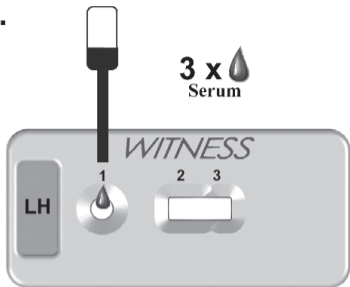
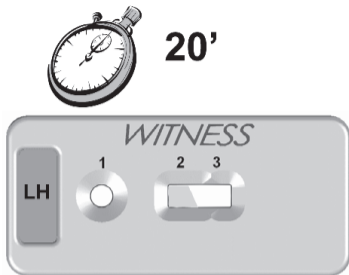


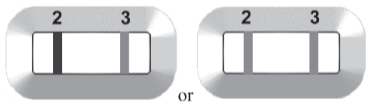
1.



2.

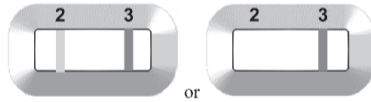


3.



$LH \geq 1\text{ng/ml}$

3.



$LH < 1\text{ng/ml}$

# ***WITNESS LH***

<b>Français</b>	page 1
<b>English</b>	page 5
<b>Deutsch</b>	Seite 9
<b>Nederlands</b>	Bladzijde 13
<b>Español</b>	página 17
<b>Italiano</b>	pagina 21
<b>Português</b>	página 25

## **GENERALITES**

La mise en évidence de l'augmentation du taux d'hormone lutéinante (LH) est l'un des moyens les plus sûrs pour connaître la période d'ovulation d'une chienne. Elle peut être utilisée en routine et est particulièrement recommandée dans les cas où des facteurs pourraient compromettre l'efficacité de la fécondation. Ceux-ci incluent: du sperme d'animal trop jeune, du sperme congelé, des chiennes avec un historique d'infertilité, des élevages de mâles reproducteurs présentant un sperme de faible qualité, un accès limité aux mâles reproducteurs.

Lorsqu'une augmentation de LH est identifiée, SYNBIOTICS recommande que des échantillons quotidiens de sérums soient testés pour connaître le taux de progestérone. En effet, si l'augmentation détectée de LH correspond au pic pré-ovulatoire, le taux de progestérone devrait augmenter et atteindre généralement une valeur autour de 2ng/ml dans les 3 jours et rester élevée.

La mise en évidence de chiennes et de chattes qui ont eu une ovariectomie est également possible par la détection de LH. Les concentrations de LH dans le sérum augmentent après stérilisation chez les chiens et les chats. Puisque les concentrations de LH dans le sérum sont <1ng/ml chez les chiennes et les chattes sexuellement intactes, sauf durant le pic de LH en estrus, une forte concentration de LH indique que les ovaires ont été enlevés.

## **INDICATIONS DU TEST**

### **• PERIODE D'OVULATION (Chez les chiennes)**

WITNESS LH, si utilisé conjointement avec un dosage de progestérone, identifie l'augmentation de LH en pré-ovulation, et ainsi la période d'ovulation. L'ovulation apparaît 2 jours après l'augmentation de LH : les ovocytes ont besoin de 2 jours supplémentaires pour être matures et seront viables durant 48-72 heures.

### **• DISTINCTION ENTRE OVARECTOMIE ET SEXUALITE PRESERVEE (Chez les chiennes et les chattes)**

WITNESS LH peut aussi être utilisé pour distinguer des chiennes ou des chattes ayant subi une ovariectomie ou sexuellement intactes.

## **PRINCIPE DU TEST**

Le test WITNESS LH permet de mesurer de manière précise et semi-quantitative l'hormone luteinisante des chiens et des chats. Le test est simple d'utilisation et donne une information rapide au Vétérinaire Clinicien. Le test est basé sur la technique d'immunomigration rapide (RIM) qui utilise des anticorps couplés à l'or colloïdal pour donner une ligne visible indiquant la présence de l'hormone luteinisante.

WITNESS LH vous permet de mettre en évidence l'augmentation de LH. Puisque cette augmentation peut avoir lieu pendant une période de 24 heures, il est primordial que des échantillons quotidiens soient testés. Le sang doit être collecté chaque jour, si possible à heure fixe, à partir du 4ème ou 5ème jour de proestrus, ou lorsque la cytologie vaginale avoisine les 50% de cornification (la cornification se caractérise par des cellules à bord rugueux, anguleux, nucléés ou anucléés). Un dosage de la progestérone devrait également être réalisé au premier jour du test pour confirmer le niveau basal de la progestérone. Si le test est commencé après le début de l'oestrus, il est probable que l'augmentation de LH a déjà eu lieu et ne peut pas être identifiée rétrospectivement.

Un résultat est considéré comme positif lorsqu'une ligne apparaît au niveau de la bande test, d'intensité égale ou plus forte que la bande témoin. Lorsque cela apparaît, le niveau de LH dans le sérum est supérieur à 1ng/ml.

Une bande de contrôle, située à l'extrémité de la membrane, permet de s'assurer que le test a été réalisé correctement.

## **ECHANTILLONS**

- Le test peut être **UNIQUEMENT** réalisé sur **sérum**.
- Il est préférable de ne pas d'utiliser d'échantillons hémolysés ou lipémiques.

## **Conservation des échantillons**

Les échantillons de sérums doivent être testés de préférence immédiatement après le prélèvement.

Si l'analyse est repoussée (pas plus de 24 heures), les sérums devront être conservé réfrigérés entre +2°C et 8°C.

Pour une conservation prolongée, les sérums devront être congelés à -20°C. Ne pas décongeler et recongeler les échantillons.

## CONTENU DU KIT

- A. 6 sachets contenant chacun une plaquette test et un sachet déshydratant.
- C. Une notice d'emploi.
- D. 6 pipettes.

## PRECAUTIONS

1. Ne pas utiliser de réactifs après la date de péremption.
2. Conserver le kit entre 2°C et 25°C. Ne pas congeler.
3. Utiliser le test immédiatement après ouverture du sachet (dans les 10 minutes après ouverture).
4. Eviter de toucher ou d'endommager les membranes réactives (puits échantillon (1) et fenêtres de lecture (2), (3)).
5. Placer la plaquette sur une surface plane et horizontale pour permettre une migration correcte de l'échantillon.
6. Utiliser une pipette différente pour chaque échantillon.
7. Tenir la pipette de façon verticale lors de la distribution de l'échantillon.
8. Pour usage vétérinaire uniquement.

