

ENSAYO DE BIOMARCADORES  
EN LA CLÍNICA

gama **Speed**<sup>TM</sup>  
Biomarker

# MANUAL TÉCNICO



**Speed**<sup>TM</sup> Progesterone 

**Speed Reader**<sup>TM</sup>

Construyendo el futuro  
de la salud animal

**Virbac**



## **PARTE I**

<b>Fisiología reproductiva de la perra</b>	<b>3</b>
A. Regulación Hormonal del ciclo estral	3
B. Ciclo reproductivo: Aspectos Clínicos, Hormonales y Anatómicos	4
<b>Detección de la ovulación y momento óptimo para la monta</b>	<b>7</b>
A. Comportamiento de estro	7
B. Citología vaginal	7
C. Endoscopia vaginal	8
D. Ecografía ovárica	8
E. Análisis de LH	8
F. Análisis de progesterona	9
<b>Otras indicaciones para el análisis de progesterona</b>	<b>10</b>
A. Detección y seguimiento del déficit luteínico	10
B. Identificación de falsos estros	10
<b>Bibliografía</b>	<b>11</b>

## **PARTE II**

<b>ANÁLISIS DE PROGESTERONA EN LA CLÍNICA</b>	<b>14</b>
<b><i>Speed</i><sup>™</sup> Progesterone</b>	<b>15</b>
Especificaciones del Test	15
Especificaciones de uso	16
Motivos de utilización	18
Validación del método	19
Determinación de los intervalos de referencia	20
Algoritmo	21

# Fisiología reproductiva de la perra

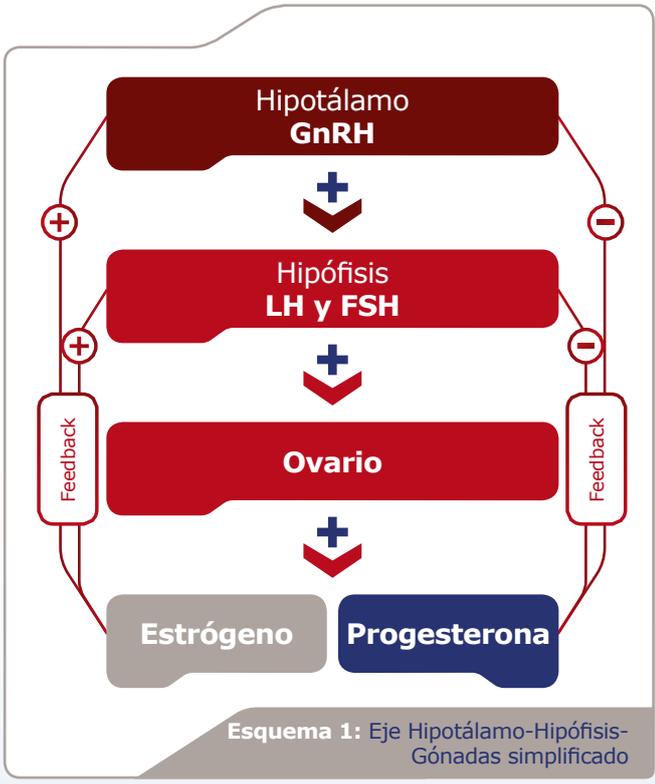


## A . REGULACIÓN HORMONAL DEL CICLO ESTRAL

El hipotálamo y la adenohipófisis segregan hormonas que controlan el proceso reproductivo.

### » Eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovarios

El ciclo reproductivo se encuentra bajo el control del eje hipotálamo-hipófisis-ovarios. Las células gonadótropas segregan tanto hormona estimuladora de los folículos (FSH) como hormona luteinizante (LH) de forma pulsátil en respuesta a la liberación también pulsátil de GnRH en el hipotálamo <sup>17</sup>. Las dos gonadotropinas (LH y FSH) estimulan la secreción hormonal ovárica de estrógenos y progesterona. FSH y LH actúan de forma sinérgica en el desarrollo y ovulación de los folículos ováricos <sup>6</sup>. El tipo y cantidad de hormonas liberadas varían en función del estado morfológico del folículo o del cuerpo lúteo. Las hormonas ováricas ejercen una retroalimentación negativa en el eje hipotálamo-hipófisis, influyendo así sobre la secreción de LH y FSH <sup>7</sup>.



