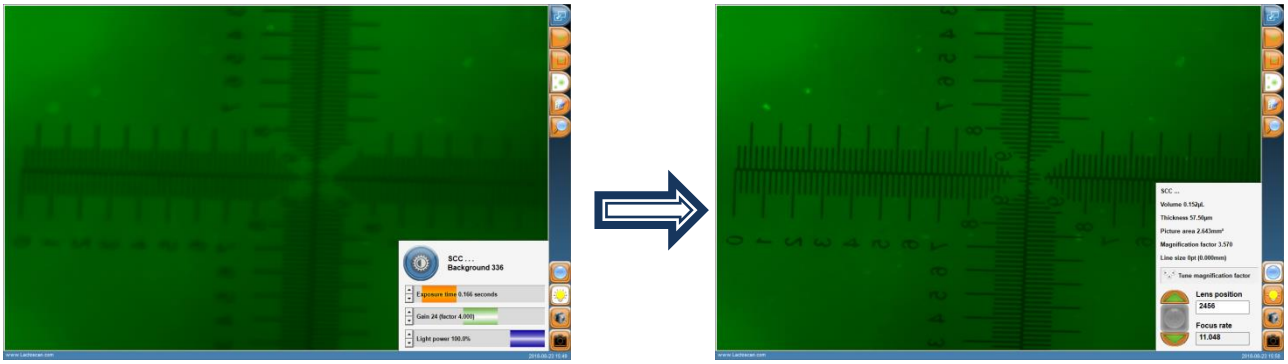
4. Presione el botón para abrir el menú de configurar la intensidad del LED.



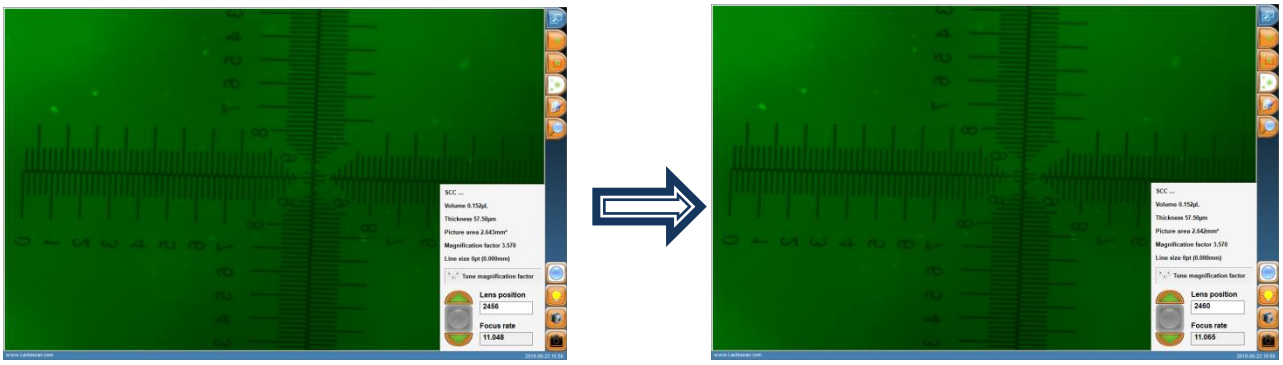
Para un descubrimiento automático de la mejor intensidad del LED, presione el botón . Si la imagen no parece suficientemente clara o la escala graduada parece demasiado oscura, use el botón deslizante para establecer la exposición.



5. Pulse el botón para pasar al menú de comprobar.



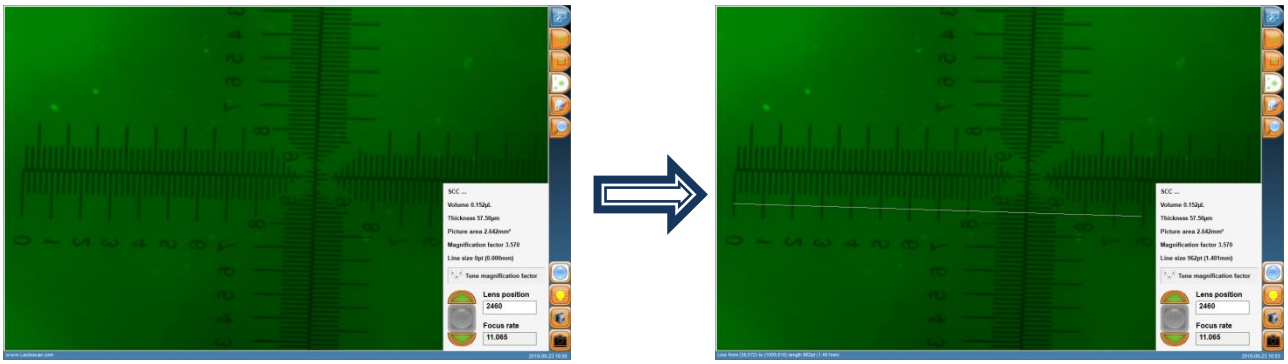
5.1. Usando los botones y , elija la mejor posición de la lente, en la que la tasa de enfoque es más alta.



Los valores para la tasa de enfoque son diferentes a una intensidad diferente del LED.

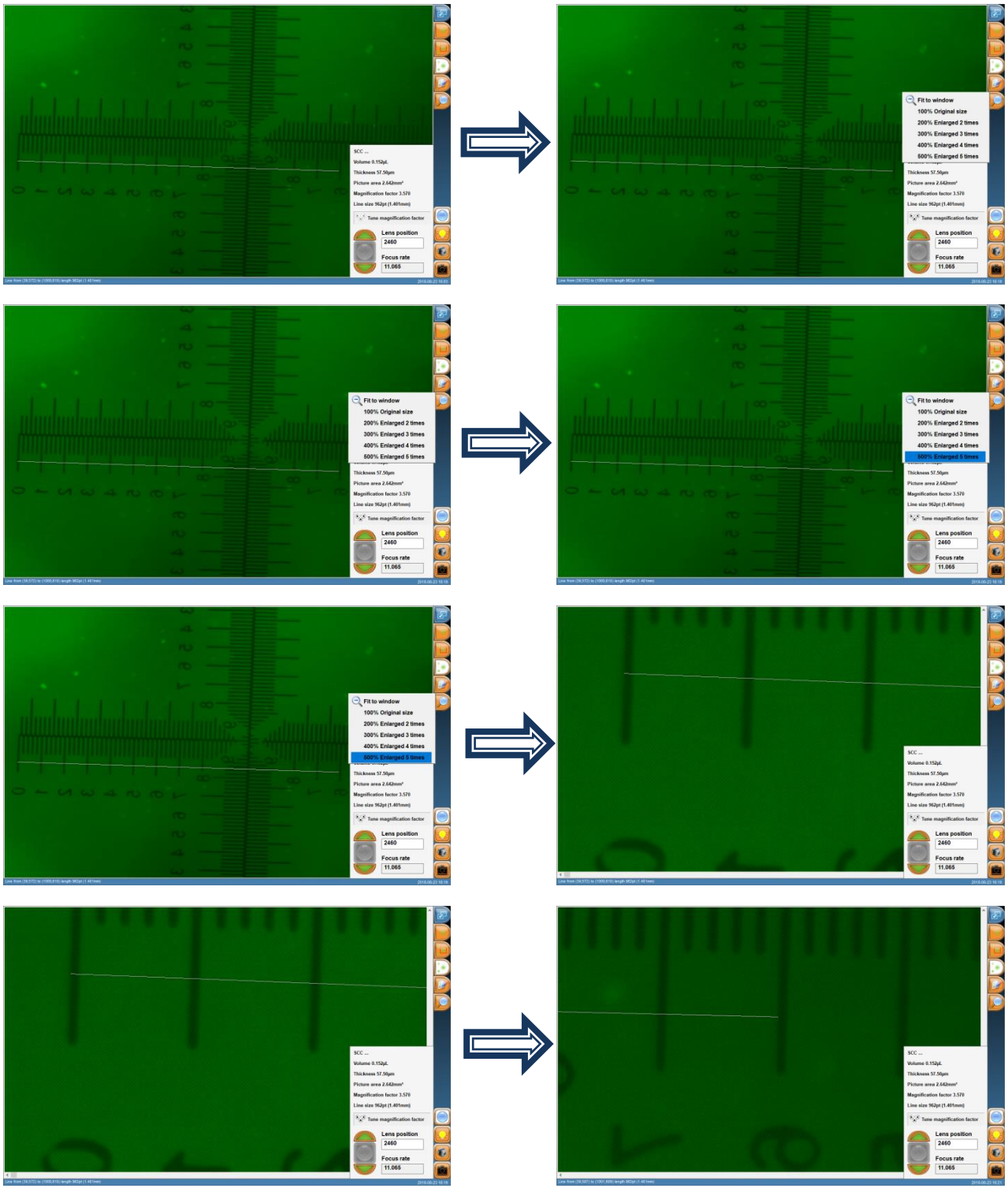
Coloque el ratón en la escala horizontal izquierda, en posición 0. Presione el botón derecho del ratón y arrástrelo a posición 6 de la escala horizontal derecha. De esta manera dibujarás una línea de medición.

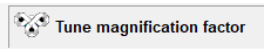
Por ejemplo: el tamaño de la línea debe ser 1.400 mm ± 0,01 ÷ 0,03 mm. Cuando el tamaño de la línea es diferente de 1.400 mm ± 0,01 ÷ 0,03 mm, no se establece la ampliación LACTOSCAN SCC COMPACT. Es necesario contactar con el centro de servicio de LACTOSCAN.



 Todos los derechos reservados

5.2. Para asegurarse de que la línea está colocada correctamente en posición 0 y posición 6 de la escala, presione el botón para ampliar.



5.3. El botón 

abre un menú, que se utiliza solamente por un técnico capacitado. Todos los cambios, realizados en este menú, pueden provocar un mal funcionamiento del dispositivo.

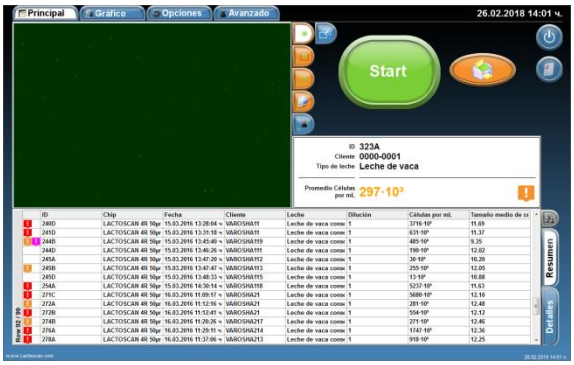
Renovación de la información para los tipos de LACTOCHIP, disponibles en software.

La renovación de los tipos de Lactochip, disponibles en software se realiza con un archivo de ayuda. Si es necesario renovar la información se pueden comunicar con nuestro taller.

Todos los derechos reservados

Salir del programa y desconectar LACTOSCAN SCC COMPACT

1. Para pasar al pantalla Desconexión pulse el botón



2. Para salir solamente del programa del equipo y pasar al sistema operativo Windows pulse

3. Para apagar el programa y el sistema operativo pulse el botón

Atención!
Siempre desconecte el equipo en fin de la jornada laboral o cuando se terminan los ensayos para este día.

4. Para volver al programa pulse el botón

Limpieza y mantenimiento.

El equipo LACTOSCAN SCC COMPACT necesita ajustar su autofoco periódicamente.

Cambiar los filtros cada mes.

Limpiar la caja de LACTOSCAN SCC COMPACT con un paño suave, mojado con agua destilada o alcohol, cuidando la entrada de alimentación eléctrica, USB entradas y la entrada de ScrollBAR. No pulverizar líquidos sobre el equipo cuando está conectado para prevenir un choque eléctrico. Resecar después de la limpieza

La pantalla de LACTOSCAN SCC COMPACT se limpia con un paño suave sin fibras, mojado con el producto de limpieza LCD, sin utilizar fuerza, cuidar los botones laterales de la pantalla y se debe seca después de la limpieza. No deben utilizarse productos abrasivos para no dañar la pantalla.

Para evitar la contaminación el equipo se limpia con un paño mojado con alcohol 70% cuidando las entradas de alimentación eléctrica y USB entrada y de ScrollBar. No se puede utiliza lejía para no manchar el equipo.

Cuidado!
Se botan los paños de limpieza en un contenedor apropiado.

Todos los derechos reservados

LACTOSCAN SCC COMPACT método para determinación de la cantidad de células somáticas en la leche cruda con LACTOSCAN SCC COMPACT

Según las normas internacionales unos de los indicadores para la calidad de la leche es la cantidad de las células somáticas que señala presencia de mastitis.

Hasta ese momento existen diferentes métodos para determinación de las células somáticas en la leche. Los distintos métodos se basan en las distintas propiedades y características pero con el ninguno se puede determinar la cantidad real de las células somáticas en las muestras. En condiciones ideales eso se pudiera hacer, pero existen muchos problemas teóricos y prácticos que lo imposibilitan y especialmente en caso de un análisis rápido y automático. Por motivo que en la muestra las posiciones de las células somáticas son casuales, si no se analiza la prueba completa cada resultado es relativo.

La cantidad total de las células somáticas se determina de acuerdo de la norma ISO 13366-1:2008"Leche - El conteo de células somáticas - parte 1: Método microscópico (método comparativo)". En la leche las células se distribuyen de acuerdo con la ley de POISSON. Para llegar a un nivel de exactitud (página 6 de la norma) en determinación de la cantidad total de las células somáticas es necesario contar una cantidad mínima, dada en la tabla.

Concentración de las células somáticas miles/ml	Coeficiente de variación, CV%	Cantidad mínima de las células contadas
< 150	10	100
150-250	7	200
250-400	6	300
≥ 400	5	400

La distribución de Poisson es por la formula $M = V = s^2$,

Donde: M – valorpromedio – (cantidad de las células contadas)

 Todos los derechos reservados

V - la desperción

s – desviación estandarte

Coeficiente de variación (CV) se calcula por la formula $CV = \frac{S}{M} * 100\%$

En los distintos métodos de conteo para llegar a la exactitud deseada, se presentan limitaciones practicas con el volumen de la leche ensayada efectivamente. Por ejemplo si la muestra contiene 100 000 células somáticas en 1ml para llegar a un CV<10% deben contarse min 100 células en no menos de 1 µL leche diluida. para tener una exactitud mayor un CV<5% es necesaria mayor cantidad de leche (4µL) donde se pueden contar como min 400 células.

Un momento importante es identificar bien las células somáticas y eliminar cada partícula que tiene parecido con ellas y influye sobre la determinación de la cantidad total de las células somáticas. Un factor clave de cada método de conteo es determinar también las dimensiones de esas partículas, lo que se complica más por motivo que los análisis se hacen a menudo lejos del lugar de ordeño y un tiempo después. La leche es un medio biológico con enzimas y microorganismos activos que pueden cambiar la morfología y la cantidad de las células somáticas aun que están conservados.

