

# Vemhességi vizsgálat a Nyerstejminősítő Laboratóriumban

Sztarenszky Lídia, Kenéz Árpád, Jankó Szilvia  
Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft.

Az Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. Tejvizsgáló Laboratóriumában 2013. áprilisa óta van lehetőség a szarvasmarhák korai vemhességének tejmintából történő kimutatására. A vizsgálat egyik nagy előnye, hogy nincs szükség külön mintavételre, hiszen a teljesítményvizsgálati minták is alkalmasak az analízisre, mivel a tejminták tartósítására használt bronopol nem befolyásolja a mérési eredményeket.

**FIGYELEM!** A minták beküldésénél fontos szempont, hogy azoktól az egyedektől érdemes mintát küldeni, ahol az utolsó elléstől számítva eltelt már 60, a termékenyítéstől pedig 35 nap. Nagyon fontos megjegyezni, hogy a vizsgálatra **NEM ALKALMAS** a beteg tőgyű tehének (mastitis) teje, viszont a vizsgálat egy tőgynegyed tejéből is elvégezhető.

### Mintavétel

A mintavétel többféle módon történhet. A tervezett befejés alkalmával termelésellenőr kollégánk a kijelölt tehének tejmintáját az előzetesen kiküldött lila színű flakonba veszi le és külön ládába gyűjti, a szükséges adatokat pedig a befejési adatokhoz rögzíti.

Természetesen lehetőség van sűrűbb mintavételre is. Ez történhet termelésellenőr által végzett hóközi befejésként vagy a tenyészet által megmintázott és beküldött eseti megrendelésként. Ilyenkor az adott telepre közvetlenül vagy a termelésellenőrön keresztül papírdobozban küldjük ki a mintavételi edényzetet. Ebben az esetben a Megrendelő végzi a mintavételt, majd a mintát a kitöltött mintavételi jegyzőkönyvvel együtt postai úton küldi a laboratóriumba. A helyesen kitöltött mintavételi jegyzőkönyv mellékelése nélkülözhetetlen, mivel ennek adatai alapján készül el a vizsgálati jegyzőkönyv.

### Minták beérkezése:

A laboratóriumba rendszerint postai úton érkeznek be a minták. A ládák postai szállítólevelén feladáskor a termelésellenőr feltünteti, hogy mely láda tartalmazza a vemhességi vizsgálatra küldött mintákat. Ez azért lényeges, mert a vizsgálat több órát (1 óra előkészület + 4-5 óra vizsgálat) vesz igénybe. Így a mintákat a laboránsok már a laboratóriumba érkezés után rövid időn belül külön tudják szelektálni annak érdekében, hogy minél előbb elkezdődhessen az analízis. Laboratóriumunk a vizsgálat hosszúsága miatt a beérkezést követően 2 munkanapon belül vállalja az eredményközlést.



1. ábra: A vemhességi vizsgálatra beérkezett tejminták jellegzetes lila flakonokban

### Minták előkészítése:

A minták azonosítása után a flakonokból kipipettázzuk a minta egy részét egy centrifugacsőbe, amelyet azonosítószámmal látunk el. Majd egy számítógépes program segítségével rögzítjük az egyes flakonok vonalkódját, és a hozzájuk tartozó tenyészet-azonosító kódot.

A teljesítményvizsgálati minták esetében a maradék tejminta visszakerül a Teljesítményvizsgálati Laboratóriumba, ahol a többi paraméter (tejsír, tejfehérje, tejcukor, karbamid, szomatikus sejtszám) vizsgálata is megtörténik.

### A vizsgálat elve és menete:

A vemhességi vizsgálat egy szendvics-ELISA módszeren alapszik. A teszt a vemhességgel összefüggő glikoproteinek (PAG-ok) jelenlétének, mint a vemhesség markereinek detektálására szolgál tehát.

A vizsgálat egy mikrotiter lemezen történik a teszt KIT- ben található reagensek segítségével. A lemez tesztmélyedései gyárilag PAG ellenanyaggal vannak bevonva. Ezekbe a mélyedésekbe kipipettázzuk a protokoll szerinti kontroll mintákat, majd a vizsgálati mintarészeket. A mikrotiter lemez végére ellenőrzés céljából ismert eredményű kontroll minták kerülnek.



2. ábra: A tejminta kivétele centrifugacsőbe



3. ábra: A mintákat tartalmazó mikrotiter lemez a rázóinkubátorban.

A következő lépés a minták inkubációja, amely állandó körülmények között (120 percig, 37 °C-on) rázóinkubátoron történik.

Inkubációt követően a lemezt ELISA mosóval több lépésben kimossuk, majd a befogott PAG-ot PAG specifikus ellenanyaggal detektáljuk. Ezután szobahőmérsékleten 30 perces inkubáció következik, majd újabb mosási ciklust követően tormaperoxidáz konjugátumot pipettázunk a mélyedésekbe.

Az újabb 30 perces inkubációs idő leteltével a nem kötődött konjugátumot kimossuk, majd a tesztmélyedésekbe szubsztrát oldatot pipettázunk. Az utolsó inkubáció 20 percig tart, ennek végén a reakciót ún. stop oldattal állítjuk le.

A létrejött színreakció arányos a mintákban található PAG mennyiségével, amit fotométerrel mérünk 450 és 630 nanométeren. A mért abszorbancia értékek és a kontrollminták eredményei alapján a program kiszámítja a minták pontos PAG tartalmát.

#### Eredmények közlése:

Az eredmények alapján a program jelzi, hogy a minta PAG tartalma szerint a vizsgált egyed üres vagy vemhes.

A határértéken lévő mintáknál nem lehet egyértelműen eldönteni, hogy az állat üres vagy vemhes-e, ilyenkor a jegyzőkönyvön „ismétlés” megjegyzés szerepel. Az üresnek talált teheneket minden esetben a helyszínen palpációs és/vagy ultrahangos módszerrel ellenőrizni kell!

Az ellenőrző fejes során vett minták eredményeit az adatfeldolgozásra továbbítjuk, ahol azokat az adott egyedekhez rendelik és eredményközlő listák formájában megküldik a Megrendelőnek.

A hőközi és eseti mintákból a laboratórium készít vizsgálati jegyzőkönyvet, ezen a minta azonosítója és az eredmény szerepel.

#### Érvényességhez teljesülni kell:

- Pozitív kontroll átlag és negatív kontroll átlag különbsége legyen  $\geq 0,500$
  - Negatív kontroll átlaga legyen  $\leq 0,200$
- (Minden esetben belső kontroll - előző napi vemhes/üres.)

#### Értékelés (korrigált OD):

1. Üres: kisebb mint 0,100
2. Ismételt vizsgálat 0,250-nél kisebb, de 0,100 nagyobb vagy egyenlő
3. Vemhes: 0,250 vagy annál nagyobb

4. ábra: A mérési eredmények esetében a fenti előírásoknak kell teljesülniük

A tejből végzett vemhességi vizsgálatnak nagy előnye, hogy nem kell külön kifogni az állatokat mintavételhez, nem igényel külön munkaerőt, a termelésellenőrzéssel egybekötve nincs kiszállási és mintavételezési költsége. A vizsgálat gyors, pontos, megbízható. Az üres tehének korai felismerésével és újbóli termékenyítésével rövidülhet a két ellés közötti idő, így közvetett módon növekedhet a tejtermelés.