La progesterona es una hormona esteroide que suele producirse en los cuerpos lúteos, aunque los folículos en maduración de la perra también pueden sintetizar progesterona, lo que explica el incremento preovulatorio de las concentraciones de progesterona en sangre <sup>1</sup>.

El patrón de secreción de LH y FSH junto con los cambios respectivos en los ovarios determina la fase del ciclo reproductivo <sup>17</sup>.

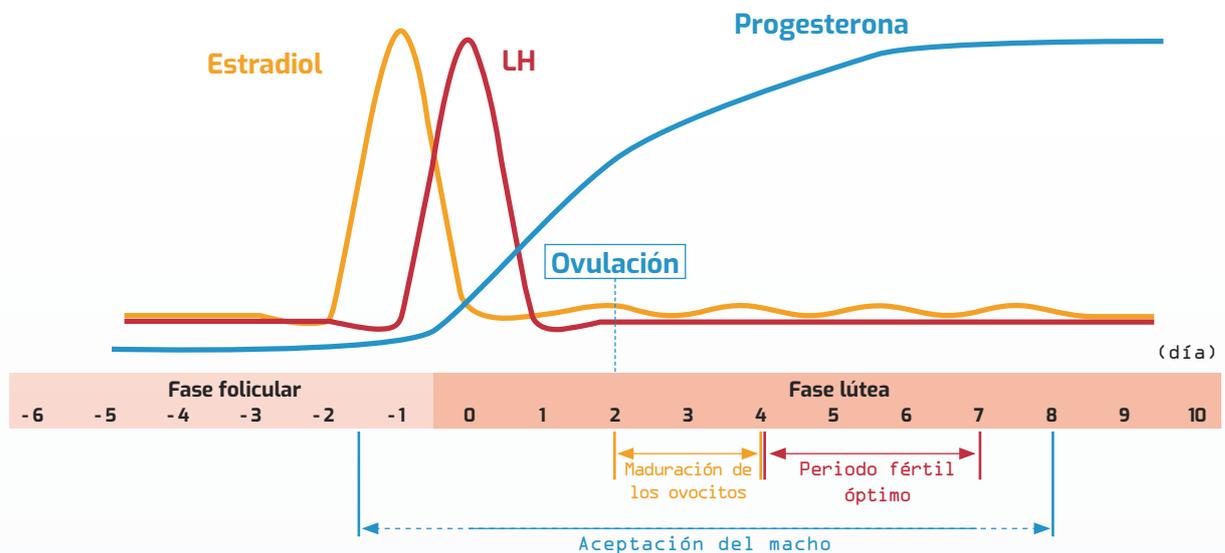
# Fisiología reproductiva de la perra



## B. CICLO REPRODUCTIVO: ASPECTOS CLÍNICOS, HORMONALES Y ANATÓMICOS

El ciclo ovárico de la perra presenta actividad a lo largo del año, con un intervalo entre estros de entre 5 y 11 meses. El ciclo ovárico tiene cuatro fases distintas que difieren en los relativo a las estructuras anatómicas, actividad hormonal, aspectos clínicos y comportamentales. Las distintas fases fisiológicas y comportamentales están reguladas por las hormonas reproductivas, y los cambios hormonales reflejan alteraciones anatómicas y clínicas<sup>1, 11, 12</sup>.