De acuerdo con lo mencionado como método de referencia para determinación real de las células somáticas se aceptó el método directo del análisis microscópico (DMA) con el uso de azul-metileno i tintes fluorescentes, según la norma IDF-ISO148. Existen aspectos que limitan su aplicación práctica como el proceso largo del ensayo y preparación intensiva del operador.

Otros aspectos negativos del método directo de análisis es colorear los artefactos, limitar el volumen de la muestra, llevar a un estado agregado de las células y permitir una inexactitud de su cantidad. Ese problema está expresado mas en las muestras de leche con células somáticas hasta 300 000/ml. Con el método directo de análisis la repetición de los resultados y la exactitud, depende más de la habilidad y la preparación del operador que de equipo utilizado.

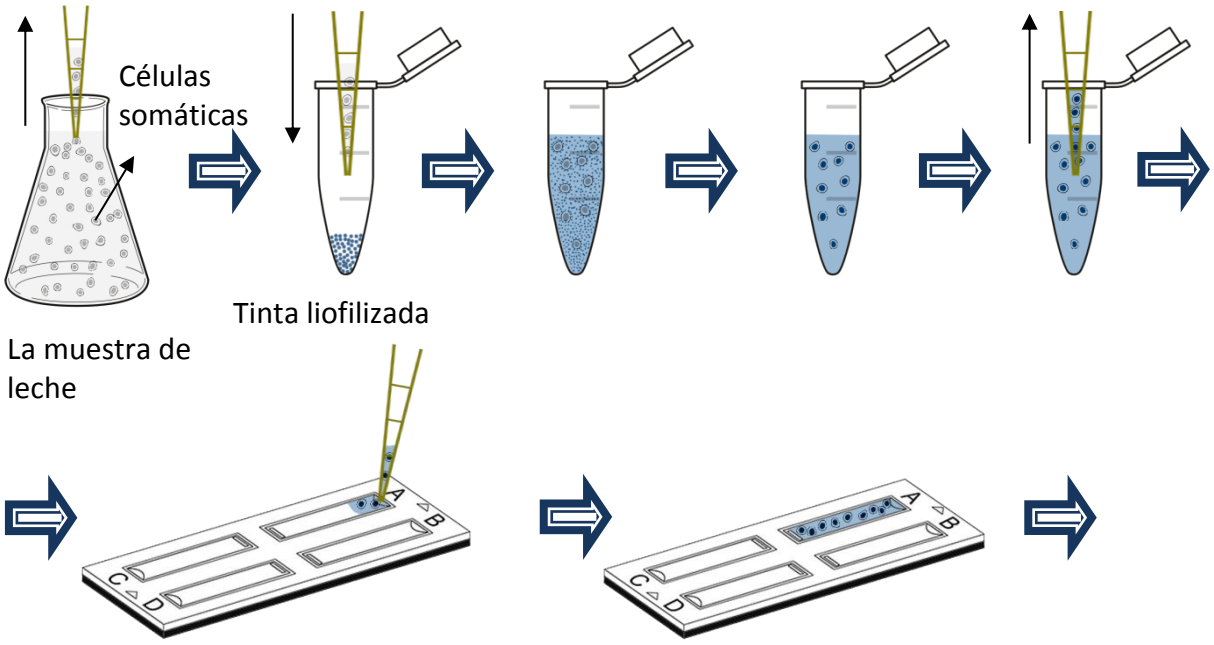
Para determinación de la cantidad total de las células somáticas (CTCS) se pueden usar y otros métodos. Un método típico y estándar es contar las imágenes fluorescentes con un microscopio de poco aumento (LACTOSCAN SCC COMPACT de Milkotronic Ltd., C-Reader "ADAM" de DigitalBio Technology; NucleoCounter SCC 100 de Chemometec; DCC de DeLaval)

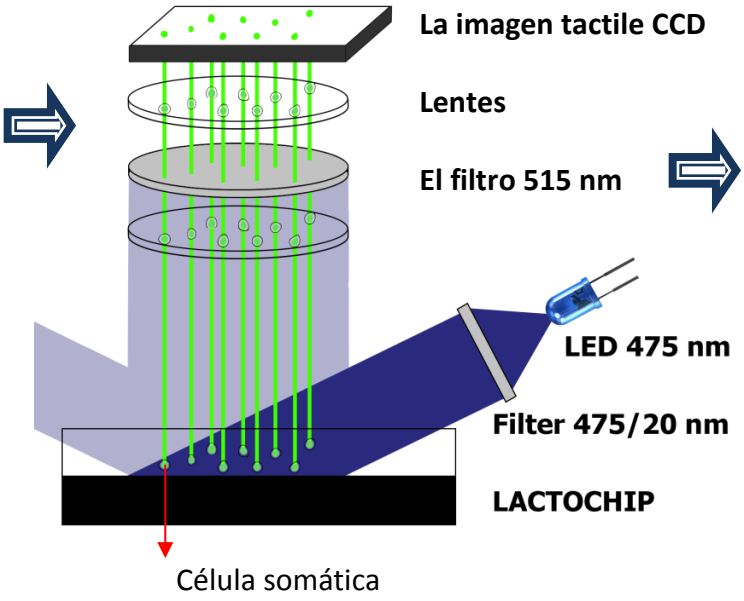
Citometria fluorescente ISO 13366-2:2006 (IDF 148-2: 2006). Leche: conteo de las células somáticas - PARTE 2: Manual para explotación de los contadores electrónicos, fluoro-ópticos (Somacount 150 de Bentley Instruments; Somascope TM de Delta Instruments) basa dos en la citometria-disco, un contador fluoro-óptico con un disco giratorio (FossoMatic 4000TM de Foss Electric). En los laboratorios de ensayos de leche la cantidad de células somáticas se determina con unos equipos automáticos que son exactos y confiables.

Existen unos métodos relativos donde la cantidad total de las células somáticas se determina después de la interacción de la leche con unos reactivos - por ejemplo TEST de mastitis de California, pero su exactitud y repetición son menores.

Milkotronic Ltd. creó LACTOSCAN SCC COMPACT portátil, basado en la técnica microscópica fluorescente con un bajo aumento. LACTOSCAN SCC COMPACT utiliza un colorante fluorescente sensible Sofia Green, LED óptica y SSD tecnologías de la filmación y eso hace el análisis exacto, confiable y rápido. La selección objetiva de LACTOSCAN SCC COMPACT está combinada con la estabilidad de los componentes electrónicos, ópticos, mecánicos y químicos del sistema, lo que es garantía de unos índices idénticos en todo el tiempo de explotación del equipo. La producción de los equipos garantiza alto grado de identidad de los mismos. Esa característica de LACTOSCAN SCC COMPACT ofrece también resultados idénticos de los análisis de la misma muestra, independiente del equipo utilizado del operador, del momento y del lugar se hacen los ensayos (La única condición es que la muestra ha guardado sus características).

Para contar las células somáticas la muestra de leche se mescla con un agente-colorante-fluorescente SOFIA GREEN. Solamente 12 µL de la muestra mesclada con el colorante se colocan con la pipeta en la cámara de medición LACTOCHIP. (de una sola vez). El chip se introduce en el equipo para un tiempo de unos segundos hasta 2 minutos en dependencia del régimen del ensayo. El sistema del LACTOSCAN SCC COMPACT automáticamente se fija sobre el chip y las células teñidas se graban por la cámara sensible CMOS. El algoritmo para el análisis de los imágenes digitales determina la cantidad y la dimensión de las células fluorescentes y calcula su concentración. Los resultados salen automáticamente en la pantalla del equipo o por la impresora. Hay posibilidad de guardar los resultados para su utilización futura.





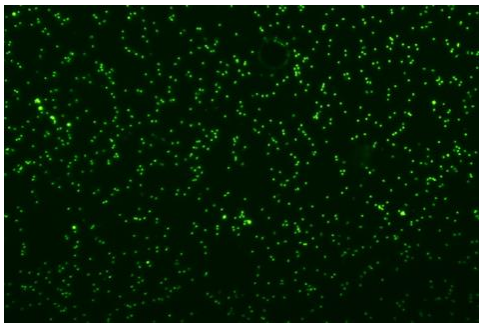


Imagen microscopico-fluorescente

Comparación entre el análisis MDA y el análisis realizado con LACTOSCAN SCC COMPACT

En el laboratorio de Bulurites de sector "Investigación científica de la Universidad de Prof. Dr. Asen Zlatarov, ciudad Burgas, se hizo un análisis comparativo con 14 muestras patrón de leche cruda, tratadas con glicerina, "timerozola y dimethyl sulphoxide". La cantidad total de las células somáticas en cada muestra de leche- patrón, se analizó con el método MDA y con eso del equipo de LACOTSCAN SCC.

El método directo de análisis, como método de control se hizo según la norma ISO 13366-1:2008 «Leche – Conteo de células somáticas - Parte 1: Método microscópico (Método comparativo)»

10 µL de las muestras analizadas se colocaban sobre 1 cm^2 de la superficie marcada del cristal y el frotis obtenido se secaba. Después de secarse los frotises se coloreaban con azul-metílico u con colorante fluorescentes y las células teñidas se contaban con el microscopio. La cantidad de las células contadas sobre la superficie exacta de 1 cm^2 se multiplicaba con el coeficiente de trabajo para determinar las células somáticas en 1ml.

Encada frotis se contaron 50 campos con el movimiento el microscopio vertical y a la derecha. Para concluir: de cada muestra de leche se analizaron 10 frotises y en cada frotis se contaron 50 campos con el movimiento consecutivo: vertical y a la derecha.

LACTOSCAN SCC COMPACT con el método microscópico-fluorescente con el contador LACTOSCAN SCC COMPACT se hizo según el protocolo de la empresa.

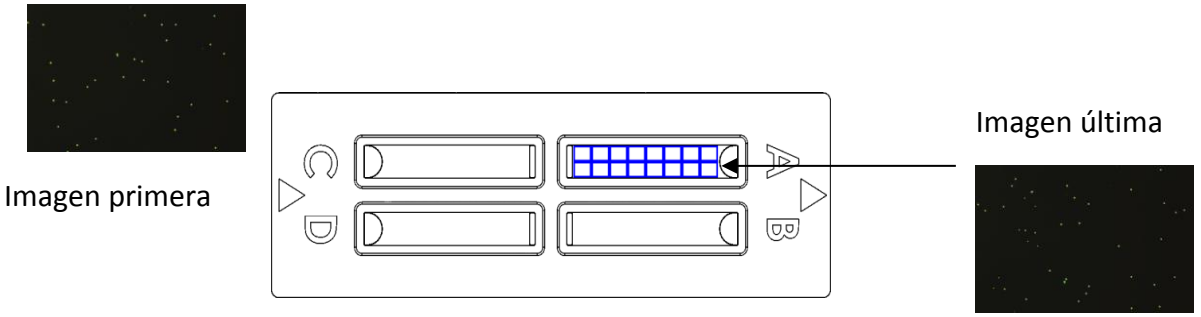
La esencia del método utilizado basa en lo siguiente:

 Todos los derechos reservados

La membrada citoplasmática de las células somáticas se rompe por el reactivo tope resecado y el colorante fluorescente SOFIA GREEN accede a los núcleos de las células y su ADN se colorea. Los señales luminosas de las células teñidas se localizan por el detector de la cámara CMOS y se forman imágenes como unos puntos luminosos correspondientes a la energía irradiada por cada célula. Con el movimiento automático por ejes X y Y el equipo puede filmar más de 70 imágenes. Los imágenes se analizan por el software y se determina la cantidad de las células somáticas. Después de la colocación del LACTOCHIP con la muestra, el proceso es automático-

Efectuarel análisis.

Se toma una muestra con una temperatura entre 10 y 40 ºC, se remueve con cuidado, evitando hacer espuma. Con una pipeta automática se colocan 100 µL de la leche en un "eppendorf" con un reactivo tope. Por unos segundos se mezcla cuidadosamente con la mescladora Vortex o con la micro-pipeta automática repitiendo el proceso de colocación. Después de 1 minuto el contenido de "eppendorf" se remueve de nuevo y se toman 12µL de la leche teñida y con la pipeta se ponen en la cámara micro-fluídicade LACTOCHIP x2.



Se espera unos 20 segundos para parar el movimiento de la leche teñida en la cámara micro-fluídicay el LACTOCHIP se coloca en el soporte de LACTOSCAN SCC COMPACT. La muestra se analiza automáticamente y los resultados se visualizan en la pantalla del equipo. Esos resultados automáticamente se guardan en la base de datos.

Análisis de los resultados:

La cantidad de las células somáticas en la muestra de leche analizada se manifestaron como miles células por ml sobre una pantalla del equipo. Ya sabemos que para contar las células somáticas se utilizaron los dos métodos: MDA y el método de LACTOSCAN SCC COMPACT. Se calcula el coeficiente de variación de los resultados obtenidos por los dos métodos. Su valor demuestra la repetición y confiabilidad de eses resultados.

Resultados.

La precisión del equipo del LACTOSCAN SCC COMPACT

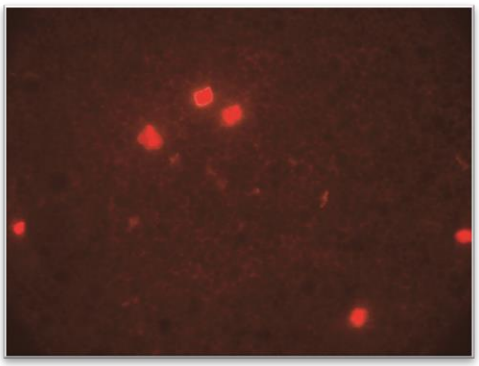
La precisión del método para determinar la cantidad total de las células somáticas con el equipo del LACTOSCAN SCC COMPACT está basada en posibilidades técnicas de los dos variantes de 4 µL y de 9 µL:

 Todos los derechos reservados

Cantidad de células 1 ml	LACTOSCAN SCC COMPACT modo 4 µL		LACTOSCAN SCC COMPACT modo 9 µL		Exigencia mínima de la norma ISO13366-1	
	Células contadas	CV%	Células contadas	CV%	Células contadas	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

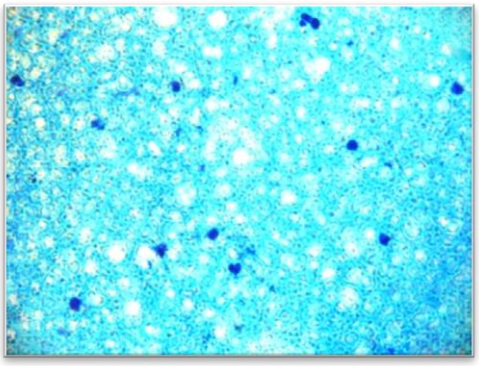
Comparación de los imágenes de las células contadas hechos con el método directo microscopio u con el equipo de LACTOSCAN SCC COMPACT

A) Imagen de células somáticas tenidas con bromodes oxiuridina (MDA)



Concentración de las células somáticas:
700x10^3/ml Aumento: **1:1000**

B) Imagen de células somáticas tenidas con azul-metílico (MDA)



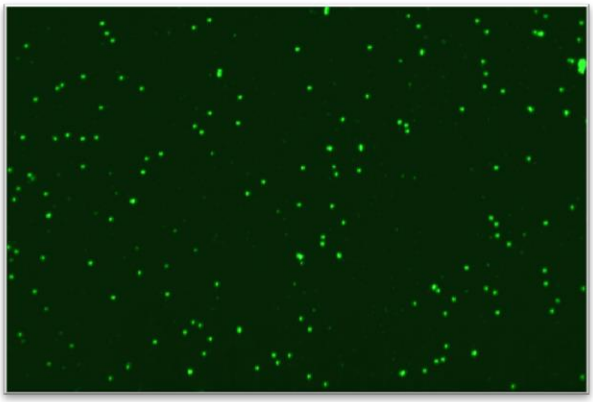
Concentración de las células somáticas:
1200x10^3/ml Aumento: **1:1000**

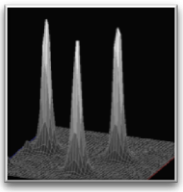
C) Células somáticas teñidas con Sofia Green–imagen de LACTOSCAN SCC COMPACT.

