

P4^{FPA}

PRUEBA DE PROGESTERONA PARA LA LECHE BOVINA

El P4 FPA es una prueba semicuantitativa que utiliza la tecnología de fluorescencia polarizada competitiva. Determina el nivel de progesterona en muestras de leche de ganado.

La progesterona es una hormona esteroidea producida por el cuerpo lúteo, una glándula endocrina temporal en el ovario de los mamíferos con regulación específica hacia arriba o hacia abajo durante el ciclo estral. La progesterona es una hormona inespecífica que puede detectar el embarazo. También puede indicar el tiempo estral con una baja concentración que ocurre 2-3 días antes del próximo al estro.

Nota

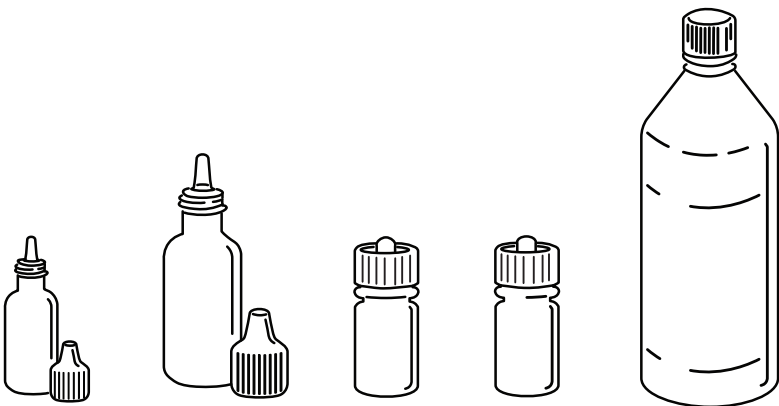
Antes de utilizar esta información y el producto al que da soporte, lea la advertencia y los requisitos de muestra. Estas instrucciones son fundamentales para el uso exitoso de este producto.

Primera edición (Enero de 2020)

© Copyright ELLIE LLC 2020

Todos los derechos reservados.

Contenido del kit

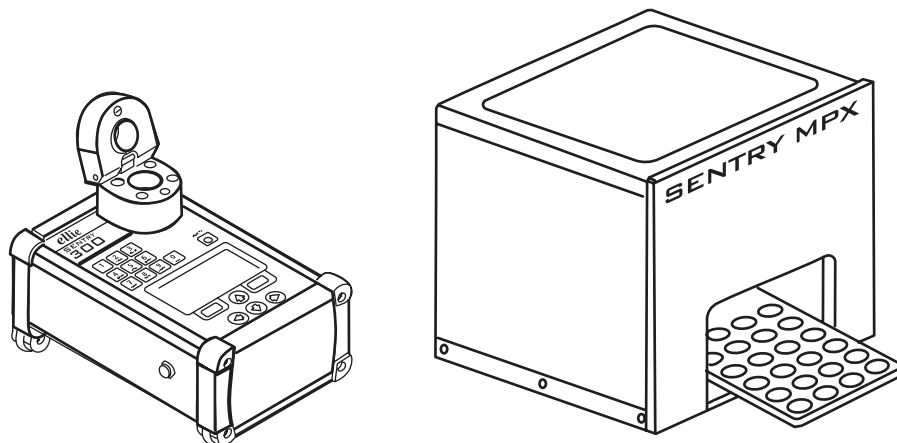


	PC Control Positivo	CM ClearMilk™ Buffer	T Trazador	D Detector	SD Diluyente de muestra
Kits de 250 test	4 ml	60 ml	2.5 ml	2.5 ml	250 ml
Kits de 1000 test	10 ml	2 x 60 ml	10 ml	10 ml	1000 ml

Materiales requeridos, pero no proporcionados

Instrumentos

Para leer la reacción, necesitará un instrumento FP del que fabricamos dos tipos. La serie de instrumentos Sentry 200 o 300 lee un tubo a la vez, y el Sentry MPX lee microplacas, que son bandejas de plástico que contienen 96 o 24 pozos de prueba. Los instrumentos están disponibles para préstamo o compra, dependiendo del volumen de pruebas. Los instrumentos Sentry 200/300 son portátiles, funcionan con baterías y se pueden usar en el campo. Son adecuados para analizar hasta 100 muestras por día. El instrumento de microplaca Sentry MPX es estacionario y puede procesar hasta 1000 muestras por día. Ellie no recomienda el uso de otros instrumentos FP y no proporciona una garantía para el ensayo P4FPA, si se utilizan otros instrumentos.