## REALISATION DU TEST ET RESULTATS

### 1. Répartition de l'échantillon

- Ouvrir un sachet, en retirer la plaquette et placer celle-ci sur une surface plane.
- Prélever l'échantillon grâce à la pipette fournie et, tout en tenant celle-ci bien verticalement, en répartir trois gouttes dans le puits échantillon (1).
- Laisser la plaquette test bien à plat durant tout le temps de la migration du complexe échantillon/réactif sur la bandelette.

### 2. lecture du test

Observer au bout de 20 minutes, la présence ou non de bandes de couleur rose dans chacune des fenêtres (2) et (3).

### **3. RESULTATS**

#### **1. Validation**

Le test est validé si une bande est présente dans chacune des fenêtres de lecture au niveau du repère (3).

#### **2. Interprétation**

- Aucune bande de couleur rose au niveau du repère (2) ou si la bande est moins intense que la bande témoin au niveau du repère (3), cela signifie que le taux de LH est inférieur à 1ng/ml.
- Une bande au niveau du repère (2) dont l'intensité est égale ou supérieure à celle de la bande témoin au niveau du repère (3), cela signifie que le taux de LH est supérieur ou égale à 1ng/ml.

#### **Remarque :**

- Un résultat positif chez une chienne ou une chatte, non en phase d'oestrus, indique que les ovaires ont été enlevés. Répéter le test 2 heures après avec un nouvel échantillon pour confirmer le résultat. Un résultat négatif permet de mettre en évidence que la chienne ou la chatte est intacte.
- Durant la période de proestrus, de petites fluctuations pulsatiles de LH peuvent apparaître, alors que la progestérone reste fiable, à un niveau basal. La progestérone n'augmente qu'à partir de l'augmentation de LH en pré-ovulation. Au 3ème jour après le pic de LH, la majorité des chiennes ont une augmentation du taux de progestérone autour de 2ng/ml. Un suivi quotidien de la progestérone suite à un résultat positif avec le test WITNESS LH permet de différencier les petites fluctuations de LH, augmentant pendant le proestrus avec la véritable augmentation de LH en pré-ovulation. S'il n'y a pas de confirmation de l'augmentation de progestérone dans les 3 jours, à la suite d'un résultat positif avec le test WITNESS LH, cela signifie que le résultat positif obtenu provenait de fluctuations du niveau basal de LH.

## **GENERAL INFORMATION**

Identification of the luteinizing hormone (LH) surge provides the most accurate means of canine ovulation timing. It may be used for routine breeding situations and is especially recommended in those instances where there are factors present that could adversely affect conception rates. These include: chilled/extended semen breedings, frozen semen breedings, bitches with a history of infertility, breedings with stud dogs with low semen quality, limited access to the stud dog.

Once an increase of LH is identified, SYNBIOTICS recommends that daily serum samples should be tested for progesterone levels. If the detected increase in LH was indeed the actual pre-ovulatory surge, progesterone levels should rise, usually reaching a value above 2ng/mL within 3 days, and then stay elevated.

Identification of bitches and queens that have had their ovaries removed is possible through the detection of LH. Serum concentrations of LH increase after gonadectomy in dogs and cats. Because LH concentrations in serum are <1ng/mL in sexually intact bitches and queens, except during LH peak at estrus, it may be assumed that high values in bitches and queens are indicative that their ovaries have been removed.

## **TEST INDICATION**

- **OVULATION TIMING (Bitches)**

WITNESS LH, when used in conjunction with in-hospital progesterone testing, identifies the pre-ovulatory LH surge, and thus the time of ovulation. Ovulation occurs 2 days after the LH surge : the oocytes then require an additional 2- days to mature, and will live for about 48-72 hours.

- **DISTINGUISH BETWEEN OVARIECTOMIZED AND SEXULALLY INTACT (Bitches or Queens)**

WITNESS LH may also be used to distinguish between ovariectomized and sexually intact bitches or queens.

## **TEST PRINCIPLE**

WITNESS LH test provides an accurate, semi-quantitative measurement of canine and feline luteinizing hormone. The test is simple to perform and rapidly provides information for the veterinary clinician. The test is an immunochromatographic assay that uses gold-conjugated antibodies to give a visual line in the presence of luteinizing hormone.

WITNESS LH allows you to identify the occurrence of the LH surge. Since the LH surge may occur within a 24-hour period, it is crucial that daily serum samples are tested. Blood should be drawn every day at approximately the same time beginning the 4th or 5th day of proestrus, or when vaginal cytology approaches 50% cornification (cornification is defined as cells with a roughened, angulated border with or without a nucleus). A progesterone test should also be performed on the first day of testing to confirm a baseline progesterone level. If testing is started after the onset of estrus, it is likely that the LH surge will have already occurred and cannot be identified in retrospect.

A positive result occurs when a line appears in the test area which is of similar or greater intensity than the control line. When this occurs, the LH level in the serum sample is greater than 1 nanogram per milliliter. Control bands located at the end of the reading windows (3) ensure that the test was performed correctly.

## **SPECIMEN INFORMATION**

- The test can **ONLY** be performed on **SERA**.
- The samples should not be hemolyzed or lipemic.

### **Storage**

Serum samples should preferably be tested immediately after collection.

If testing is further delayed, sera should be kept refrigerated (+2°C - 8°C) for up to 24 hours.

For prolonged storage, sera should be kept frozen (-20°C). Do not thaw and refreeze.

## **KIT CONTENTS**

- A. 6 pouches, each containing 1 test device and desiccant.
- C. Instructions for use.
- D. 6 pipettes

## **GENERAL PRECAUTIONS**

1. Do not use components after the expiration date.
2. Store the test kit at 2°C – 25°C. Do not freeze.
3. Use the test immediately after opening the sealed pouch (within 10 minutes)
4. Avoid touching or damaging membrane windows (1), (2), (3).
5. The WITNESS device should be placed on a flat, horizontal surface while performing the test.
6. Use a separate pipette for each sample.
7. Hold pipette vertically when dispensing sample.
8. For veterinary use only.

## **TEST PROCEDURE AND RESULTS**

### **1. Sample application**

- Tear open a pouch provided and place the test device on a flat horizontal surface.
- Holding the provided pipette vertically, transfer three drops of sample to sample well (1).
- Leave the test device flat during migration of sample/reagent complex through the reading windows.