Aumento numérico:
1:20

3D imágenes

Todos los derechos reservados





Concentración de las células somáticas: 1200x10^3/ml Aumento: 1:4

Analizando el chip (variante 1) de 4 µL la exactitud está mayor que las exigencias mínimas de la norma. El chip con 9 µL (variante 2) el resultado tiene una exactitud máxima posible para los aparatos electrónicos.

Los resultados de los ensayos de 14 muestras de leche están dados en la tabla siguiente:

	LactoscanSCC				CTCS				
Muestras de leche ensayadas	Valor promedio cell/ml	Desviación estandarte	Coeficiente de variación %	Cantidad de células contadas en 50 campos	Valor promedio cell/ml	Desviación estandarte	Coeficiente de variación %	Cantidad de células contadas en 50 campos	Campos visuales necesarios
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

Los ensayos ce realizaron por los dos métodos: con el LACTOSCAN SCC COMPACT y el MDA. En la figura 2 está dada la correlación lineal entre los valores recibidos de 14 muestras donde la cantidad total de las células somáticas crecen de 50 000/ml hasta 1 650 000/ml R 2, 0,995; 95% CI, 0,990 ~ 0,999; p <0.01)

La comparación de los resultados muestra que el equipo LACTOSCAN SCC COMPACT demuestra una exactitud y repetición aceptables CTCS por el análisis de correlación de Pirson.

Cuando la cantidad total de las células somáticas (CTCS) es baja, el uso del MDA obliga analizar más de 50 campos visuales microscopios para cumplir con la norma. Por ejemplo para la leche con CTCS: 50 000/ml por el método DMSCC se contaron de 6 - 9 células en los 50 campos y con el equipo LACTOSCAN SCC COMPACT de 171- 212 células durante un solo conteo.

Todos los derechos reservados

Las gráficas siguientes representan la comparación de los resultados:

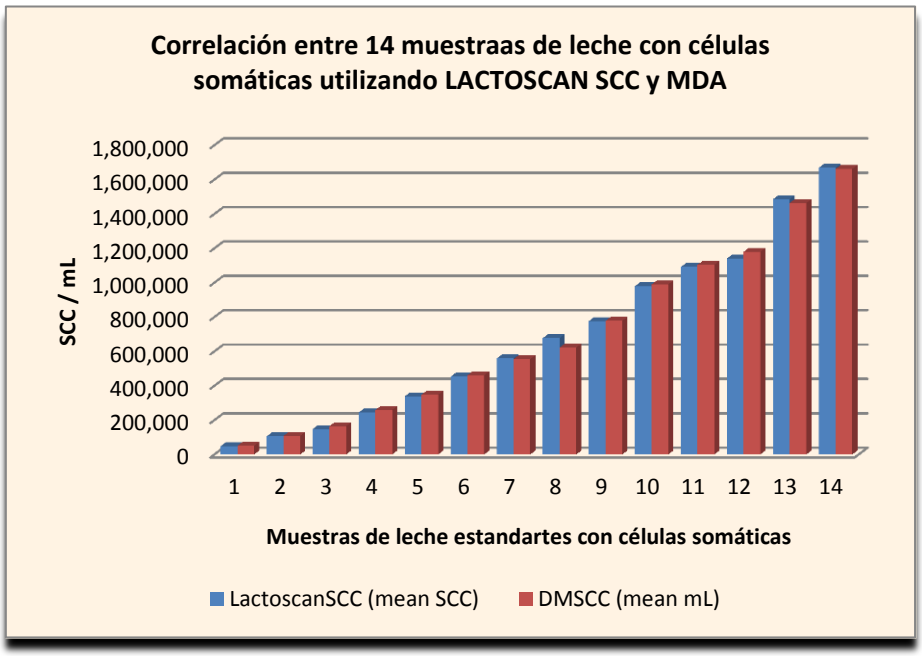


Fig.1

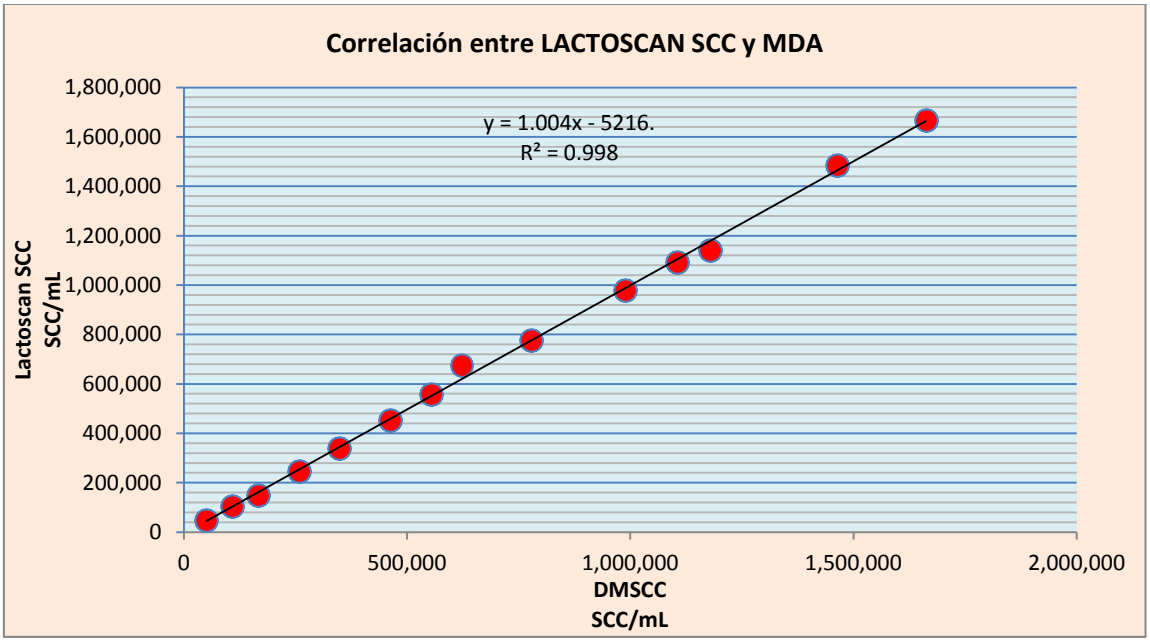


Fig.2

Todos los derechos reservados

Los datos comunes de repetición de CTCS en cada una de las 14 muestras de leche utilizando MDA estánres umidos en la tabla siguiente:

concentración	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Valor promedio	Desviación estandarte	Coeficiente de variación %
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

Los datos comunes de repetición de CTCS en cada una de las 14 muestras ensayadas con LACTOSCAN SCC COMPACT en muestra de 4 µL, están resumidos en la tabla siguiente:

Muestras de leche	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Valor promedio	Desviación estandarte	Coeficiente de variación %
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

Todos los derechos reservados

Está visto que los intervalos están dentro de los límites recomendados por la Asociación láctea internacionalparacontadoressomáticos (hasta150 000 CV%< 10: de 150 000 hasta 250 000 CV%<7:de 250 000 hasta 400 000 CV%<6 ymayorde400 000 CV%<5). Con el uso del equipo de LACTOSCAN SCC COMPACT con un chip plástico para análisis de leche, los valores de CTCS varían menos que utilizando el método MDA. Esa relación entre los resultados de la cantidad somáticas CTCS utilizando los dos métodos varía entre 0,897 ~ 1,089. Por eso se puede aceptar la repetición de los valores de CTCS determinados con el equipo de LACTOSCAN SCC COMPACT.

En la gráfica está dada la relación entre los coeficientes de variación (CV%) de los resultados obtenidos con LACTOSCAN SCC COMPACT y el método directo de análisis (DMA)

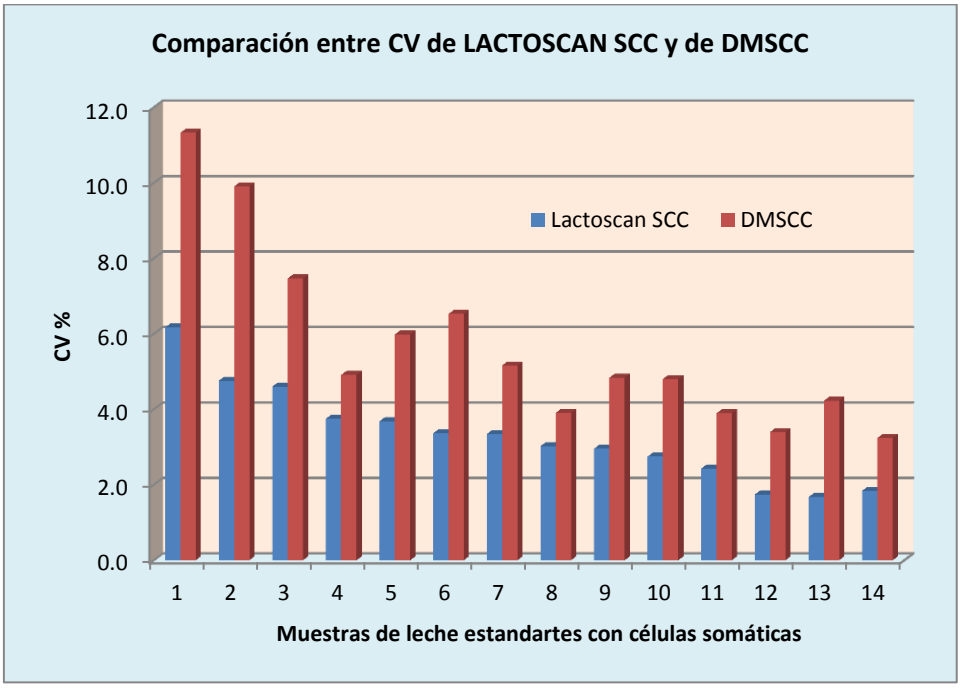


Fig.3

 Todos los derechos reservados

Comparación de la precisión potencial de los equipos basada sobre la identificación de los imágenes con el microscopio de bajo aumento. Los datos están dados por los productores y corresponden al volumen efectivo de la leche ensayada y los resultados de distribución normal de Poisson.

cantidad 1 ml	LACTOSCAN SCC COMPACT modo 4 µL		LACTOSCAN SCC COMPACT modo 9 µL		C-Reader "ADAM" máx 9 µL		NucleoCounter SCC 100 1 µL		DELAVAL DCC 0.1 µL	
	Células total	**CV%**	**Células total**	**CV%**	**Células total**	**CV%**	**Células total**	**CV%**	**Células total**	**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

Todos los derechos reservados

Comparación entre las características básicas de los equipos, fundados sobre la identificación de la imagen fluorescente con el microscopio de bajo aumento. En la tabla siguiente están datos dados por los productores de leche.

	LACTOSCAN SCC COMPACT	**DMSCC**	**C-Reader "ADAM"**	**NucleoCounter SCC 100**	**DCC**
Productor	Milkotronic		DigitalBioTechnology	Chemometec	DeLaval
Método de coloración	Colorante fluorescente	fluorescente / sin colorante	Colorante fluorescente	Colorante fluorescente	Colorante fluorescente
Re-agente	Sofia Green	EtBr/MB	PI	PI	PI
Microscopio	Fluorescent (4 x)	Light (1000 x)	Fluorescent (4 x)	Fluorescent (0,7x)	Fluorescent (4 x)
El volumen necesaria de la muestra	100uL	1 mL	100uL	100uL	60 uL
Dilución	no	no	1:2	1:2	no
Volumen ensayado	**9 uL**	**0,149 uL**	**9 uL**	**1 uL**	**0,1 uL**
Cantidad de imágenes	máx 70	~ 50	90	1	1
Tiempo del análisis	máx 120 muestras/hora	-	máx 60 muestras/hora	hasta 100 muestras/hora	Máx60 mustras/hora
Diapasón de la densidad de las células	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
Procesamiento de la imagen	Reconocer la imagen fluorescente	persona	Reconocer la imagen fluorescente	Reconocer la imagen fluorescente	Reconocer la imagen fluorescente
Calibración	no	не no	No	no	no
Aplicación	**cantidad, dimensión de la célula**	**cantidad, dimensión de la célula, morfología**	**cantidad, dimensión de la célula**	**Solo cantidad**	**Solo cantidad**

Todos los derechos reservados

Tiempo de procesamiento	rápido		Muy lento	Rápido	rápido	rápido

Error humana	N		Y	N	N	N
Método	Semejante al Método Estandarte		Método Estandarte	Semejante al Método Estandarte	Semejante al Método Estandarte	Semejante al Método Estandarte
Repetición	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%**	<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 000cell/ml CV(%) - **3%**	100 000 cell/ml CV(%) - **12%** 400 000 cell/ml CV(%) - **8%** 1 000 000cell/ml CV(%) - **7%**
Preparación de la muestra	Sencilla			Complicada	Sencilla	Sencilla	sencilla
Calibración	N			-	N	N	N
Tipos de células	Células somáticas			La mayoría de las células	Células somáticas	Células somáticas	Células somáticas
Capacidad de filtrar	Alta			Baja	Alta	Alta	Alta
Periferia	Chip, colorante, seco agente			Microscopio, re-agente	Chip, colorante liquido	Casete, tope liásico	Casete, colorante seco, agente liásico
Dimensión del equipo	Pequeño			-	Pequeño	Pequeño	Pequeño
Peso	5 kg			-	10 kg	3 kg	4 kg
Re-agente				Preparación manual	Liquido colorante	Introducido en la casete tope liásico	Introducido en la casete tope liásico

Todos los derechos reservados

Queremos señalar que LACTOSCAN SCC COMPACT aumenta los imágenes 4 veces y eso da posibilidad de diferenciar mejor y determinar las dimensiones de las partículas, lo que influye considerablemente sobre la exactitud de los ensayos. Como comparación NucleoCounter SCC 100 tiene 0.7 aumento de microscopio y no permite diferenciar visualmente las células.