**PROESTRO:** Es la fase de dominancia del estrógeno (estradiol) que se sintetiza y segrega en los folículos ováricos. Al final del proestro, los folículos maduran, y la disminución de los niveles de estrógenos coinciden con la elevación de la progesterona plasmática, que es segregada por los folículos luteinizantes preovulatorios. Se cree que esta alteración de la relación entre estrógeno y progesterona es la que desencadena la subida de LH que así mismo inicia la ovulación entre 24 y 72 horas después<sup>11, 12</sup>.



1 semana: Tiempo de supervivencia medio del espermatozoides fresco en el útero

Esquema 2: Principal evolución hormonal durante el estro



# Fisiología reproductiva de la perra

**ESTRO:** Los niveles de progesterona segregada por los cuerpos lúteos siguen creciendo después de la ovulación y alcanzan niveles máximos en el diestro. Cuando las concentraciones de estrógenos bajan hasta niveles basales, el estro finaliza, afectando al comportamiento sexual de la perra y a las características anatómicas de la vagina y la vulva <sup>12</sup>.

**DIESTRO:** Se caracteriza por la dominancia de la progesterona. Se producen concentraciones máximas de progesterona entre 2 y 3 semanas después del inicio del diestro, y después de este pico la progesterona disminuye hasta el final del diestro <sup>5</sup>.

**INICIO DEL ANESTRO:** No se diferencia clínicamente del diestro en perras no gestantes. Se define como la fase que sigue al diestro y durante la cual disminuyen los niveles de progesterona hasta por debajo de 1,0-0,5 ng/ml <sup>12</sup>.



Esquema 3: Fases del ciclo ovárico <sup>5, 12</sup>

# Fisiología reproductiva de la perra



- **SUBIDA PREEVULATORIA DE LH:** Al final del proestro, la progesterona sérica se incrementa de forma gradual. La subida inicial de progesterona está asociada al inicio del estro. Esta combinación de la elevación de las concentraciones de progesterona y disminución de las concentraciones séricas de estrógeno induce la subida de LH y se considera necesaria para la exhibición del comportamiento de estro en las perra <sup>1, 12</sup>.

La subida de LH se produce cerca del inicio del estro y causa la ovulación <sup>1, 13</sup>. La duración de la subida de LH puede variar entre 24 y 96 horas <sup>1</sup>.

- **OVULACIÓN Y FERTILIZACIÓN:** La ovulación se produce entre 24 y 72 horas después de la subida de LH <sup>7, 12, 25</sup> y se completa en las siguientes 24 a 36 horas <sup>12, 18, 22</sup>. No obstante, los ovocitos se liberan en un estado inmaduro, por lo que no pueden fertilizarse inmediatamente. Necesitan aproximadamente entre 24 y 72 horas para madurar en el oviducto antes de que pueda producirse la fertilización <sup>1, 13</sup>. Aproximadamente el 90% de los folículos van rompiéndose progresivamente en los 3-4 días siguientes a la ovulación <sup>10, 16, 25</sup>. En consecuencia, **el periodo fértil óptimo de la perra se produce entre 2 y 5 días después de la ovulación**, cuando hay ovocitos maduros que aún no han degenerado <sup>18, 25</sup>. La vida media de los ovocitos es de 7 días después de la ovulación <sup>10</sup>. Además, el esperma necesita entre 7 y 12 horas de capacitación en el tracto genital antes de ser fértil, y el tiempo medio de supervivencia de los espermatozoides en el útero es de entre 6 y 7 días <sup>12, 22</sup>. La viabilidad del esperma y los ovocitos en asociación con el momento de ovulación son parámetros fundamentales para una monta satisfactoria.

# DetECCIÓN DE LA OVULACIÓN Y MOMENTO ÓPTIMO PARA LA MONTA



La determinación del periodo fértil para la monta está fuertemente correlacionada con el cálculo preciso de la ovulación y los sucesos preovulatorios. Existen varios métodos con un valor significativo para la evaluación del estado reproductivo, que incluyen la observación del comportamiento sexual de la perra, la medición de las concentraciones de hormonas, estudio de las células vaginales exfoliadas, la endoscopia vaginal y/o la ecografía. Ninguno de los métodos mencionados es totalmente preciso en todo momento, pero utilizados de forma conjunta pueden potenciar la probabilidad de montar o inseminar a la perra en el momento óptimo para la cría<sup>1, 8, 12</sup>.