### **2. Reading test**

After 20 minutes, observe the presence or absence of pink bands in reading windows (2) and (3).

### **3. RESULTS**

#### **1. Validation**

The test is validated if a pink band is present in reading window (3).

#### **2. Interpretation**

- No band in reading window (2) or a band which is less intense than the control line (3), means that the LH value is less than 1ng/mL
- One band in reading window (2) which is of similar or greater intensity than the control line (3) means that the LH value is greater than 1ng/mL.

#### **Note :**

- A positive result in a bitch or queen that is not in estrus indicates that the ovaries have been removed. Repeat the test in 2 hours with a fresh sample to confirm the results. A negative result provides excellent evidence that the bitch or queen is intact.
- During proestrus, small, pulsatile fluctuations in LH may occur, while progesterone remains at low, baseline levels. Progesterone rises, however, after the pre-ovulatory surge of LH. By the third day post LH peak, the majority of bitches will evidence a rise in progesterone levels above 2ng/mL level. Daily progesterone testing after a positive WITNESS LH test result allows simple differentiation between small fluctuating increases in LH during proestrus and the true, pre-ovulatory LH surge. If there is no confirmation of progesterone rise within 3 days of a positive WITNESS LH test, it may be assumed that the positive test result was due to a baseline LH fluctuation.

## ALLGEMEINE HINWEISE

Die genaueste Methode zur Bestimmung des kaninen Ovulationszeitpunktes ist die Bestimmung des Anstiegs des luteinisierenden Hormons (LH).

Sie kann für normale Zuchtsituationen herangezogen werden, und ist besonders in solchen Fällen anzuraten, in denen die Konzeption nachteilig beeinflusst wird.

Dazu gehören: Zuchten mit gekühltem/verlängertem Sperma, mit gefrorenem Sperma, Hündinnen mit einer Unfruchtbarkeitsanamnese, Zuchten mit schlechter Spermienqualität oder bei eingeschränktem Kontakt zu Rüden.

Im Falle eines LH-Anstieges empfiehlt SYNBIOTICS, täglich das Progesteronlevel in Serumproben zu bestimmen. Sollte der gemessene höhere LH-Spiegel tatsächlich auf den präovulatorischen Anstieg zurück zu führen sein, wird auch das Progesteronlevel ansteigen. Für gewöhnlich steigt Das Progesteron innerhalb von drei Tagen auf einen Wert von  $>2\text{ng/ml}$ ; anschließend bleibt dieser dann auf dem höheren Level.

Eine Sterilisierung von Hündinnen und Katzen kann ebenfalls durch Bestimmung von LH festgestellt werden. Sowohl bei Hund als auch bei Katze steigt die LH-Konzentration im Serum nach Gonadektomie. Bei fertilen Tieren liegt die LH-Konzentration  $<1\text{ng/ml}$ , abgesehen vom LH-Peak beim Eisprung. Daher kann bei erhöhter LH-Konzentration gefolgert werden, dass die Ovarien der Tiere entfernt wurden.

## INDIKATION FÜR DEN TEST

### • BESTIMMUNG DES OVULATIONSZEITPUNKTES BEI HÜNDINNEN

Witness-LH zeigt, wenn in Verbindung mit klinischen Progesterontests durchgeführt, den präovulatorischen LH-Anstieg und somit den Zeitpunkt der Ovulation.

Diese tritt zwei Tage nach dem LH-Anstieg ein; die Eizellen benötigen dann eine zweitägige Reifungszeit und leben dann 48-72 Stunden.

### • UNTERSCHIEDUNG ZWISCHEN FERTILEN UND OVAREKTOMIERTEN TIEREN (Hündinnen und Katzen)

Witness-LH ermöglicht auch eine Unterscheidung zwischen ovariectomierten und fertilen Tieren (Hündinnen und Katzen).

## TESTPRINZIP

WITNESS LH ist ein Assay, mit dem auf einfache Weise das Level des luteinisierenden Hormons gemessen werden kann. Es handelt sich dabei um einen immunochromatographischen Assay, der mithilfe von Gold-konjugierten Antikörpern die Gegenwart des luteinisierenden Hormons als Linie visualisiert.

Da der LH-Anstieg innerhalb einer Zeitspanne von 24 Stunden auftritt, ist es wichtig, täglich Serumproben zu testen.

Tägliche Blutproben sollten genommen werden, etwa ab dem 4. bis 5. Tag der proöströsen Phase oder in der vaginalzytologie 50% Kornifikation (Kornifikation ist definiert als Zellen mit angerautem winkeligem Rand oder kernlos) zu erkennen ist. Am ersten Tag der Testperiode sollte ebenfalls ein Progesterontest zur Feststellung des Progesteron Grundlevels durchgeführt werden. Wenn die Testperiode bereits mit dem Eisprung beginnt, ist der LH-Anstieg wahrscheinlich bereits aufgetreten und kann dann retrospektiv nicht mehr festgestellt werden.

Ein positives Ergebnis erscheint dann, wenn eine Bande erscheint, deren Intensität gleich oder größer ist, als die der Kontrollbande. In dem Fall ist die LH-Konzentration in der Serumprobe größer als 1ng/ml. Die Kontrollbande erscheint am Ende des Ablesefensters (3) und zeigt an, dass der Test korrekt abgelaufen ist.

## PROBEN

- Dieser Test kann **NUR** mit **Serum** durchgeführt werden!
- Proben sollten nicht hämolysiert oder lipämisch sein!

## Lagerung

Das Serum sollte möglichst schnell nach der Entnahme getestet werden!

Für spätere Tests sollte das Serum bis zu 24 Stunden gekühlt (+2°C bis +8°C) aufbewahrt werden!

Längere Lagerung der Serumproben nur tiefgefroren (-20°C)! Proben nach dem Auftauen nicht erneut einfrieren!

## **INHALT**

- A. 6 Beutel mit jeweils einer Testplatte und Trockenmittel
- C. Gebrauchsanleitung
- D. 6 Pipetten

## **ALLGEMEINE VORSICHTSMASSNAHMEN**

1. Nicht über das angegebene Verfallsdatum hinaus benutzen!
2. Lagerung bei Raumtemperatur, nicht einfrieren!
3. Den Test sofort (innerhalb von 10 min) nach öffnen des verschlossenen Beutels benutzen!
4. Die Membranen in den Fenstern der Testplatte nicht berühren oder zerstören (1), (2), (3)!
5. Die WITNESS Testplatte zur Durchführung der Untersuchung auf eine flache, horizontale Auflage legen!
6. Für jede Probe eine neue Pipette benutzen!
7. Zum Auftragen der Probe die Pipette senkrecht halten!
8. Nur zum Gebrauch in der Veterinärmedizin !