Es necesario añadir también y su gran volumen de medición- hasta 9mcl lo que permite mejores coeficientes de variación, comparados con la norma. La alta exactitud de medición de LACTOSCAN SCC COMPACT junto con su precio bajo muy competitivo y el precio bajo de los consumibles (hasta hoy limitaba el uso de esos tipos de aparatos por el precio de los consumibles) lo hace muy atractivo por el momento.

En la tabla siguiente según los datos dados por los productores se pueden comparar las características básicas de LACTOSCAN SCC COMPACT y los otros aparatos de citometria fluorescente.

	LACTOSCAN SCC COMPACT			**Somacount 150**	**SomascopeTM**
Característica	Milkotronic			BentleyInstruments	DeltaInstruments
Método de coloración	Colorante fluorescente			Colorante fluorescente	Colorante fluorescente
Re-agente	Sofia Green			EtBr/0,083 mg	DAPI
Microscopio	Fluorescente (4 x)				
Volumen necesario de la muestra	100uL			3,5 ml	2 ml
	no			1:2	
Volumen medido	**Máx9 uL**			máx10	máx10
Fotos tomados	máx 70			-	
Tiempo del análisis	máx 120 muestras/hora			máx 150 muestras/hora	Máx400 muestras/hora
Diapasón de densidad celular	1 x 10E4 ~ 20 x 10E6			0 ~ 10x10E6	0 ~ 10x10E6
Procesar el imagen	Reconocer las imágenes fluorescente			Citometria fluorescente	Citometria fluorescente
Calibración	No			Sí	Sí
Aplicación	**recuento, dimensión de la célula**			Recuento	recuento
Tiempo de procesar	rápido			rápido	Rápido
Error humano	No			no	
Método	Parecido con el Método Estandarte			-	-
Repetición	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%**
Preparación de la muestra	simple				
Tipos de células	Células Somáticas			Células Somáticas	Células Somáticas
Capacidad de filtrar	Alta			Alta	Alta
Periferia	Chip, colorante, seco agente				
Dimensiones	pequeño				
Peso	5 kg			33 kg	10 kg

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

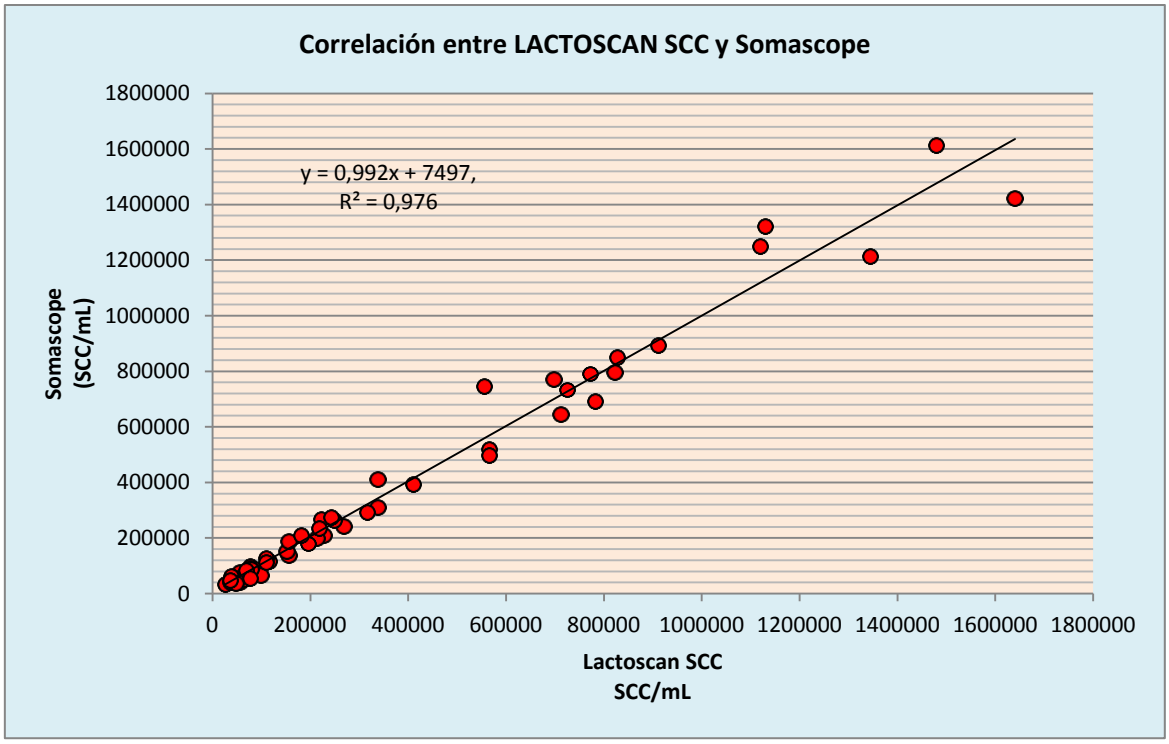


Fig.4

Comparación entre LACTOSCAN SCC COMPACT y el aparato de FOSS, basado en citometria- disco:el contador tiene disco giratorio fluoro-óptico. Los datos están suministradas por el productor.

característica	LACTOSCAN SCC COMPACT			Fossomatic 5000TM
	Milkotronic			FOSS
Repetición	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(%) - **7%** 300 000 cell/ml CV(%) - **5%** 500 000 cell/ml CV(%) - **4%**

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

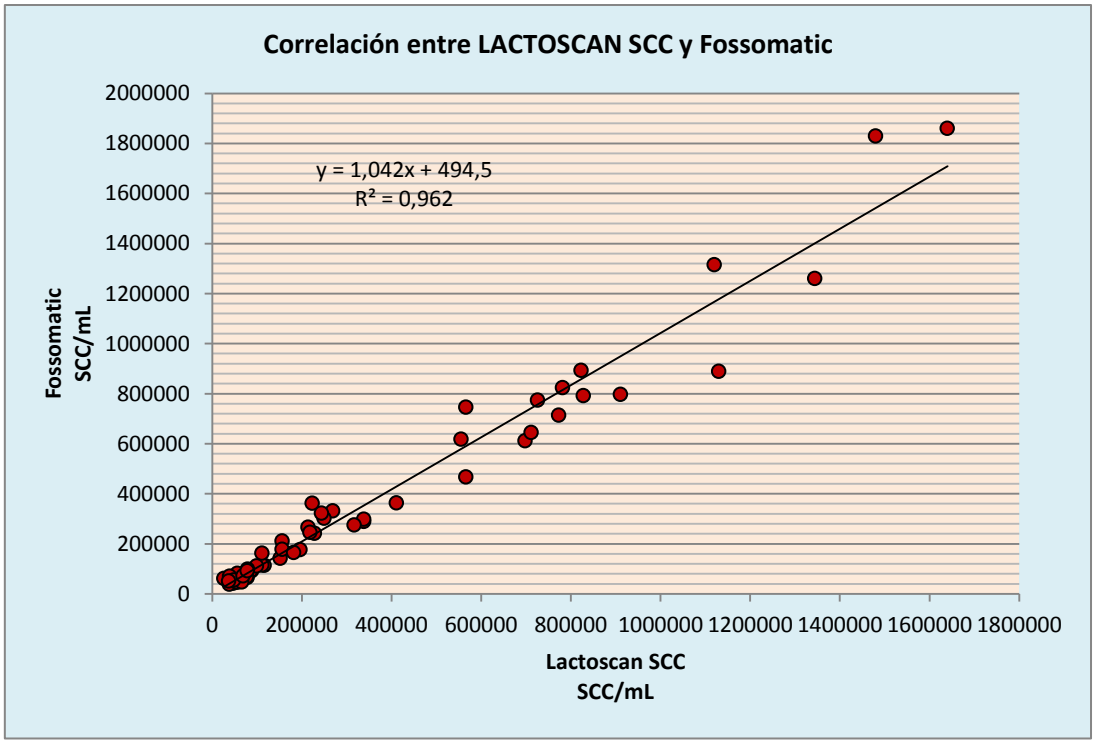


Fig.5

Conlusión

Con elequipo LACTOSCAN SCC COMPACT se creyó un método para determinación de las células somáticas en la leche de vaca.

La determinación de la cantidad total de las células somáticas es muy confiable y se puede hacer con lechecruda o leche conservada con componente orgánico INN, acidobórico, test NaN3 o test K2CrO7

El equipo LACTOSCAN SCC COMPACT se puede utilizar en los laboratorios de investigación de leche, en las granjas de producción y en las empresas donde se procesa la leche muy reproductivamente.

Con el equipo LACTOSCAN SCC COMPACT las muestras son muy representativas con cada ensayo se determina la cantidad total de las células somáticas (CTCS) en 4µL y 9 µL de leche (con el método DMA esa cantidad es 0,149 µL)

Los índices de repetición no retroceden a los otros equipos con la microscopia-fluorescente (Foss Electric, Bentley Instruments, Delta Instruments y otros.)

Con el equipo LACTOSCAN SCC COMPACT se trabaja fácil, simplemente, rápido, exacto y confiable. Es un equipo portátil y muy cómodo para los laboratorios y en las granjas con el objetivo de mejorar la calidad de las leches crudos.

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Descubrimiento de la mastitis por los hongos unicelulares en muestras de la leche con LACTOSCAN SCC COMPACT

La llamada mastitis por los hongos unicelulares y en general la presencia de los hongos unicelulares en la leche es un asunto importante para los todos que trabajan en la esfera de las producciones lácteas: granjeros, médicos veterinarios, laboratorios de análisis, cooperantes científicos, productores de equipamiento para el conteo de células somáticas y otros.

La importancia se determina por algunos motivos fundamentales:

El aumento incontrolado en el uso de antibióticos que estimulan el desarrollo de los hongos unicelulares en la ubre;
Presencia de la mastitis de los hongos unicelulares ha aumentado en la última década;
En algunos países ser hasta más del 10% de animales padecen de esta mastitis.

Las causas fundamentales de la mastitis por los hongos unicelulares son: Candida albicas, Candidacatenulata, Candidaglabrata. Normalmente estos hongos unicelulares se encuentran en la leche de animales, los cuales no han desarrollado aun los síntomas de la mastitis de los hongos unicelulares y sería necesario que al menos en el estándar del conteo microscópico ISO 13366-1 IDF 148-1 - El conteo de células somáticas - Parte 1: El método microscópico (Método de referencia) que se señale que hacer si estas células entran en el campo visual del microscopio, porque estas miden 5-6 mkm y deben contarle según su dimensión porque todos los leucocitos, células epitelial y fragmentos de células que miden de 4mkm se cuentan.

„Estándar Internacional ISO 13366-1 IDF 148-1

Leche — Conteo de células somáticas — Parte 1: Método Microscópico (Método referente)

8.2 Determinar

8.2.1 Optimizar el conteo

Con la ayuda del microscopio (5.3), se cuentan los núcleos de células obtenidas en el campo de frotis (8.1.1 o 8.1.2) llenada totalmente con frotis de leche. Escoja el mejor aumento (de 500x hasta 1 000x), para tener un numero medio como máximo de 20 células en cada campo.

Las células poseen núcleos de color. Normalmente las células son de 8 µm o mayores. No cuenten las células con menor de 4 micrones (ver fig. 1). Contar los fragmentos solamente si mas del 50 % de los núcleos se pueden ver. Contar las

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

partículas de células como una pero en las que el núcleo está claramente partido no se cuentan.

Ver asimismo las figuras 2 y 3

Fig 1 – Ejemplos de células

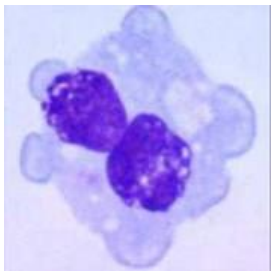
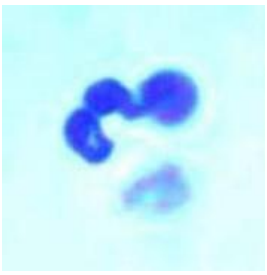
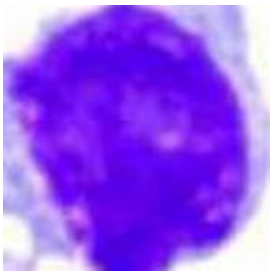
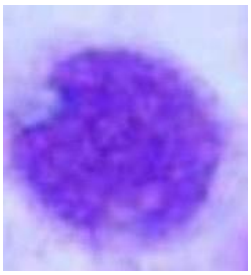
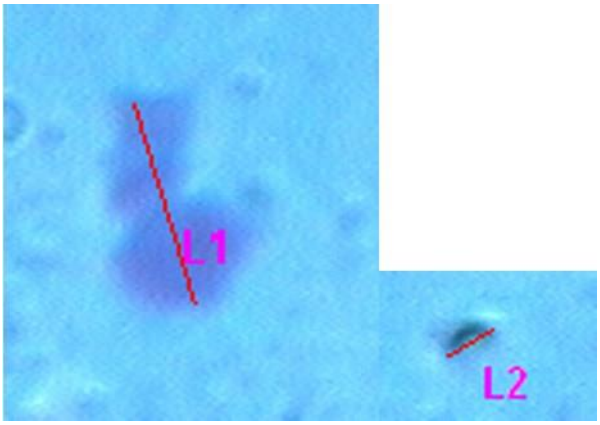
			
Macrófagas **8-30 µm** La unión entre el citoplasma/ núcleo es grande. Fagocitosis, antígeno mostrado, secreción con atrayente químico .	Leucocitos polimorfonucleares **10-14 µm** 90% mastitis aguda 60% crónica. La unión entre el citoplasma/ núcleo es pequeña. Fagocitosis. Primera línea de decencia en la mastitis.	Linfocitos **5-10 µm** La unión entre el citoplasma/ núcleo es pequeña. Núcleos teñidos fuerte T asistente T supresor B nuclear.	Células epitelial **10-14 µm** Núcleos redondeados. Citoplasma teñido leve.