## A . COMPORTAMIENTO DE ESTRO

En la práctica, la duración del proestro y el estro pueden variar considerablemente<sup>3, 8, 19</sup> y **más de un tercio de las perras no ovulan en los días previstos como promedio del estro**<sup>13, 18</sup>. En consecuencia, la determinación del momento para la cría no es sencilla si solo se observa el comportamiento sexual de la perra o contando los días desde el inicio del proestro<sup>8</sup>. Por ejemplo, puede producirse la ovulación en perras fisiológicamente normales que siguen no siendo receptivas para la monta por varios motivos. Las perras dominantes puede que no exhiban nunca la posición de celo (celo comportamental), mientras que las perras sumisas pueden ser receptivas a los machos incluso no estando en el estro. En consecuencia, **la ovulación no siempre está estrechamente relacionada con el inicio del comportamiento sexual** y puede variar dependiendo de la raza y de las peculiaridades individuales<sup>1, 8, 12, 20</sup>.

## B . CITOLOGÍA VAGINAL

La evaluación citológica de los frotis vaginales puede emplearse para identificar la fase del estro en función del aspecto microscópico de las distintas células epiteliales vaginales en cada fase. Se requiere una serie de frotis cada 2 o 3 días para identificar correctamente la fase del ciclo. La citología vaginal es indicativa para la monta cuando el porcentaje de células superficiales supera el 80-90%. Este índice de células epiteliales cornificadas aparece, de promedio, entre 3 y 6 días antes de la ovulación, aunque se han descrito variaciones significativas, desde los 9 días antes y hasta los 2 días después de la ovulación<sup>8, 13</sup>.

Además de las variaciones individuales, el solapamiento en el aspecto de la citología vaginal vista al final del proestro y a lo largo del estro no permite una detección precisa de la fecha exacta de la ovulación de forma prospectiva<sup>8, 12, 13, 18</sup>. **La citología vaginal puede precisar mejor el momento de la ovulación cuando se combina con al determinación de la concentración de progesterona sérica**<sup>12</sup>.

**SE RECOMIENDA UTILIZAR LA CITOLOGÍA VAGINAL Y/O ENDOSCOPIA VAGINAL JUNTO CON LA PROGESTERONA PLASMÁTICA PARA DETERMINAR EL MOMENTO DE LA OVULACIÓN**<sup>12, 20</sup>.

# Detección de la ovulación y momento óptimo para la monta



## C . ENDOSCOPIA VAGINAL

La endoscopia vaginal examina los cambios progresivos de la mucosa durante las distintas fases del ciclo. Al comienzo del estro, los pliegues edematosos de la mucosa de la vagina empiezan a encogerse. Esta técnica requiere una experiencia relativamente prolongada para distinguir de forma precisa el inicio del estro y no puede detectar de forma precisa el día de ovulación si se usa sola <sup>18</sup>.

## D . ECOGRAFÍA OVÁRICA

En muchos estudios se ha presentado que la ecografía de los ovarios permite detectar la ovulación de forma precisa. Sin embargo, requiere experiencia porque los folículos ováricos justo antes y justo después de la ovulación son muy parecidos <sup>8</sup>, y se requieren observaciones prácticamente a diario, antes y durante la ovulación<sup>14, 18, 22</sup>. Recientemente se ha demostrado que esta técnica incrementa la precisión de la determinación de la ovulación en tan solo un 10% en comparación con el análisis de progesterona. Por lo tanto, se recomienda su uso cuando se requiere una determinación muy precisa del día de ovulación <sup>18</sup>.