## **TESTDURCHFÜHRUNG UND ERGEBNISERMITTLUNG**

### **1. Auftragen der Probe**

- Den Beutel aufreißen und die Testplatte auf eine flache horizontale Oberfläche legen
- Beiliegende Pipette senkrecht halten und drei Tropfen der Probe in die Probenvertiefung pipettieren (1).
- Während der Migration des Probe/Reagenz-Komplexes durch das Ablesefenster die Testplatte flach auf der horizontalen Oberfläche liegen lassen!

### **2. Ablesen des Tests**

Nach 20 min sollten eine rosafarbene Bande oder – 2 rosafarbene Banden im Ablesefenster erscheinen (2) und (3).

### **3. ERGEBNISSE**

#### **1. Validierung**

Der Test ist valid, wenn eine rosafarbene Bande im Ablesefenster(3) zu sehen ist!

#### **2. Interpretation**

- Keine Bande im Ablesefenster (2) oder eine Bande mit geringerer Intensität als die Kontrollbande (3) bedeutet, die LH-Konzentration ist geringer als 1ng/ml
- Eine Bande im Ablesefenster (2) mit gleicher oder größere Intensität als die Kontrollbande (3) bedeutet, die LH-Konzentration ist größer 1ng/ml.

#### **Anmerkung :**

- Ein positives Ergebnis bei einer Hündin oder Katze ohne Eisprung zeigt an, dass die Ovarien entfernt wurden. Zur Bestätigung sollte der Test nach zwei Stunden mit einer neuen Probe wiederholt werden. Ein negatives Ergebnis zeigt mit großer Verlässlichkeit intakte Ovarien an.
- In der proöströsen Phase können kleine pulsartige Schwankungen beim LH auftreten, während Progesteron auf niedrigem Grundlinienniveau bleibt. Allerdings steigt Progesteron nach dem ovulatorischen LH-Anstieg. Nach dem dritten Tag nach dem LH-Peak zeigt die Mehrzahl der Hündinnen in der Regel einen Anstieg der Progesteron-Konzentration auf über 2ng/ml. Nach einem positiven WITNESS LH Testergebnis zeigen tägliche Progesteron-Tests eine einfache Differenzierung zwischen den kleinen proöströsen LH-Schwankungen und dem tatsächlichen ovulatorischen LH-Anstieg. Ohne Bestätigung durch einen Progesteron-Anstieg innerhalb von drei Tagen nach einem positiven WITNESS LH Test, kann davon ausgegangen werden, dass das positive Ergebnis auf eine Basisschwankung zurück zu führen ist.

## **ALGEMENE INFORMATIE**

Detectie van de piek van het luteïniserend hormoon (LH) is de meest accurate methode voor het bepalen van het ovulatietijdstip bij de hond. Deze methode kan routinematig worden toegepast bij hondenkweek en is in het bijzonder aanbevolen bij gebruik van sperma dat voor bewaring werd gekoeld of ingevroren, bij teven die in het verleden al vruchtbaarheidsproblemen vertoonden en bij kweek met reuen met mindere zaadkwaliteit of met reuen met beperkte toegankelijkheid.

Eens de toename van het LH is vastgesteld, adviseert SYNBIOTICS om dagelijks het progesterongehalte in serummonsters te testen. Indien de gedetecteerde stijging van het LH de eigenlijke preovulatoire piek was, dan wordt dit bevestigd door een toename van het progesteronniveau, dat gewoonlijk binnen de 3 dagen een waarde boven 2 ng/ml bereikt.

Identificatie van teven en kattinnen bij wie de ovaria werden verwijderd is mogelijk via detectie van LH. De serumconcentratie van LH neemt toe bij honden en katten na gonadectomie. Daar bij seksueel intacte teven en kattinnen, behalve in de oestrus tijdens de LH-piek, de LH-concentraties in serum < 1ng/ml bedragen, wijzen hoge waarden erop dat de ovaria werden verwijderd.

## **TESTINDICATIE**

### **• BEPALING VAN DE OVULATIE (Teven)**

WITNESS LH, indien gecombineerd met een progesterontest, detecteert de preovulatoire LH-piek waardoor het ovulatietijdstip kan worden bepaald. De ovulatie treedt op 2 dagen na de LH-piek: de oöcyten moeten dan nog 2 dagen rijpen en blijven vervolgens in leven gedurende ongeveer 48-72 uur.

### **• ONDERSCHIEDEN VAN SEKSUEEL INTACTE EN GEOVARIËCTOMEERDE TEVEN EN KATTINNEN**

WITNESS LH kan ook worden gebruikt om geovariëctomeerde van seksueel intacte teven en kattinnen te onderscheiden.

## TESTPRINCIPE

WITNESS LH is een handige semi-kwantitatieve test voor meting van het niveau van het luteïniserend hormoon. Het is een immunochromatografische test die gebruikt maakt goudgeconjugeerde antilichamen waarbij in aanwezigheid van luteïniserend hormoon een teststreep zichtbaar wordt.

WITNESS LH laat toe het optreden van de LH-piek vast te stellen. Daar de LH-piek binnen een periode van 24 uur optreedt, is het zeer belangrijk om dagelijks serummonsters te testen. De bloedmonsters moeten iedere dag rond hetzelfde tijdstip worden afgenomen, te beginnen op de 4de of 5de dag van de pro-oestrus of wanneer vaginale cytologie 50% verhoorning benaderd (verhoorning wordt gedefinieerd als cellen met een ruwe, hoekige wand met of zonder celkern). Het kan nuttig zijn om op de eerste testdag ook een progesterontest uit te voeren om het basisniveau van progesteron te bepalen. Indien het testen start na het begin van de oestrus, is het mogelijk dat de LH-piek al is opgetreden en niet meer kan worden gedetecteerd.

Een testuitslag is positief indien in de testzone een streep verschijnt met een kleurintensiteit die gelijk is aan of sterker is dan die van de controlestreep. In dit geval is het LH-niveau van het serummonster hoger dan 1 nanogram per milliliter.