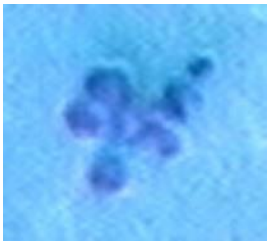
Figura 2 - Ejemplos de células de leche de vaca común (1 000 x aumento)



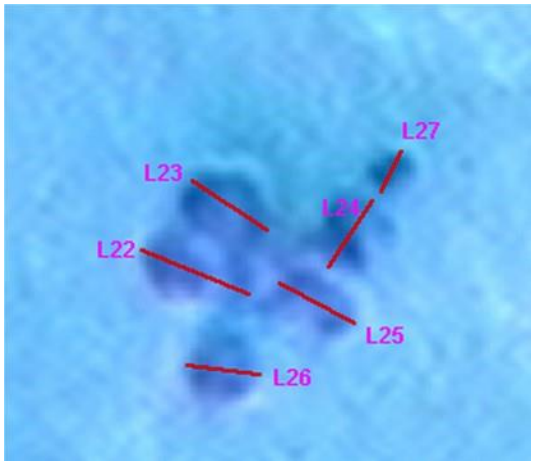
Longitud de la célula:L1=9,79µmи L2 = 2,77µm

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Figura 3 - Ejemplos de células de leche de vaca común



(500x aumento)



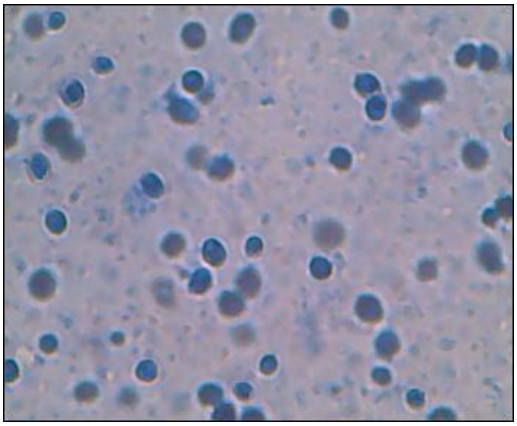
(1 000x aumento)

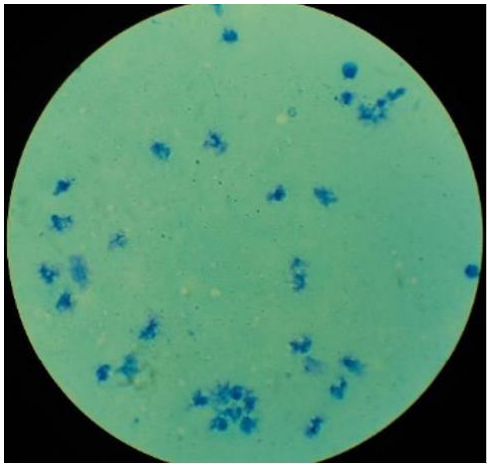
Longitud de la célula:L22=9,08µm;L23=8,27µm;L24=4,95µm;L25=7,39µm;L26=6,37µmyL27=3,58 µm.

En el ejemplo de la figura 3 deben contarse 5 células. L27 se ha saltado porque su diametro es menos de 4 µm.

En ningún lugar se ha señalado que la leche puede contener hongos unicelulares que tienen apariencia de leucocitos y hay que tener cuidado de no se sumen al total de células somáticas. Existe la posibilidad que un auxiliar de laboratorio referente que no ha sido extrañado en diferenciar los hongos unicelulares de los leucocitos, las pueda sumar al total en los muestras referentes y usarlas en la calibración del contador electrónico.

En las fotos de abajo se muestra como se ver los hongos unicelulares teñidos con los mismos reactivos usados en ISO 13366-1 IDF 148-1:

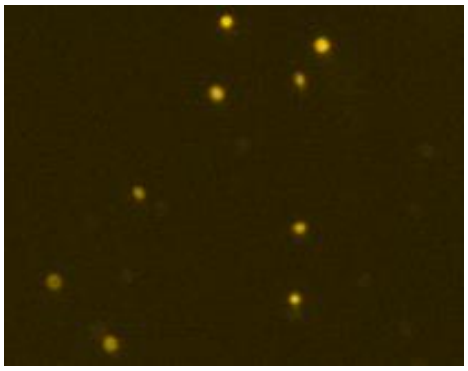




Hongos unicelulares teñidos de azul de metileno en una muestra de leche.

Y

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados



Hongos unicelulares teñidos con propidio de yodo en una muestra de leche.

Estos se pueden contar como células somáticas e influir en la correcta determinación en el número de células somáticas en la leche y en la determinación del tipo de mastitis: animal sano, mastitis bacteriana sub-clínica, y mastitis bacteriana clínica, de aquí la forma y el tipo de curación (curar con antibióticos ayuda a la reproducción de hongos unicelulares), al costo de la leche y otros.

Hasta ahora nadie ha indicado la cantidad de hongos unicelulares en la leche, la cual no conduce a la mastitis por hongos unicelulares ni el numero de estos o el tipo, porque hasta ahora en IDF no se recomiendan métodos referentes y equipos para identificación y conteo de células en la leche, mediante lo cual se puede determinar que células son de origen de los leucocitos, cuales son epitelial y cuales son de hongos unicelulares, y la diferenciación en el conteo de leucocitos (determinación separado de neutrofilos y macrófagos como criterio en el desarrollo de mastitis).

Apenas durante 2016 se comenzó a hablar de estar exigencias al método referente y nuevos métodos referentes que tienen estas posibilidades.

<u>En los documentos de IDF:</u>

1. SCSA S15 Mejorar el método referente para el conteo de células somáticas:

Opiniones del método nuevo

Características

• **Identificación clara de células.**
• Medición de las mismas células como el método referente actual (sin cambios en la determinación o nivel de la medición).
• Buena repetición
• Efectividad mejorada.
• Fáciles en el uso para caracterizar los materiales referentes.
• Aplicación ideal para el conteo diferencial de las células somáticas.

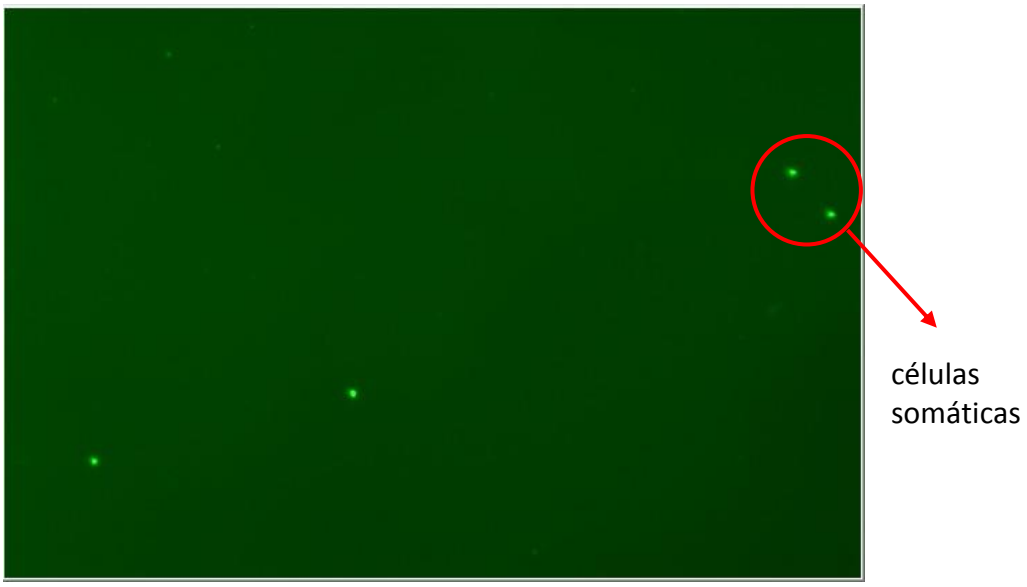
© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Por otra parte los métodos electrónicos están monopolizados por 2-3 compañías que usan la citometría protónica en su variante más antiguo en comparación con la electrónica protónica médica, sin determinar el tamaño de las células y su diferenciación, con es en los citrometros fluorescentes protónicos aplicados a la medicina. En la práctica estos pueden medir los hongos unicelulares pero los productores no resuelven ese problema. Ellos calibran los equipos para que no "vean" la mayor parte de los hongos unicelulares calibrado el Threshold (Umbral)/ De manera que el nivel de emisión de las señales de las células fluorescentes sea más alto que el nivel de emisión de las señales de las hongos unicelulares./, ya que estos son menores 4-6 μm y tienen menor ADN. Debido a que estos equipos son algo así como grandes cajas negras los operadores no tienen control visual, en la observación con el microscopio estos hongos unicelulares quedan invisibles.

Con LACTOSCAN SCC COMPACT por primera vez existe la posibilidad que de forma operativa contar los hongos unicelulares en muestra de leche y determinar el número del células somáticas con exactitud referente.

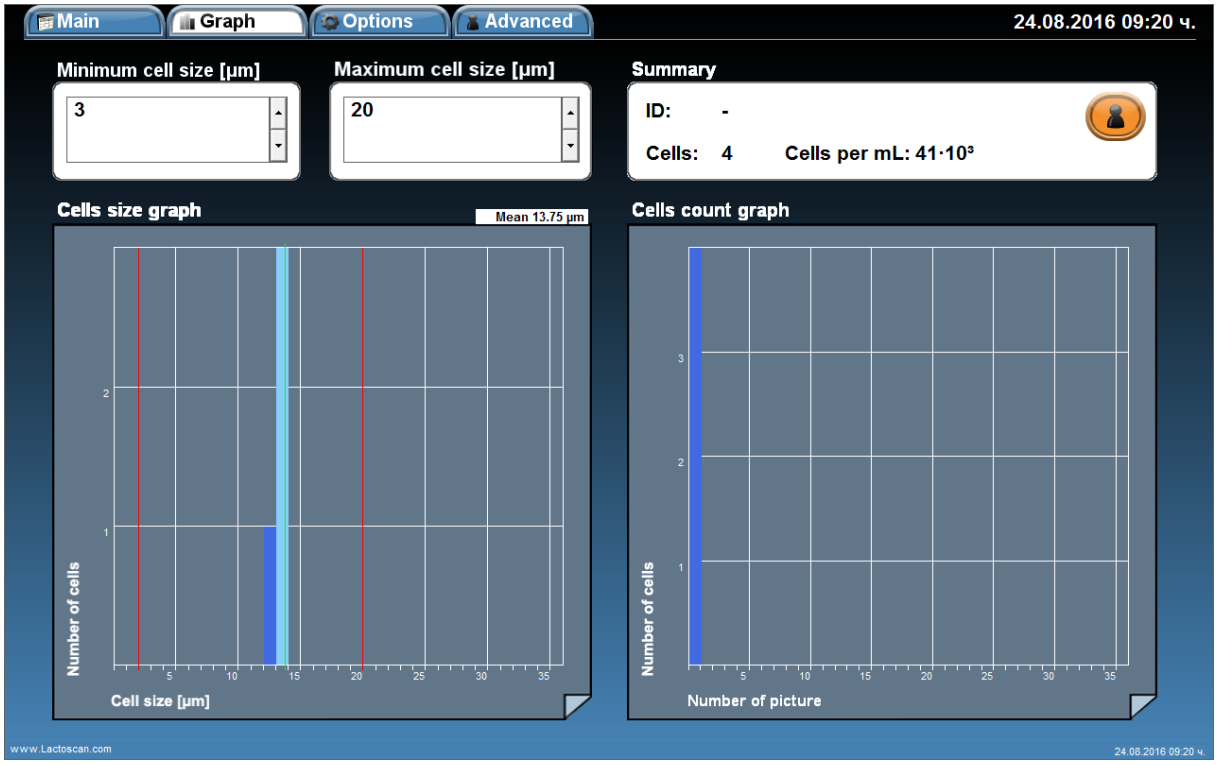
Se han mostrado fotos bajadas por LACTOSCAN SCC COMPACT que se encuentran en diferente partes del mundo. En leche de animales cuando hay solo leucocitos provocados por mastitis bacterial o solo un nivel normal de leucocitos (macrófagas, neutrofilios y linfocito) para un animal la medida media de las células está en el diapasón 9-14 μm.

Imagen 1. Muestra de leche de animales sanos



© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

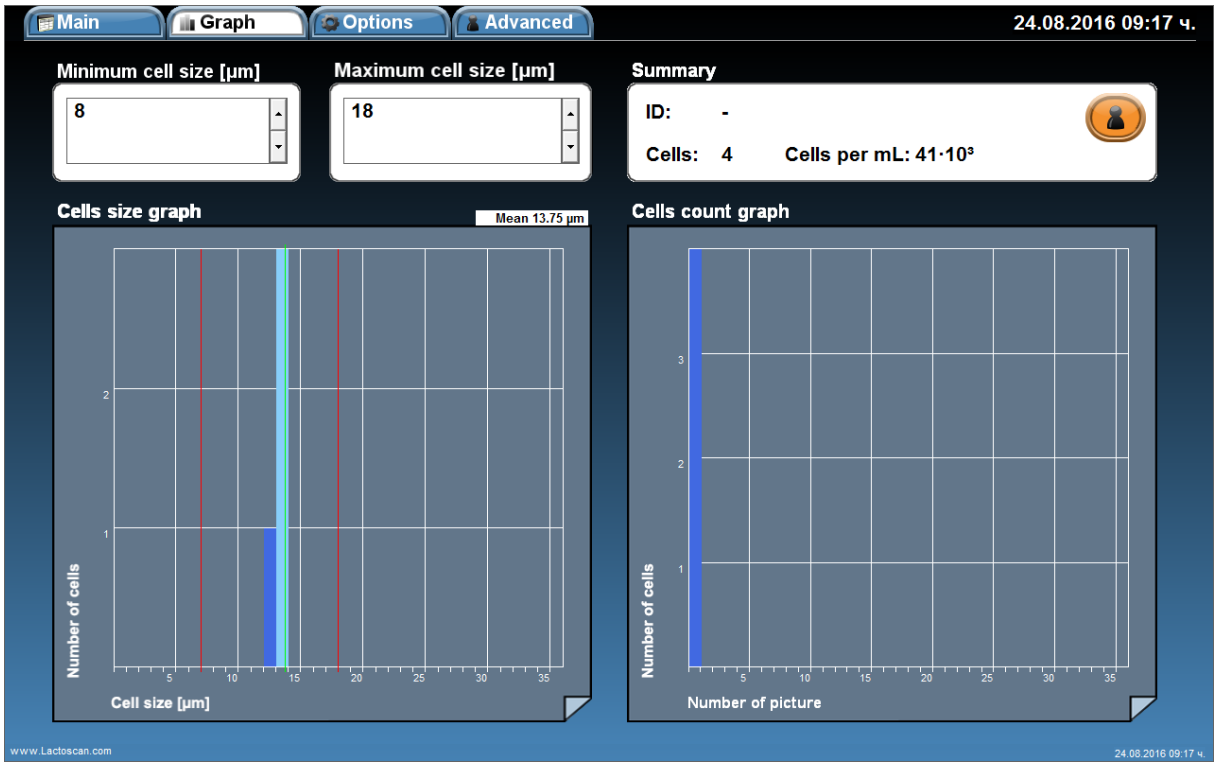
Grafico de la Imagen 1. La medida mínima de las células es de 3 µm



Cuando el diapasón de la medida de las células es de 3 hasta 20 µm, las células contadas son 4, equivalente a $41x10^3$ cel/mL. La medida de las células está entre 13 y 14 µm. La medida media de las células es 13.75 µm y no hay células pequeñas por debajo de 9 µm. El pico de la medida de la célula se alcanza en 14 µm.