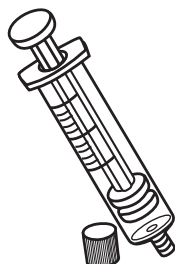


Otros materiales

- Tubos de microcentrífuga de 1,5 ml cuando se utiliza el método de filtro de jeringa para el tratamiento de muestras
- Tubos de microcentrífuga de 2 ml cuando se utiliza el método de centrifugación para el tratamiento de muestras
- Jeringas Luer lock de 20 ml
- Tapón de jeringa
- Filtro de jeringa de 0,2 a 0,7 micras de 25 mm hecho de fibra de vidrio, nylon o PES
- Tubos de ensayo de vidrio de 10 x 75 o 12 x 75 mm (cat # T1075 y T1275) o placas de microtitulación negras de 24 pozos (cat # PLATES24), dependiendo de la elección del instrumento
- Pipetas y puntas de pipeta
- Etanol absoluto
- Microcentrífuga
- Vórtex, si está disponible
- Pipeta de repetición manual (por ejemplo, Repetidor Eppendorf M4, cat # 4982000322)
- Puntas para que el pipeteador repetido entregue 10 μ l de líquido (por ejemplo, Eppendorf Combitips 0,5 ml, cat # 0030089421)



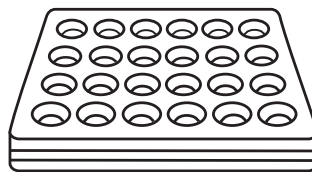
1.5 o 2 ml
microcentrifugas



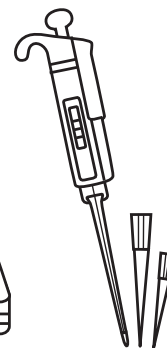
20 ml luer-lock



10 x 75 mm
o 12 x 75 mm
micropipetas
tubos y tapones
borosilicato



24 pocillos negro
microplacas



1 ml y 10 μ l
micropipetas



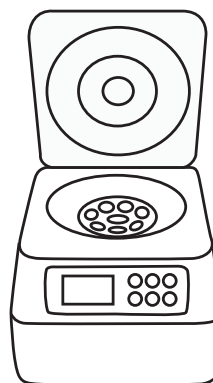
filtros de jeringa



absoluto
etanol



pipeta repetitiva
(opcional)



microcentrifuga
~10-15000 RPM
(opcional)



Vórtex
(opcional)

Almacenamiento y estabilidad

Conservar a 2-8°C. El kit se transporta en una caja refrigerada a una temperatura entre 0 y 15° C.

Advertencias

El Control Positivo puede contaminar fácilmente pipetas u otros reactivos. Manipule con cuidado y evite el contacto con líquidos.

Las lecturas de polarización se ven afectadas por la temperatura. Todos los reactivos utilizados durante la prueba deben estar a la misma temperatura que las muestras que se están analizando. Lleve todos los reactivos y muestras a temperatura ambiente.

Use pipetas calibradas de buena calidad. Evite las prácticas que puedan contaminar los reactivos.

Todos los materiales en este kit deben ser tratados de acuerdo con la MSDS. Evite la ingestión, el contacto visual, el contacto con la piel y otras exposiciones potencialmente perjudiciales. Todos los componentes contienen menos de 0,1% de azida de sodio.

No utilice componentes caducados o contaminados o componentes de otros kits. No mezcle componentes de diferentes lotes fabricados.

Los instrumentos utilizados para generar los resultados de las pruebas deben obtenerse o ser aprobados por Ellie. La garantía o el rendimiento no están garantizados de otra manera.