Een controleband aan het einde van het afleesvenster (3) toont aan dat de test correct werd uitgevoerd.

## MONSTERS

- De test mag **UITSLUITEND** op **serum** worden uitgevoerd.
- De monsters mogen niet hemolytisch of lipemisch zijn.

## Bewaring

Serummonsters worden bij voorkeur onmiddellijk na afname getest.

Indien het testen wordt uitgesteld, kunnen de sera gedurende maximaal 24 uur gekoeld (+2°C – 8°C) worden bewaard.

Voor langere bewaring moeten de sera worden ingevroren (-20°C). Niet meer invriezen na ontdooien.

## **INHOUD VAN DE KIT**

- A. 6 zakjes met ieder een testplaatje een dessicant.
- C. Gebruiksaanwijzing.
- D. 6 pipetten.

## **ALGEMENE VOORZORGSMAATREGELEN**

1. Gebruik geen bestanddelen na hun vervaldatum.
2. Bewaar de kit bij kamertemperatuur. Niet invriezen.
3. Gebruik de test onmiddellijk na het openen van het zakje (binnen 10 minuten).
4. Vermijd aanraking of beschadiging van de membranen in de vensters (1), (2), (3).
5. Het WITNESS testplaatje moet tijdens het gebruik worden geplaatst op een vlakke, horizontale ondergrond.
6. Gebruik voor ieder monster een nieuwe pipet.
7. Houd de pipet vertikaal bij het opbrengen van het monster.
8. Uitsluitend voor diergeneeskundig gebruik.

## **TESTPROCEDURE EN RESULTATEN**

### **1. Opbrengen van het monster**

- Open een zakje en plaats het testplaatje op een vlakke horizontale ondergrond.
- Houd de pipet vertikaal en breng 3 druppels van het monster in het testcupje (1).
- Laat het testplaatje op de vlakke ondergrond liggen gedurende de migratie van het monster/reagens complex door het afleesvenster.

### **2. Aflezen van de test**

Kijk na 20 minuten of er roze banden in de afleesvensters (2) en (3) verschenen zijn.

### **3. RESULTATEN**

#### **1. Validatie**

De test is gevalideerd indien een roze band aanwezig is in afleesvenster (3).

#### **2. Interpretatie**

- Geen band in afleesvenster (2) of een band die minder sterk gekleurd is dan de controlestreep (3), betekent dat de LH-waarde lager is dan 1 ng/ml.
- Een band in afleesvenster (2) waarvan de kleurintensiteit gelijk is aan of sterker is dan de controlestreep (3), betekent dat de LH-waarde hoger is dan 1 ng/ml.

#### **Noot :**

- Een positief resultaat bij een teef of kattin buiten de oestrus wijst erop dat de ovaria werden verwijderd. Herhaal de test na 2 uur met een nieuw monster om het resultaat te bevestigen. Een negatief resultaat bewijst dat de teef of kattin intact is.
- Tijdens de pro-oestrus kunnen zich kleine pulsatiele fluctuaties in het LH voordoen terwijl het progesteron laag op het basisniveau blijft. Het progesteron stijgt echter na de pre-ovulatoire LH-piek. Op de derde dag na de LH-piek, zal de meerderheid van de teven een stijging van het progesteronniveau tot boven 2 ng/ml vertonen. Dagelijks testen voor progesteron na een positieve WITNESS LH test, laat toe een onderscheid te maken tussen kleine fluctuaties van het LH-gehalte tijdens de pro-oestrus en de werkelijke pre-ovulatoire LH-piek. Indien binnen 3 dagen na een positieve WITNESS LH test de progesteronstijging niet wordt bevestigd, mag de positieve test worden gezien als het gevolg van een fluctuatie van het basisniveau van het LH.

## INFORMACIÓN GENERAL

La identificación del pico de la hormona luteinizante (LH) es el medio más preciso para determinar el momento de ovulación en los caninos. Puede ser utilizada en situaciones de reproducción normal y es especialmente recomendada cuando hay factores que puedan afectar adversamente las tasas de concepción. Estos incluyen: inseminación con semen refrigerado, extendido o congelado, hembras con antecedentes de infertilidad, utilización de machos con baja calidad seminal, número limitado de montas.

Una vez que el incremento de LH es identificado, SYNBIOTICS recomienda evaluar diariamente muestras de suero para niveles de progesterona. Si el incremento detectado de LH se corresponde con un pico pre-ovulatorio, los niveles de progesterona se deben elevar, usualmente alcanzando un valor por arriba de 2ng/mL dentro de los 3 días, manteniéndose elevados a partir de ese momento.

La identificación de perras y gatas ovariectomizadas es posible a través de la detección de LH. Las concentraciones séricas de LH se incrementan después de la gonadectomía en perras y gatas. Debido a que las concentraciones de LH en suero son <1ng/mL en perras y gatas sexualmente intactas, excepto durante los picos de LH en el estro, se puede asumir que altos valores en perras y gatas son indicativos de que sus ovarios han sido extraídos.

## INDICACIONES DEL TEST

### • TIEMPO DE OVULACIÓN (Perras)

WITNESS LH cuando se usa en conjunto con determinaciones de progesterona, identifica el pico pre-ovulatorio de LH, y por lo tanto el tiempo de ovulación. La ovulación ocurre 2 días después del pico de LH: los oocitos requieren entonces 2 días adicionales para madurar, y viven durante 48-72 horas.

### • DISTINGUIR ENTRE OVARIECTOMIZADAS Y SEXUALMENTE INTACTAS (Perras y Gatas)

WITNESS LH puede ser también utilizado para distinguir entre perras o gatas ovariectomizadas y sexualmente intactas.

## **PRINCIPIO DEL TEST**

WITNESS LH es un ensayo de hormona luteinizante que aporta una medición semi-cuantitativa precisa de los niveles de hormona luteinizante. El test es un ensayo inmunocromatográfico que emplea anticuerpos conjugados con oro para dar una línea visual en presencia de hormona luteinizante.