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Grafico de la Imagen 1. La medida mínima de la célula se da en 8 µm



Cuando el diapasón de la medida de las células es de 8 a 20 µm, células contadas son 4, equivalente a 41x10^{3}cell/mL. La medida de las células está entre 13 y 14 µm. La medida media de la célula es 13.75 µm y no hay células pequeñas por debajo de 9 µm. El pico de la medida de la célula al alcanza en 14 µm.

Según los gráficos se puede sacar la conclusión que hay solo células somáticas en la leche. No hay cambios en el resultado final cuando el diapasón de medidas de las células contadas esta dado de 3 a 20 µm y cuando esta dado de 8 a 20 µm.

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Imagen 2. Muestra de leche de animal con mastitis por hongos unicelulares.

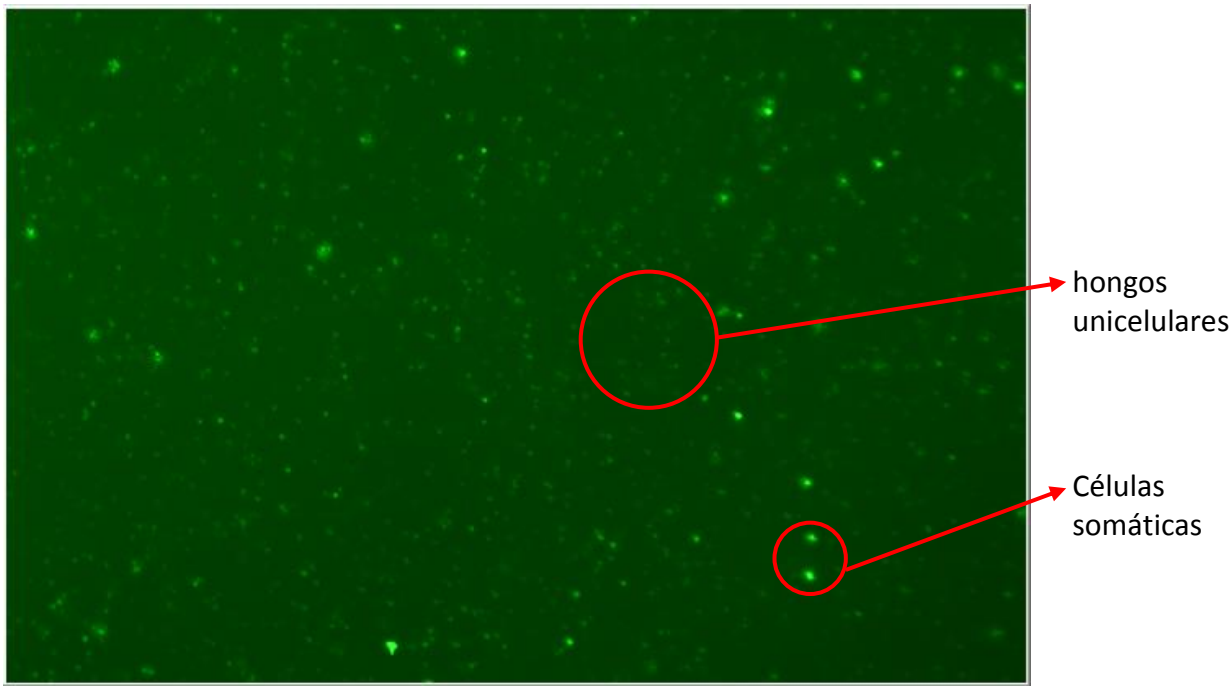
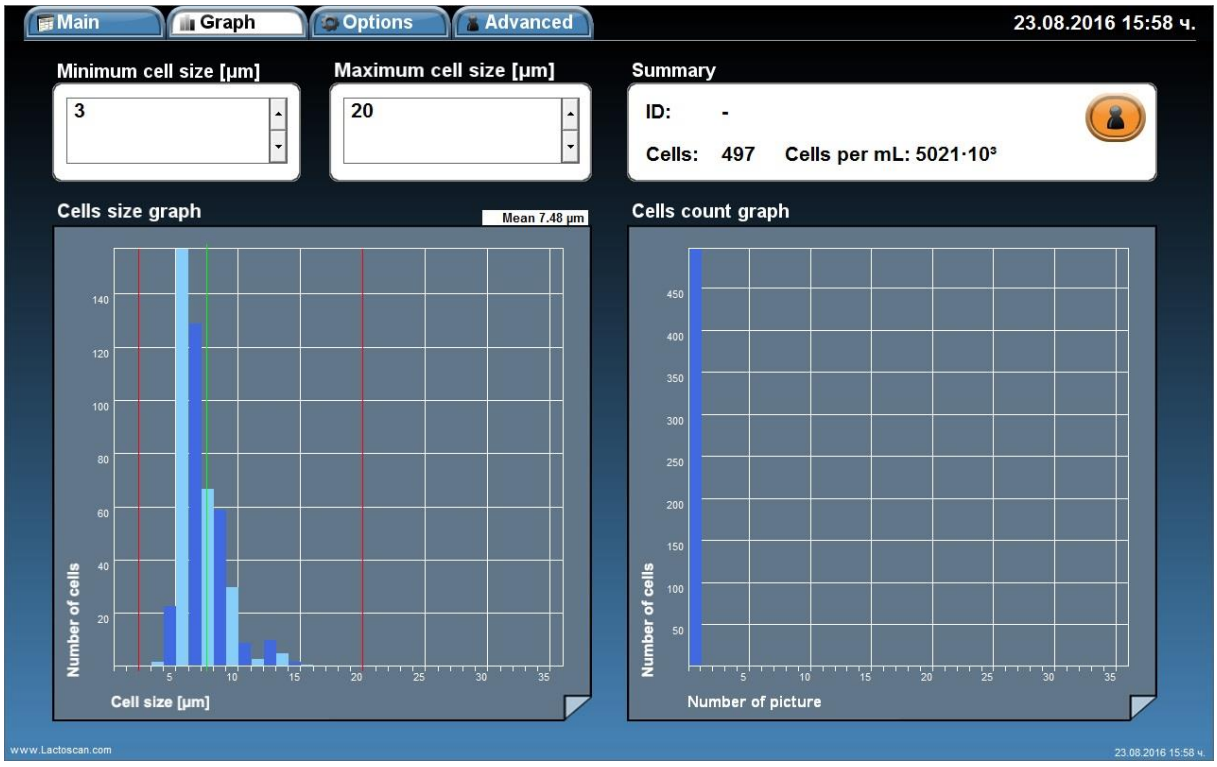


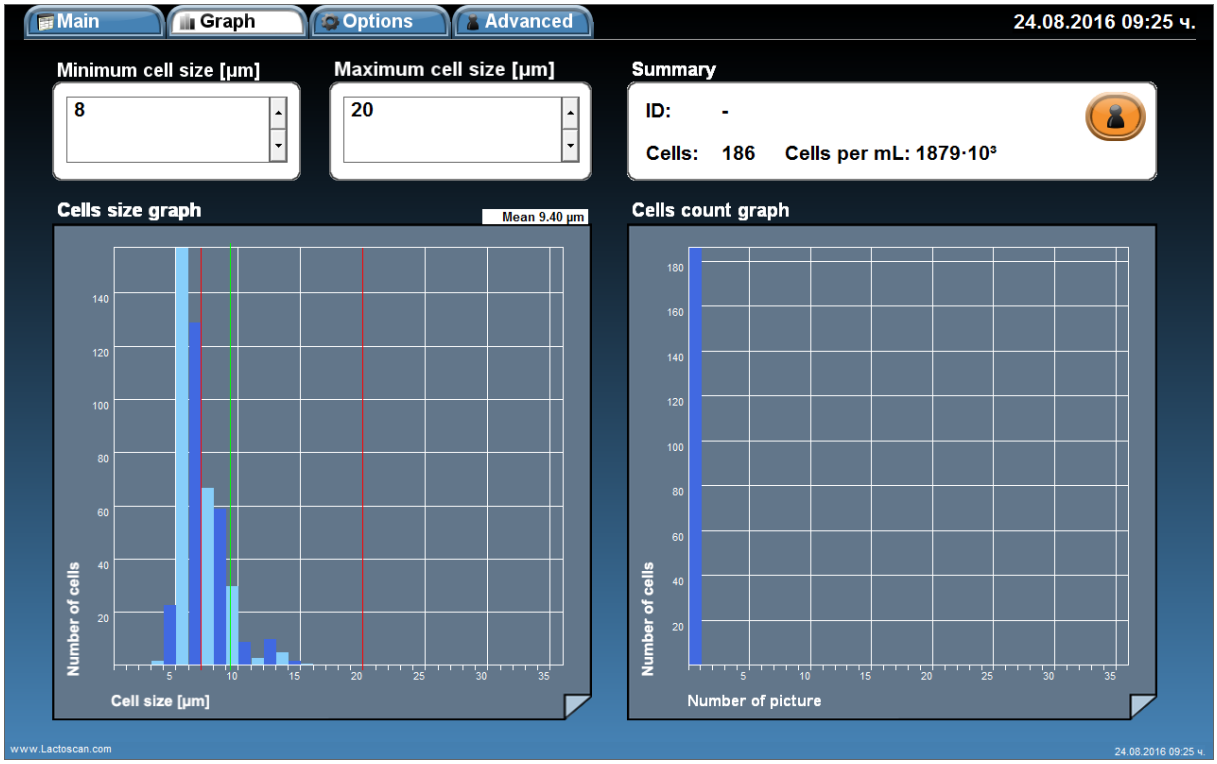
Grafico de la Imagen2. La medida mínima de la célula se da en 3 µm



Cuando el diapasón de la medida de las células es de 3 a 20 µm, células contadas son 497, equivalente a5021x10^{3}cel/mL. La medida de las células está entre4 y 15 µm. La medida media de la célula es 7.48 µm .La mayoría de la células tienen una medida a 9 µm. La medida de la célula al alcanza el máximo en 7 µm.

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Grafico de la Imagen 2. La medida mínima de la célula está dada en 8 µm



Cuando el diapasón de la medida de las células es de8 a 20 µm, células contadas son 186, equivalente a1879x10^{3}cel/mL. La medida de las células incluidas en el resultado final está entre 8 y 15 µm. La medida media de la célula es 9.40µm. La medida de la célula al alcanza un máximo en8 µm.

Si comparamos los resultados de los gráficos podemos sacar la conclusión que en la foto hay 67% de hongos unicelulares con una medida entre 4 – 8 µm y 37% células somáticas.
El gran número de hongos unicelulares, 311 células contadas= 3142 x10^{3}cel/mL, es confirmación de la presencia de mastitis clínica.

Número de células somáticas, 186 células contadas = 1879x10^{3}cel/mL, es confirmación de la presencia de mastitis clínica.

Según los resultados podemos sacar la conclusión que la leche analizada es de un animal con mastitis clínica y mastitis por hongos unicelulares.

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Imagen 3. Muestra de animal con mastitis por hongos unicelulares.

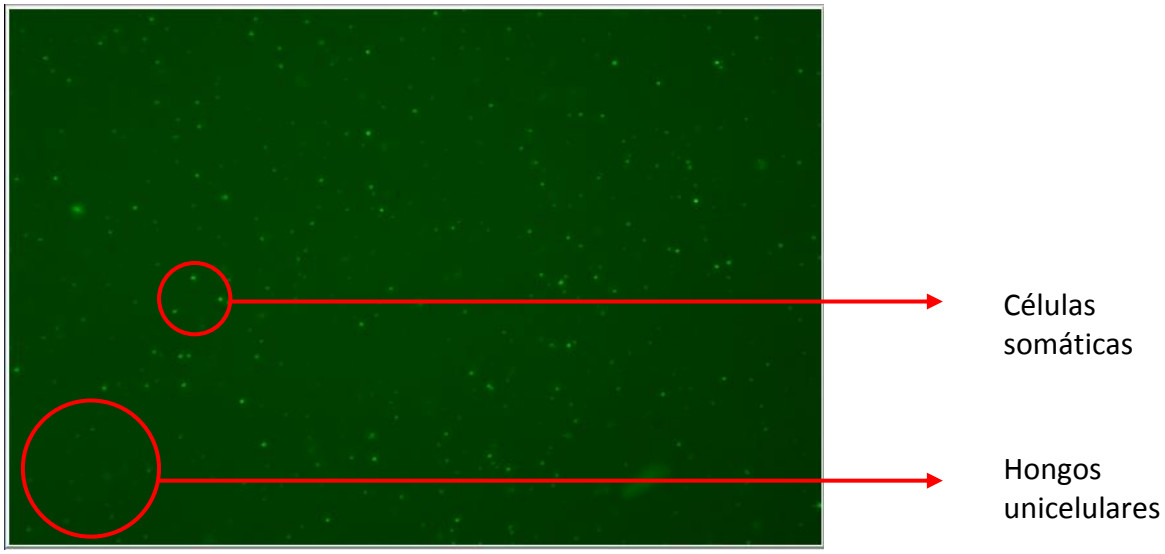
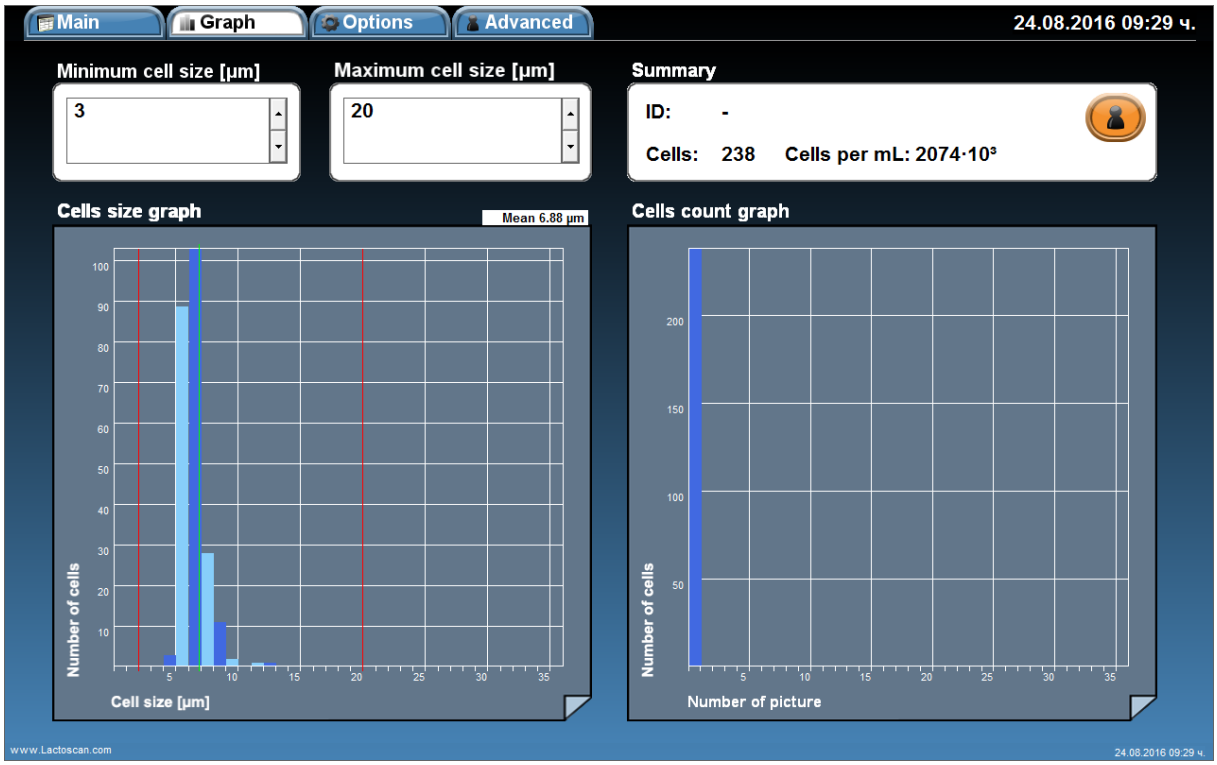