Requisitos de la muestra

Las muestras deben tomarse antes del ordeño matutino. Tome una muestra de leche del cuarto sano de la ubre tirando los primeros 10-15 chorros y luego comience a recolectar en un recipiente limpio. Recoger un mínimo de 50 ml de leche.

Las muestras tomadas al final del proceso de ordeño, justo después del proceso de ordeño o unas horas después del proceso de ordeño no son adecuadas para el ensayo P4FPA.

Las muestras de leche del cuarto de la ubre con signos de mastitis, no son adecuadas. Los síntomas más evidentes de la mastitis clínica en la ubre son hinchazón, calor, dureza, enrojecimiento o dolor. La leche adquiere un aspecto acuoso y las escamas, los coágulos o el pus están presentes.

Las muestras de leche deben transportarse en una caja refrigerada a una temperatura de 0-15 ° C con o sin conservante añadido (por ejemplo, dicromato de potasio). Para un almacenamiento de corto tiempo hasta 3 días, mantenga las muestras de leche a 2-8 ° C.

Durante mucho tiempo de almacenamiento, mantenga las muestras de leche a -20 °C

Preparación de muestras - Método de centrifugación

1. Preparar suficientes tubos de microcentrífuga para cada muestra;
2. Etiquete los tubos de microcentrífuga con las identificaciones de muestra correspondientes;

Tratar muestras

1

¡Mezcle bien las muestras antes de procesarlas!



2

Añadir 1 ml de cada muestra en un microtubo correspondiente.



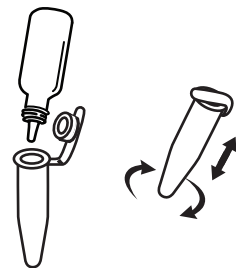
3

¡Agregue 500 µl de etanol absoluto en cada tubo con muestras y mezcle vigorosamente durante ~15 segundos!



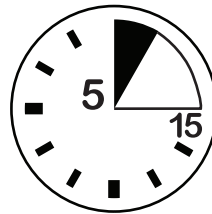
4

Agregue una gota de ClearMilk™ Buffer y mezcle suavemente.



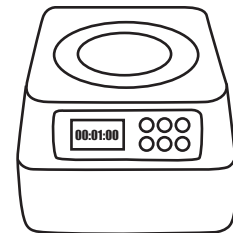
5

Incubar durante 5-15 minutos



6

Centrifugar a 10000 g (13-15K rpm) en una microcentrífuga típica durante un minuto.



7

La muestra de leche se separará en tres capas:

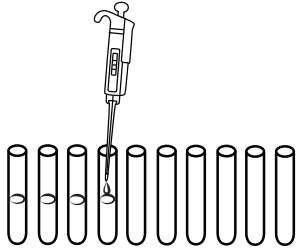
- Capa lipídica en la parte superior
- Suero de leche clara en el medio.
- Caseína blanca en la parte inferior.



→ Use suero de leche para la prueba.

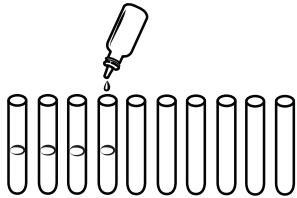
Protocolo de prueba

El siguiente ejemplo es un protocolo de prueba para 10 tubos, los primeros cuatro son controles. La primera corrida, debe incluir controles, pero los controles no son necesarios después de la primera ejecución. Sin embargo, los controles deben ejecutarse cada 30 minutos (debido a cambios en las temperaturas de los reactivos) o cuando sospeche que las condiciones han cambiado.



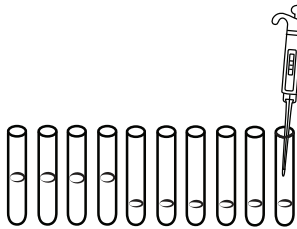
1

Pipetee 1 ml de Diluyente de muestras (Sample Diluent) en cuatro tubos de ensayo.