WITNESS LH permite identificar la aparición del pico de LH . Debido a que el pico de LH puede ocurrir en un período de 24 horas , es crucial que se analicen muestras de suero diariamente. La sangre debe extraerse diariamente , aproximadamente a la misma hora cada día , comenzando el 4° o 5° día del proestro , o cuando la citología vaginal muestra cerca de un 50% de cornificación (cornificación definida como células con bordes angulosos y ásperos con o sin núcleo . Un test de progesterona puede realizarse también en el primer día para confirmar el nivel basal de progesterona. Si el test se realiza después del inicio del estro , es posible que el pico de LH ya haya ocurrido , y no pueda ser detectado retrospectivamente.

El resultado es positivo cuando una línea aparece en el área de test , siendo de intensidad similar o mayor que la línea de control .

Cuando esto ocurre el nivel de LH en la muestra de suero es mayor que 1 nanogramo por mililitro.

Las bandas de control localizadas al final de la ventana de lectura (3) aseguran que el test fue realizado correctamente.

## **INFORMACION SOBRE LAS MUESTRAS**

- El test puede SOLO ser realizado en **SUERO**.
- Las muestras no deben ser hemolizadas ni lipémicas.

### **Almacenamiento**

Las muestras de suero deben preferiblemente ser ensayadas inmediatamente después de la extracción.

Si el test se demora el suero debe conservarse refrigerado (+2°C - 8°C) hasta 24 horas.

Para almacenamiento prolongado , el suero deberá mantenerse congelado (-20°C). No descongelar y recongelar.

## CONTENIDO DEL KIT

- A. 6 sobres, cada uno conteniendo 1 dispositivo de test y desecante.
- C. Instrucciones de uso.
- D. 6 pipetas

## PRECAUCIONES GENERALES

1. No utilizar componentes despues de la fecha de caducidad.
2. Almacenar a (+2°C - 25°C) . No congelar.
3. Usar el test inmediatamente despues de abrir el sobre sellado (dentro de los 10 minutos)
4. No tocar ni dañar la ventana de membrana (1) , (2), (3).
5. El dispositivo WITNESS debe ser colocado en una superficie plana y horizontal mientras se realiza el test.
6. Usar una pipeta separada para cada muestra.
7. Sostener la pipeta verticalmente mientras se deposita la muestra.
8. Para uso veterinario exclusivamente.

## PROCEDIMIENTO Y RESULTADOS

### 1. Aplicación de la muestra

- Abrir un sobre y colocar el dispositivo en una superficie plana horizontal.
- Sosteniendo verticalmente la pipeta provista depositar tres gotas de muestra en el pocillo de muestra (1).
- Dejar en posición horizontal el dispositivo durante la migración del complejo muestra/reactivos , a través de la ventana de lectura.

### 2. Lectura del test

Después de 20 minutos, observar la presencia o ausencia de bandas rosadas en la ventana de lectura (2) y (3).

### **3. RESULTADOS**

#### **1. Validación**

El test es válido si una banda rosa está presente en la ventana de lectura (3).

#### **2. Interpretación**

- Si no hay banda en la ventana de lectura (2) o si la banda es menos intensa que la línea de control (3), el valor de LH es menor que 1ng/mL
- Una banda en la ventana de lectura (2) de similar o mayor intensidad que la línea de control (3), aparece cuando el valor de LH es mayor que 1ng/mL.

#### **Nota :**

- Un resultado positivo en una perra o gata que no están en estro indica que los ovarios han sido removidos. Repetir el test en 2 horas con una muestra reciente para confirmar los resultados. Un resultado negativo aporta una excelente evidencia de que la perra o gata está intacta.
- Durante el proestro, pueden ocurrir pequeñas fluctuaciones pulsátiles de LH , mientras que la progesterona permanece en bajos niveles basales. La progesterona se incrementa , sin embargo , después del pico pre-ovulatorio de LH. Al tercer día posterior al pico de LH , la mayoría de las perras evidencian una subida en sus niveles de progesterona por encima de 2ng/mL . La determinación diaria de progesterona después de un resultado positivo en WITNESS LH permite la diferenciación entre pequeños incrementos fluctuantes de durante el proestro y el verdadero pico pre ovulatorio de LH. Si no hay confirmación de la subida de progesterona dentro de los 3 días de un test WITNESS LH positivo, puede asumirse que el resultado positivo del test fue debido a una fluctuación basal de LH .

## **GENERALITA**

La constatazione dell'aumento del tasso di ormone luteinizzante (LH) è uno dei mezzi più sicuri per conoscere il periodo d'ovulazione della cagna. Tale accertamento può essere usato come esame di routine ed è particolarmente consigliato in tutti i casi nei quali l'efficacia della fecondazione potrebbe venire compromessa da determinati fattori, tra i quali: sperma di un animale troppo giovane, sperma congelato, cagne che presentino un'anamnesi d'infertilità, allevamenti di maschi riproduttori con sperma di scarsa qualità, accesso limitato ai maschi riproduttori.

Quando viene individuato un aumento dell'LH, SYNBIOTICS consiglia di sottoporre a test alcuni campioni quotidiani di siero per conoscere il tasso di progesterone. Infatti, se l'aumento di LH individuato corrisponde ad un picco preovulatorio, il tasso di progesterone dovrebbe aumentare sino a raggiungere, in generale, entro 3 giorni, un valore di 2ng/ml circa e dovrebbe, in seguito, rimanere elevato.

E' anche possibile individuare, mediante l'esame dell'LH, cagne e gatte che abbiano subito un'ovarectomia. La concentrazione di LH nel siero aumenta, nei cani e nei gatti, dopo la sterilizzazione. Dato che le concentrazioni di LH nel siero sono, nelle cagne e nelle gatte sessualmente intatte, di <1ng/ml – se si esclude il picco di LH in fase di estro - una forte concentrazione di LH indica l'avvenuta ablazione delle ovaie .

## **INDICAZIONI DEL TEST**

### **• PERIODO D'OVULAZIONE (nelle cagne)**

WITNESS LH, se usato insieme ad una dose di progesterone, è in grado d'identificare l'aumento di LH in fase preovulatoria e, in tal modo, il periodo d'ovulazione. L'ovulazione si verifica 2 giorni dopo l'aumento dell' LH : occorrono, agli ovociti, 2 giorni supplementari per giungere a maturità, dopodiché rimarranno vitali per 48-72 ore.

### **• DISTINZIONE TRA OVARECTOMIA E SESSUALITA INTATTA (nelle cagne e nelle gatte)**

WITNESS LH può anche essere impiegato per distinguere cagne o gatte che abbiano subito un'ovarectomia da cagne o gatte sessualmente intatte.