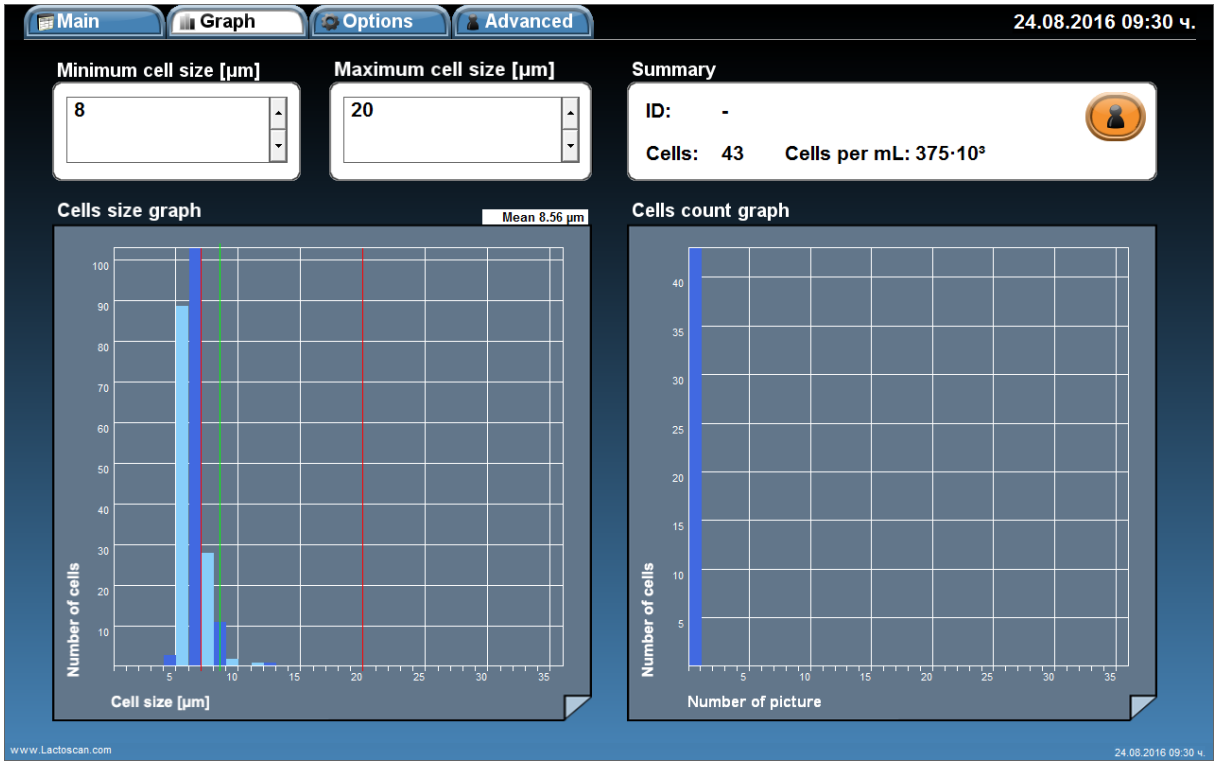
Grafico de la imagen 3. La medida mínima de la célula está dada en 3 µm



Cuando el diapasón de la medida de las células es de 3 a 20 µm, células contadas son 238, equivalente a 2074x10^3 cel/mL. La medida de las células está entre 5 y 13 µm. La medida media de la célula es 6.88µm. a mayoría de la células tienen una medida inferior a 9 µm. La medida de la célula al alcanza un máximo en 7 µm.

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Grafico de la imagen 3. La medida mínima de la célula está dada en 8 µm



Cuando el diapasón de la medida de las células es de 8 a 20 µm, células contadas son 43, equivalente a 375x10^3 cel/mL. La medida de las células incluidas en el resultado final está entre 8 y 15 µm. La medida media de la célula es e 8.56 µm. La mayoría de la células tienen una medida a 8-9 µm. La medida de la célula al alcanza un máximo en 8 µm.

Si comparamos los resultados de los gráficos podemos sacar la conclusión que en la foto hay82% de hongos unicelulares con una medida entre 5 – 8 µm y 18% células somáticas. El gran número de hongos unicelulares,195células contadas= 1699x10^3 cel/mL, s confirmación de la presencia de mastitis por hongos unicelulares.

El número de células somáticas,43células contadas= 375x10^{3}cel/mL, es una señal de un posible desarrollo de mastitis sub-clínica.

Según los resultados podemos sacar la conclusión que la leche analizada es de un animal con mastitis por hongos unicelulares y un posible desarrollo de mastitis sub-clínica al mismo tiempo.

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Imagen 4. Muestra de animal con mastitis por hongos unicelulares.

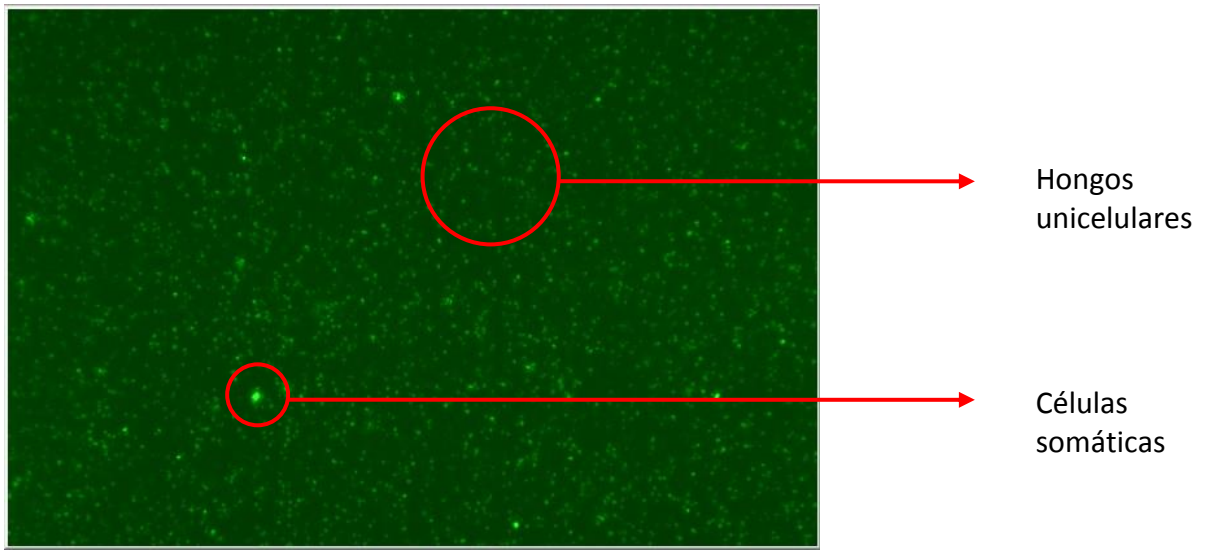
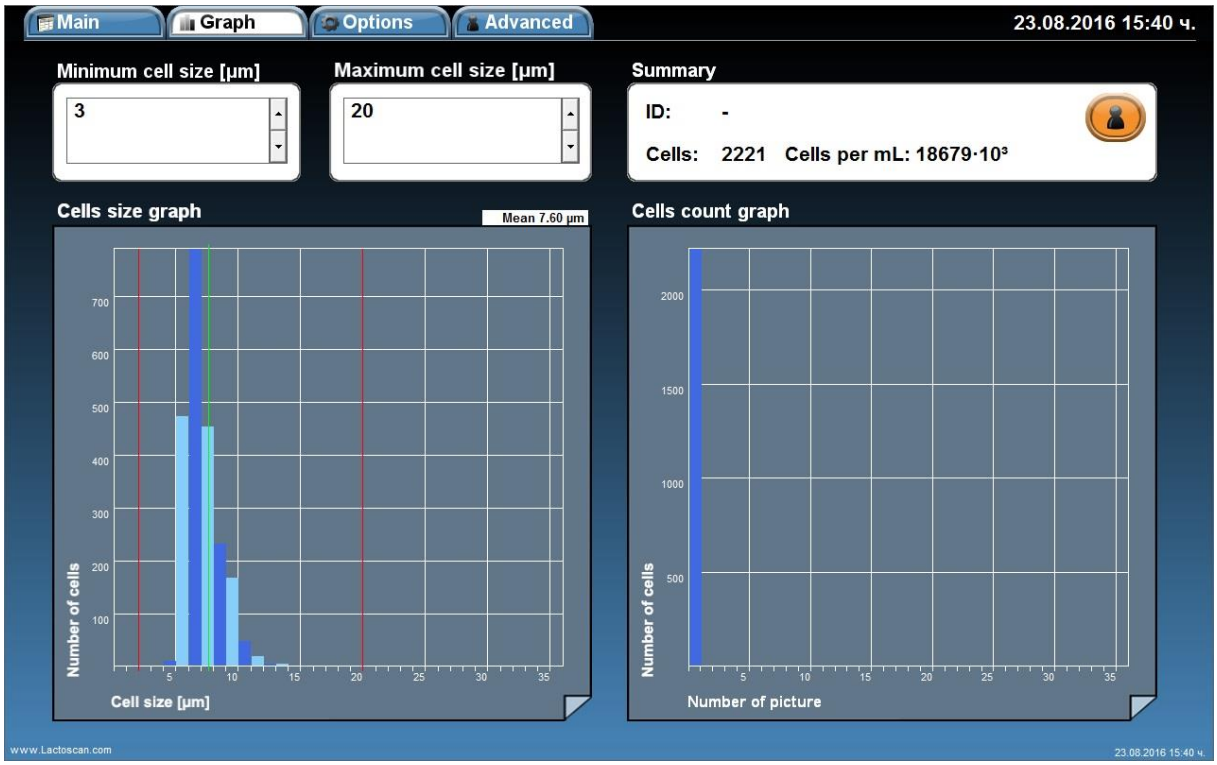


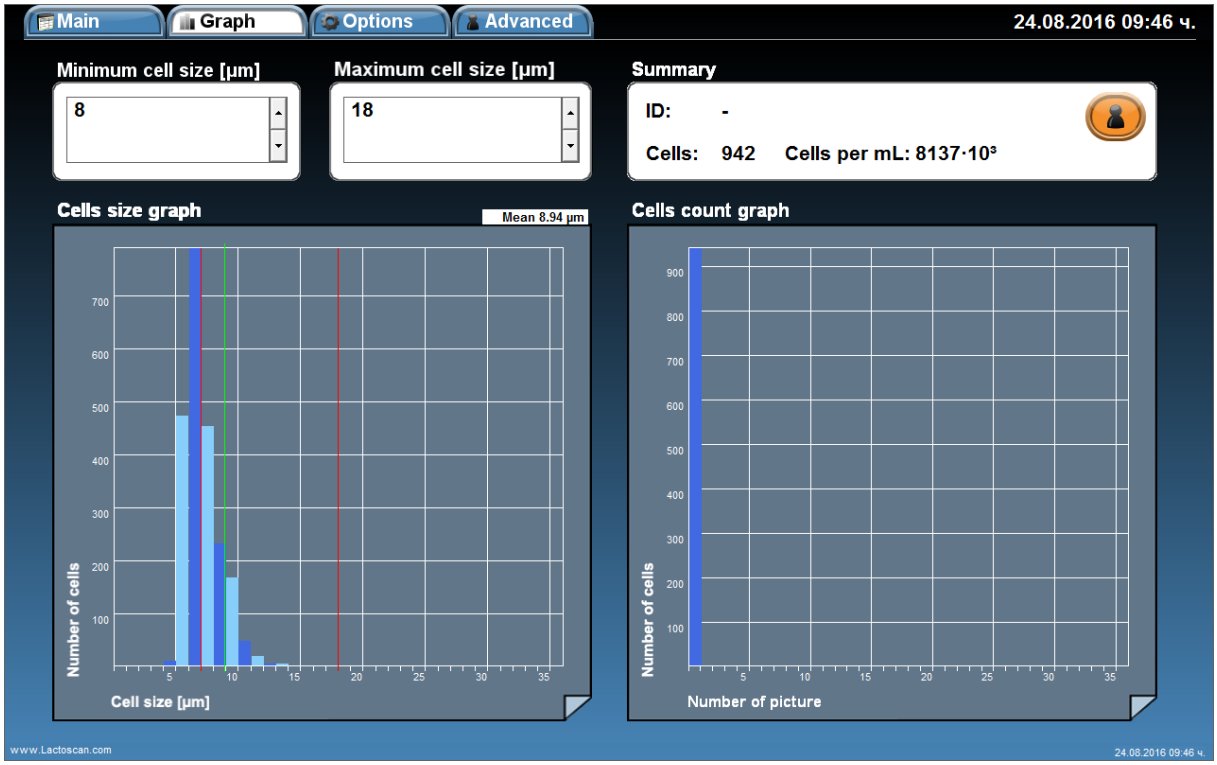
Grafico de la imagen 4. La medida mínima de la célula está dada en 3 µm



Cuando el diapasón de la medida de las células es de 3 a 20 µm, células contadas son 2221, equivalente a 18679x10^3 cel/mL. La medida de las células está entre 5 y 14 µm. a medida media de la célula es 7.60 µm .La mayoría de la células tienen una medida a 6-8 µm. La medida de la célula al alcanza un máximo en 7 µm.