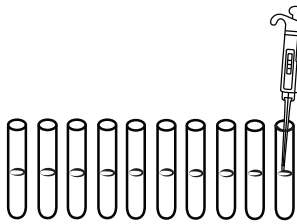
2

Agregue una gota de la PC en el cuarto tubo. Los primeros tres tubos servirán como Control Negativo.



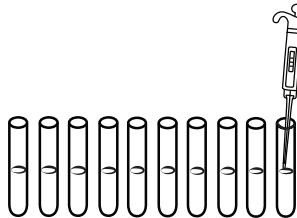
3

Pipetee 300 μ l de muestras en los tubos restantes. Asegúrese de que el exterior de la punta de la pipeta no tenga grasas; si no, límpielo con una toalla de papel limpia y luego pipetee la muestra.



4

Añada 700 μ l de diluyente de muestra a cada tubo que contenga muestras. No pipetear en tubos que contengan controles. Mezcle bien antes del siguiente paso.

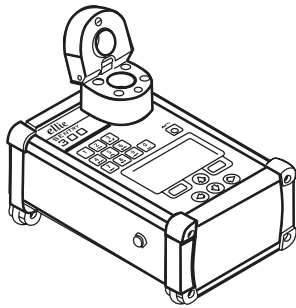


5

Agregue 10 μ l de Detector en todos los pocillos que contengan controles y muestras. Mezclar bien.

El protocolo de prueba descrito anteriormente utiliza un instrumento que lee tubos individuales. Los mismos volúmenes de reactivos se agregan a la microplaca de 24 pozos para procesar con un lector de placas. Cuando use placas de 24 pozos, incluya un conjunto de controles en cada placa. El pozo que se utiliza para el Control Positivo no se puede reutilizar para procesar muestras o el Control Negativo. A partir de este punto en adelante en el protocolo, el lector de microplacas puede procesar muestras sin intervención humana.

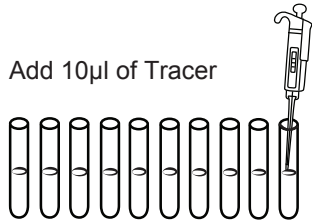
Continuar con el protocolo de prueba:



6

Obtenga lecturas en blanco de controles y muestras.

Add 10 μ l of Tracer



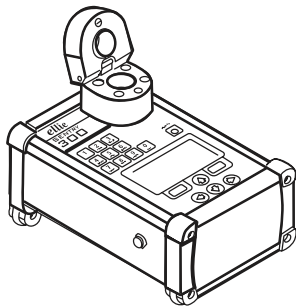
7

Agregue 1 μ l de Tracer en todos los pocillos.
Mezclar bien todos los tubos.



8

Incubar durante cinco minutos a temperatura ambiente.



9

Obtenga las lecturas finales de todos los tubos.

Validación de pruebas

El Control Negativo debe leer entre 270 y 300 mP;

El Control Positivo debe leer entre 20 y 70 mP;

Si cualquiera de los controles está fuera de los rangos anteriores, la prueba se considera inválida.

Póngase en contacto con el soporte técnico al support@ellielab.com o al (800) 556-6953.

Resultados e interpretación

Calcule los valores de ΔmP para cada muestra restando el mP de la muestra de la media de control negativo:

$$\Delta mP = (\text{mP promedio de Control negativo} - \text{mP muestra})$$

Los resultados de las pruebas se interpretan de acuerdo con la siguiente tabla:

ΔmP	0-35	35-45	>45
Nivel de progesterona	Bajo	Medio	Alto

Un **nivel bajo de progesterona** puede indicar diferentes condiciones fisiológicas y patológicas:

- La vaca está en celo/ calor visible o silencioso
- La ovulación ocurrirá pronto
- La vaca no anda en ciclo
- La vaca no está preñada

Los animales que muestran un **nivel medio de progesterona** deben volver a ser examinados uno o dos días después.

Un **nivel alto de progesterona** puede indicar diferentes condiciones:

- Posible embarazo
- La vaca se encuentra en la fase proestro o metaestro
- Fase lútea
- Diferentes condiciones patológicas como cuerpo lúteo persistente, piometra, momificación fetal, etc.

Notas