## **PRINCIPIO DEL TEST**

Il test WITNESS LH consente di misurare con precisione, con metodo semiquantitativo, l'ormone luteinizzante nei cani e nei gatti. Il test, facile da utilizzare, fornisce una rapida informazione al Veterinario. Il test si basa sulla tecnica d'immunomigrazione rapida (RIM) nella quale vengono usati anticorpi messi a contatto con particelle d'oro colloidale per fornire una riga visibile indicante la presenza dell'ormone luteinizzante.

WITNESS LH consente di evidenziare l'aumento dell' LH. Dato che tale aumento puo' verificarsi nello spazio di 24 ore, è assolutamente essenziale che il test venga effettuato su campioni quotidiani. Il sangue va prelevato ogni giorno, se possibile alla stessa ora, dal 4° o 5° giorno di proestro, oppure quando la citologia vaginale presenta una cornificazione vicina al 50% (la cornificazione è caratterizzata da cellule con bordi rugosi, angolosi, nucleate o anucleate). Va anche realizzato, il primo giorno del test, un dosaggio del progesterone per confermare il livello basale dello stesso. Se il test viene effettuato dopo l'inizio dell'estro, è probabile che l'aumento dell' LH abbia già avuto luogo e non possa essere retrospettivamente individuato.

Il risultato viene considerato positivo quando appare a livello della striscia di test una riga d'intensità uguale o superiore a quella della striscia campione di riferimento. Quando appare tale riga, il livello di LH nel siero è superiore a 1ng/ml.

Una fascia di controllo, situata all'estremità della membrana, consente di verificare se il test è stato correttamente effettuato.

## **CAMPIONI**

- Il test puo' essere UNICAMENTE realizzato su **siero**.
- E' preferibile non utilizzare campioni emolizzati o lipemici.

## **Conservazione dei campioni**

I campioni di siero vanno, preferibilmente, sottoposti al test subito dopo il prelievo.

Qualora si dovesse ritardare l'analisi (al massimo di 24 ore), i sieri vanno conservati in frigorifero, ad una temperatura compresa tra +2°C e 8°C.

In caso di conservazione prolungata, i sieri vanno congelati a -20°C. Non scongelare e ricongelare i campioni.

## **CONTENUTO DEL KIT**

- A. 6 sacchetti contenenti ciascuno una piastrina test e un sacchetto disidratante.
- C. Foglietto illustrativo.
- D. 6 pipette.

## **PRECAUZIONI**

1. Non utilizzare reagenti scaduti.
2. Conservare il kit tra 2° e 25°C. Non congelare.
3. Dopo l'apertura del sacchetto, utilizzare immediatamente il test (entro 10 min).
4. Evitare di toccare o danneggiare le membrane reattive (pozzetto campione (1) e griglie di lettura (2), (3)).
5. Mettere la piastrina su una superficie piana e orizzontale per permettere una corretta migrazione del campione.
6. Utilizzare una pipetta diversa per ogni campione.
7. Tenere la pipetta in posizione verticale durante la distribuzione del campione.
8. Esclusivamente per uso veterinario.

## **REALIZZAZIONE DEL TEST E RISULTATI**

### **1. Distribuzione del campione**

- Aprire un sacchetto, estrarre la pipetta e la piastrina test e collocarla su una superficie piana.
- Prelevare il campione con la pipetta in dotazione e, tenendola in posizione verticale, distribuire tre gocce nel pozzetto campione (1).
- La piastrina test deve rimanere perfettamente piana durante tutta la durata della migrazione del complesso campione/reattivo sulla striscia.

### **2. Lettura del test**

Osservare, dopo 20 minuti, la presenza (o meno) di districce di colore rosa nelle singole griglie (2) e (3).

### **3. RISULTATI**

#### **1. Convalida**

Il test è valido se è presente, nelle singole griglie di lettura, una striscia a livello del riferimento corrispondente (3).

#### **2. Interpretazione**

- Assenza di una striscia di colore rosa a livello del riferimento 2 o presenza di una striscia meno intensa della striscia campione a livello del riferimento (3) : significa che il tasso di LH è inferiore a 1ng/ml.
- Presenza di una striscia, a livello del riferimento (2), d'intensità uguale o superiore a quella della striscia campione a livello del riferimento (3) : significa che il tasso di LH è uguale o superiore a 1ng/ml.

#### **Osservazione :**

- Un risultato positivo rilevato in una cagna o una gatta che non si trovi in fase di estro, indica che l'animale è stato sottoposto ad ovariectomia. Ripetere il test 2 ore dopo con un altro campione, per confermare il risultato. Un risultato negativo consente di concludere che la cagna o la gatta è sessualmente intatta.
- Durante la fase di proestro, si possono riscontrare fluttuazioni pulsatili di LH di lieve entità, mentre il progesterone rimane stabile, ad un livello basale. Il progesterone incomincia ad aumentare solo con l'aumento dell' LH in fase di preovulazione. Il 3° giorno successivo al picco di LH, si riscontra, nella maggior parte delle cagne, un aumento del tasso di progesterone di circa 2ng/ml. Il controllo giornaliero del tasso di progesterone in seguito ad un risultato positivo del test WITNESS LH consente di distinguere le lievi fluttuazioni dell'LH, che aumentano durante il proestro, dal vero e proprio aumento dell'LH in fase di preovulazione. Qualora l'aumento del progesterone non venisse confermato entro un termine di 3 giorni successivo all'ottenimento di un risultato positivo con il test WITNESS LH, cio' vorrà dire che il risultato positivo precedentemente ottenuto era dovuto alle fluttuazioni del livello basale dell'LH.

## **ASPECTOS GERAIS**

A colocação em evidência do aumento da taxa de hormona luteinizante (LH) é um dos meios mais seguros para se conhecer o período de ovulação de uma cadela. Pode ser utilizada por rotina e está especialmente recomendada nos casos em que factores poderiam comprometer a eficácia da fecundação. Estes incluem: esperma de animal demasiado jovem, esperma congelado, cadelas com historial de infertilidade, criações de machos reprodutores que apresentem esperma de qualidade fraca, acesso limitado a machos reprodutores.

Sempre que é identificado um aumento de LH, a SYNBIOTICS recomenda que sejam testadas amostras diárias de soros para que sejam conhecidas as taxas de progesterona. Na verdade, se o aumento de LH detectado corresponde ao máximo pré-ovulatório, a taxa de progesterona deverá aumentar e em geral, atingir um valor próximo de 2ng/ml em 3 dias e manter-se elevada.