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Grafico de la imagen 4. La medida mínima de la célula está dada en 8 µm



Cuando el diapasón de la medida de las células es de 8 a 20 µm, células contadas son 942, equivalente a 8137x10^3 cel/mL. La medida de las células está entre 8 y 14 µm. La medida de las células está entre 8.94 µm. La mayoría de la células tienen una medida a 8-10 µm. La medida de la célula al alcanza un máximo en 8 µm.

Si comparamos los resultados de los gráficos podemos sacar la conclusión que en la foto hay 66% e hongos unicelulares con una medida entre 5 – 8 µm y 44% células somáticas. El gran número de hongos unicelulares, 1279 células contadas = 10542 x10^3 cel/mL, es confirmación de la presencia de mastitis por hongos unicelulares.

El número de células somáticas, 942 células contadas = 8137x10^{3}cell/mL, es confirmación de la presencia de mastitis clínica.

Según los resultados podemos sacar la conclusión que la leche analizada es de un animal con mastitis por hongos unicelulares y mastitis clínica en el mismo tiempo.

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Imagen 5. Muestra de animal con mastitis por hongos unicelulares.

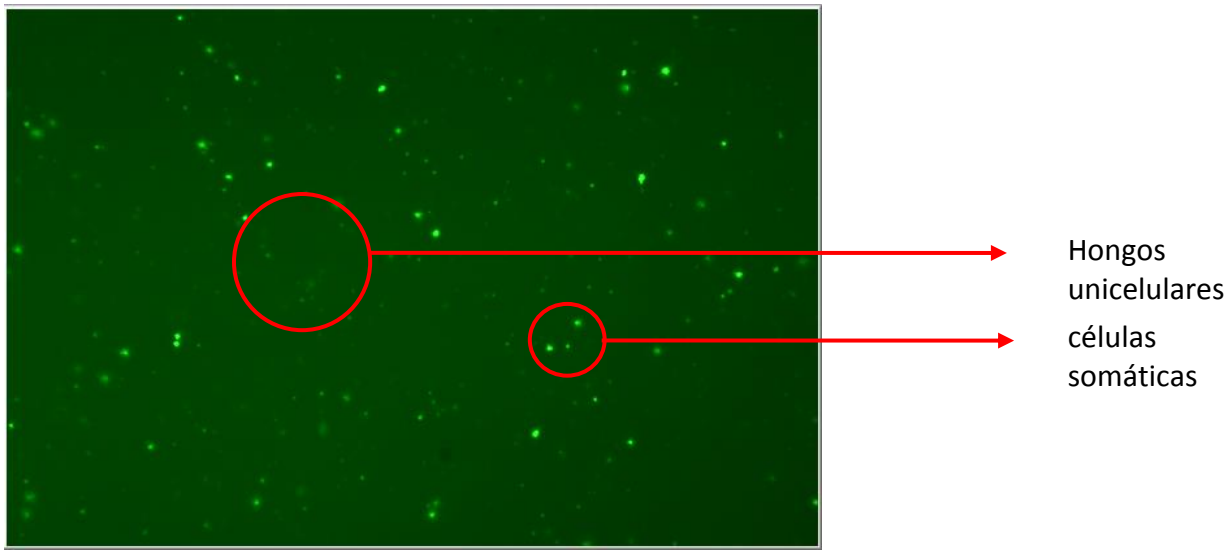
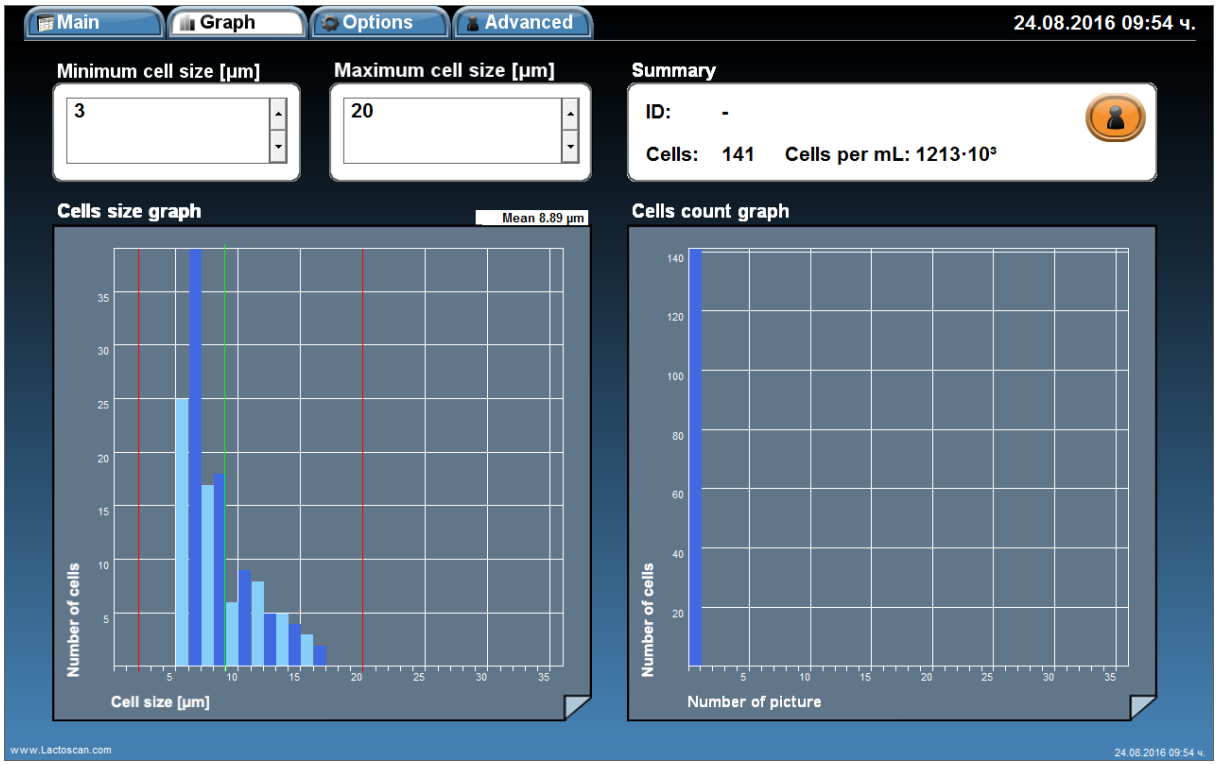


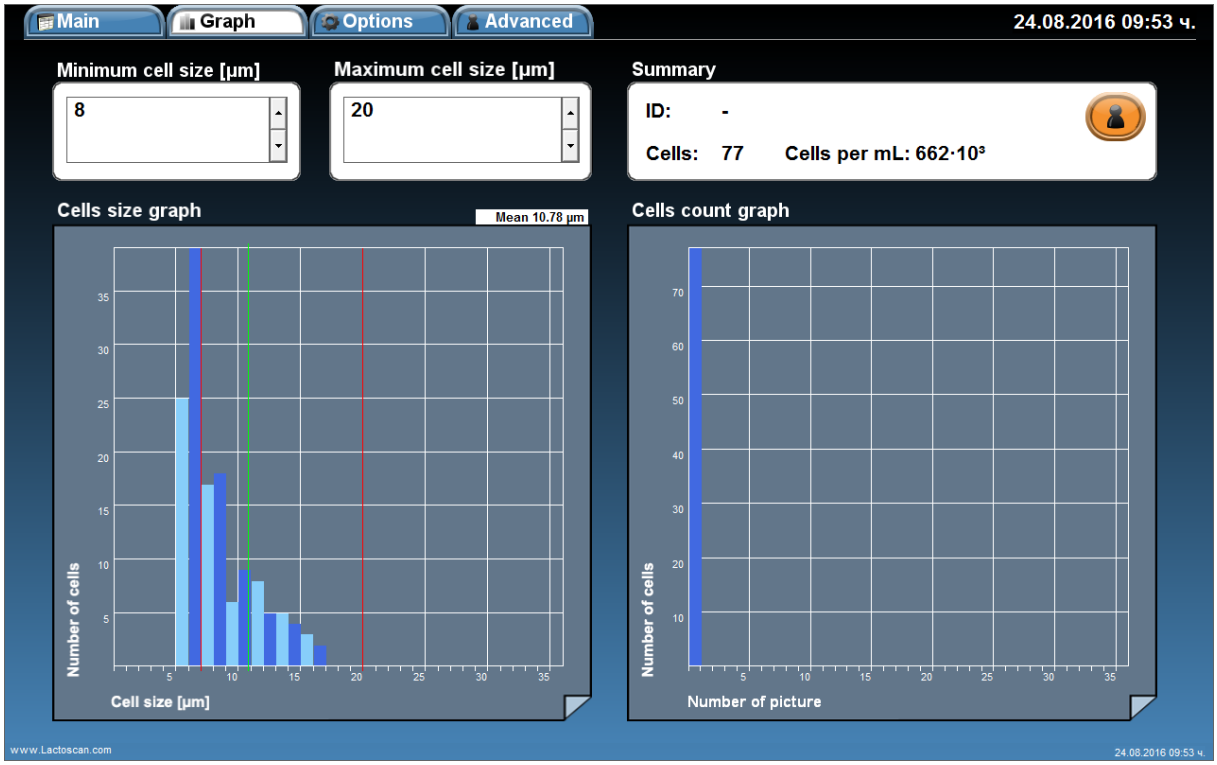
Grafico de la imagen 5. La medida mínima de la célula está dada en 3 µm



Cuando el diapasón de la medida de las células es de 3 a 20 µm, células contadas son 141, equivalente a 1213x10^3 cel/mL. La medida de las células está entre 6 y 17 µm. La medida media de la célula es 8.89 µm. La mayoría de la células tienen una medida a 6-11 µm. La medida de la célula al alcanza un máximo en 7 µm.

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Grafico de la imagen 5. La medida mínima de la célula está dada en 8 µm



Cuando el diapasón de la medida de las células es de 3 a 20 µ 8 a 20 µm, células contadas son 77, equivalente a 662x10^3 cel/mL. La medida de las células está entre incluidos en el resultado final está entre 8 y 17 µm. La medida media de la célula es 10.78 µm. La mayoría de la células tienen una medida a 8-9 µm. La medida de la célula al alcanza un máximo en 9 µm.

Si comparamos los resultados de los gráficos podemos sacar la conclusión que en la foto hay 55% de hongos unicelulares con una medida entre 6 – 8 µm y 45% células somáticas. El gran número de hongos unicelulares, 64 células contadas= 551 x10^3 cell/mL, es confirmación de la presencia de mastitis por hongos unicelulares.

El número de células somáticas, 77 células contadas = 662x10^{3}cell/mL, s confirmación de la presencia de mastitis clínica.

Según los resultados podemos sacar la conclusión que la leche analizada es de un animal con mastitis por hongos unicelulares ymastitis clínica en el mismo tiempo.

En los resultado que recibimos de Columbia, descubrimos muchos animales de un rebaño con células de una medida media de 7-8 µm. Hicimos una investigación de estos animales y la misma demuestra categóricamente que el aumento del número de células pequeñas /4-7 µm/ es a consecuencia de la presencia de hongos unicelulares en la leche. Los hongos unicelulares tienen esas medidas.

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

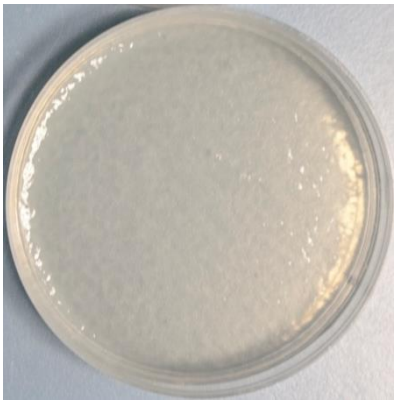
En las investigaciones hechas de la India y Brasil se puede ver que hasta el 12% de los animales tienen mastitis por hongos unicelulares.Posiblemente ese porciento en otra parte del mundo está cercano al 12% en algunos regiones.

El gran problema es que si esas células fueran contadas según la exigencia de la norma para el conteo de célulassomáticas (todas las células con una medida superior a 4 µm se cuentan como células somáticas) entonces el límite de 500 000 células que demuestra la presencia de mastitis bacterial,seria sobrepasado con crecer, y no por las células somáticas, sino fundamentalmente por el conteo de hongos unicelulares, los cuales se multiplican rápidamente en la leche ya que es tratamiento con antibióticos contribuye a su multiplicación.

Fácilmente los veterinarios pueden ignorar estas muestras de leche y aceptan que deben tratar la mastitis como bacterial pero esta puede ser mastitis por hongos unicelulares. Por ese motivo a LACTOSCAN SCC COMPACT se le da un diapasón para el conteo de células somáticas, de 8 a 20 µm para la leche de vaca. De este método las células con una medida de 4-6-7 µm se separan de las células somáticas. Por supuesto que de esta forma principalmente los pequeñas linfocitos con esas medidas no se incluyen en el resultado final, pero por lo general estas son solo 1% del número total de linfocitos y células corporales que están en la leche.

Más abajo se muestran fotos de imágenes con estas muestras de leche(medida media de las células 6-7-8 µm) cultivadas en un medio especial para el cultivo de hongos unicelulares en ellas. Cultivos microbiológicos y resultados se pueden ver en las fotos.:

Foto 1. Leche de un animal sano



© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Foto 2. Leche de animal con mastitis por hongos unicelulares.

Foto 3. Leche de animal con mastitis por hongos unicelulares.

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Foto 4. Leche de animal con mastitis por hongos unicelulares.

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Carta de garantía

LACTOSCAN SCC COMPACT

La garantía es por un periodo de 1 año. Manipulación incorrecta, transportación y almacenamiento invalidan la garantía.

Serie №

Fecha de adquirición:

Codigo:

Distribuidor:

Firma:

Cuño:

"Milkotronic" Ltd. se reserva el derecho a coger los métodos por los cuales analiza el equipo, para establecer la valida de garantía. El equipo que ha venido el periodo de garantía no está sujeto a un servicio de de garantía gratuito.

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Carta de servicio

Comprador:

Informe de servicio:

Fecha de entrada en servicio	Daño	Fecha de entrega	Firma

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados

Contactos:

Para más información o ayuda técnica visite página web www.lactoscan.com o comuníquese con nosotros:

Oficina central de servicio:
c. Narodni Buditeli No 4
8900 Nova Zagora
Bulgaria
tel./fax: + 359 457 670 82
office@lactoscan.com

© 2017 „Milkotronic" Ltd
Todos los derechos reservados