A colocação em evidência de cadelas e gatas que foram sujeitas a uma ovariectomia também é possível através da detecção de LH. As concentrações de LH no soro aumentam após a esterilização nos cães e nos gatos. Uma vez que as concentrações de LH no soro são <1ng/ml nas cadelas e gatas sexualmente intactas, com excepção do tempo de máximos de LH em estros, uma forte concentração de LH indica que os ovários foram retirados.

## **INDICAÇÃO DO TESTE**

### **• PERÍODO DE OVULAÇÃO (Nas cadelas)**

WITNESS LH, se utilizado juntamente com uma dosagem de progesterona, identifica o aumento de LH em pré-ovulação, e assim o período de ovulação. A ovulação surge 2 dias após o aumento de LH: Os ovócitos necessitam de 2 dias suplementares para estares maduros e serão viáveis durante 48-72 horas.

### **• DISTINÇÃO ENTRE OVARIECTOMIA E SEXUALIDADE PRESERVADA (Em cadelas e gatas)**

WITNESS LH também pode ser utilizado para distinção das cadelas ou gatas que foram submetidas a uma ovariectomia ou sexualmente intactas.

## **PRINCÍPIO DO TESTE**

O teste WITNESS LH permite medir com precisão e de modo semi-quantitativo a hormona luteinizante de cadelas e gatas. O teste é de simples utilização e dá uma informação rápida ao Veterinário Clínico. O teste baseia-se na técnica de imunomigração rápida (RIM) que utiliza anticorpos acoplados ao ouro coloidal para apresentar uma linha visível indicativa da presença da hormona luteinizante.

WITNESS LH permite-lhe colocar em evidência o aumento de LH. Uma vez que este aumento pode ocorrer durante um período de 24 horas, é essencial que sejam testadas amostras diárias. O sangue deve ser recolhido diariamente, se possível à mesma hora, a partir do 4º ou 5º dia de proestro, ou sempre que a citologia vaginal se aproxima dos 50% de cornificação (a cornificação caracteriza-se por células com bordos rugosos, angulosos, nucleados ou anucleados). Uma dosagem da progesterona devia também ser efectuada no primeiro dia do teste para confirmar o nível basal da progesterona. Se o teste é iniciado após o início do oestro, é provável que o aumento de LH já tenha ocorrido e não pode ser identificado retrospectivamente.

Um resultado é considerado positivo assim que surge uma linha ao nível da tira de teste, com intensidade igual ou mais marcada do que a tira de referência. Assim que isso ocorre, o nível de LH no soro é superior a 1ng/ml.

Uma tira de controlo, situada na extremidade da membrana, permite assegurar que o teste foi efectuado correctamente.

## **AMOSTRAS**

- O teste SÓ pode ser realizado em **soro**.
- É preferível não utilizar amostras hemolizadas ou lipémicas.

## **Conservação das amostras**

As amostras de soro devem ser testadas preferencialmente de imediato após a colheita.

Se a análise for adiada (não mais de 24 horas), os soros devem ser conservados entre +2°C e 8°C.

Para uma conservação prolongada, os soros devem ser congelados a -20°C. Não descongelar e recongelar as amostras.

## CONTEÚDO DO KIT

- A. 6 saquetas contendo cada uma plaqueta de teste e uma saqueta desidratante.
- C. Um folheto de instruções de utilização.
- D. 6 pipetas.

## PRECAUÇÕES

1. Não utilizar reagentes após a data de validade.
2. Conservar o kit entre 2°C e 25°C. Não congelar.
3. Utilizar o teste imediatamente após abertura da saqueta (dentro de 10 minutos após a abertura).
4. Evitar tocar ou danificar as membranas reagentes (poço de amostra (1) e janelas de leitura (2), (3)).
5. Colocar a plaqueta sobre uma superfície plana e horizontal para permitir uma migração correcta da amostra.
6. Utilizar uma pipeta diferente para cada amostra.
7. Segurar a pipeta na vertical durante a distribuição da amostra.
8. Apenas para utilização veterinária.

## REALIZAÇÃO DO TESTE E RESULTADOS

### 1. Distribuição da amostra

- Abrir uma saqueta, retirar a plaqueta e colocá-la sobre uma superfície plana.
- Colher a amostra utilizando a pipeta fornecida e mantendo-a perfeitamente na vertical, distribuir três gotas no poço de amostra (1).
- Deixar a plaqueta de teste na horizontal durante todo o tempo de migração do complexo amostra/reagente no tabuleiro.

### 2. Leitura do teste

Observar ao fim de 20 minutos, a presença ou não de tiras de cor rosa em cada janela (2) e (3).

### **3. RESULTADOS**

#### **1. Validação**

O teste é validado se uma tira surgir em cada uma das janelas de leitura no nível de referência (3).

#### **2. Interpretação**

- A não existência de qualquer tira de cor rosa ao nível da referência (2) ou se a tira for menos intensa que a tira testemunho ao nível da referência (3), isso significa que a taxa de LH é inferior a 1ng/ml.
- Uma tira ao nível da referência (2) cuja intensidade é igual ou superior à da tira testemunho ao nível da referência (3), isso significa que a taxa de LH é superior ou igual a 1ng/ml.

#### **Observação:**

- Um resultado positivo numa cadela ou gata, que não se encontre em fase de oestros, indica que os ovários foram retirados. Repetir o teste 2 horas depois com uma nova amostra para confirmar o resultado. Um resultado negativo permite colocar em destaque que a cadela ou a gata está intacta.
- Durante o período de proestro, podem surgir pequenas flutuações pulsáteis de LH, enquanto que a progesterona se mantém fiável a um nível basal. A progesterona só aumenta a partir do aumento de LH em pré-ovulação. Ao 3º dia após o máximo de LH, a maioria das cadelas apresentam um aumento da taxa de progesterona cerca de 2ng/ml. Um acompanhamento diário da progesterona após um resultado positivo com o teste WITNESS LH permite diferenciar as pequenas flutuações de LH, aumentando durante o proestros com o verdadeiro aumento de LH em pré-ovulação. Caso não haja confirmação do aumento de progesterona nos 3 dias após um resultado positivo com o teste WITNESS LH, isso significa que o resultado positivo obtido tinha origem em flutuações do nível basal de LH.