## E . ANÁLISIS DE LH

El declive de las concentraciones séricas de estrógeno y el incremento de las concentraciones séricas de progesterona inducen la subida de LH, que se produce cerca del inicio del estro y estimula la ovulación entre 24 y 72 horas más tarde <sup>1, 12, 13</sup>.

La detección del pico de LH es muy valioso para el cálculo del momento de la ovulación. Aunque es útil, la breve duración del pico de LH requiere al menos muestras diarias desde el inicio del proestro, convirtiéndolo en un proceso que requiere tiempo <sup>2, 13, 18, 22, 24</sup>. En cambio, **es menos probable que pase desapercibido el incremento progresivo de las concentraciones de progesterona durante varios días antes de la subida de LH** <sup>2</sup>.

# Detección de la ovulación y momento óptimo para la monta



## F . ANÁLISIS DE PROGESTERONA

La ovulación está estrechamente relacionada con dos sucesos endocrinos: Pico de LH e inicio del incremento de la progesterona <sup>22</sup>.

**Los niveles plasmáticos de progesterona siguen un crecimiento característico antes, durante y después de la ovulación y parecen bastante constantes a pesar de la variabilidad racial <sup>18</sup>.** El conocimiento de las **concentraciones plasmáticas de progesterona** y cómo cambian en una perra normal que pasa del proestro al estro **puede ser extremadamente valioso para recomendar una fecha de monta.** El establecimiento de un nivel inicial de progesterona durante el proestro y la toma seriada de muestras a días alternos permite al veterinario detectar la subida de progesterona asociada con el inicio del estro (pico de LH) y la ovulación <sup>12</sup>.

En general, las concentraciones de progesterona suben por encima de los 1,0 ng/ml aproximadamente 48 horas antes del pico de LH y siguen incrementándose y alcanzan concentraciones superiores a los 4-5 ng/ml cerca de la ovulación. Sin embargo, siempre existen algunas variaciones individuales. En algunas perras fisiológicamente normales puede producirse la subida inicial de las concentraciones de progesterona justo antes, al mismo momento o justo después del inicio de la subida de LH <sup>7</sup>.

### » PUNTOS PRINCIPALES

- La monitorización de los niveles de progesterona en sangre durante el estro es uno de los métodos más fiables de detección de los sucesos preovulatorios en la clínica y para identificar el momento de monta en perras <sup>15, 18, 20, 21</sup>.
- El análisis cuantitativo de la progesterona, utilizado junto con la citología o endoscopia vaginal y el comportamiento de la perra, puede potenciar las posibilidades de montar o inseminar a la perra en el periodo óptimo para la cría <sup>1, 12</sup>.

# Otras indicaciones para el análisis de progesterona



## A . DETECCIÓN Y SEGUIMIENTO DEL DÉFICIT LUTEÍNICO

El déficit luteínico (hipoluteidismo) es la secreción insuficiente de progesterona en los cuerpos lúteos durante la gestación.

En caso de sospecha de un déficit luteínico se recomienda al menos una determinación semanal de los niveles de progesterona desde el inicio de la gestación. Los niveles bajos de progesterona (aproximadamente 10 ng/ml) o un rápido descenso motivan una mayor frecuencia de las determinaciones <sup>23</sup>.

## B . IDENTIFICACIÓN DE FALSO ESTRO

Algunas perra pueden presentar todos los signos clínicos y comportamentales de proestro y estro, como el agrandamiento de la vulva, secreción sanguinolenta, receptividad, etc. pero no llegan a ovular. Es lo que se denomina "falso estro" y parece deberse a la ausencia de una subida de LH que causa una incapacidad para ovular.

**El único método para diferenciar un falso estro de un ciclo normal es la determinación de si ha habido o no un incremento normal de la progesterona después de la ovulación<sup>4</sup>.**

A diferencia del ciclo normal, en un falso estro no hay un incremento de la progesterona. Sin embargo, las perras deben monitorizarse durante unos días porque los niveles de progesterona se elevan de forma transitoria (1 o 2 días) pero disminuyen poco después.

# Bibliografía

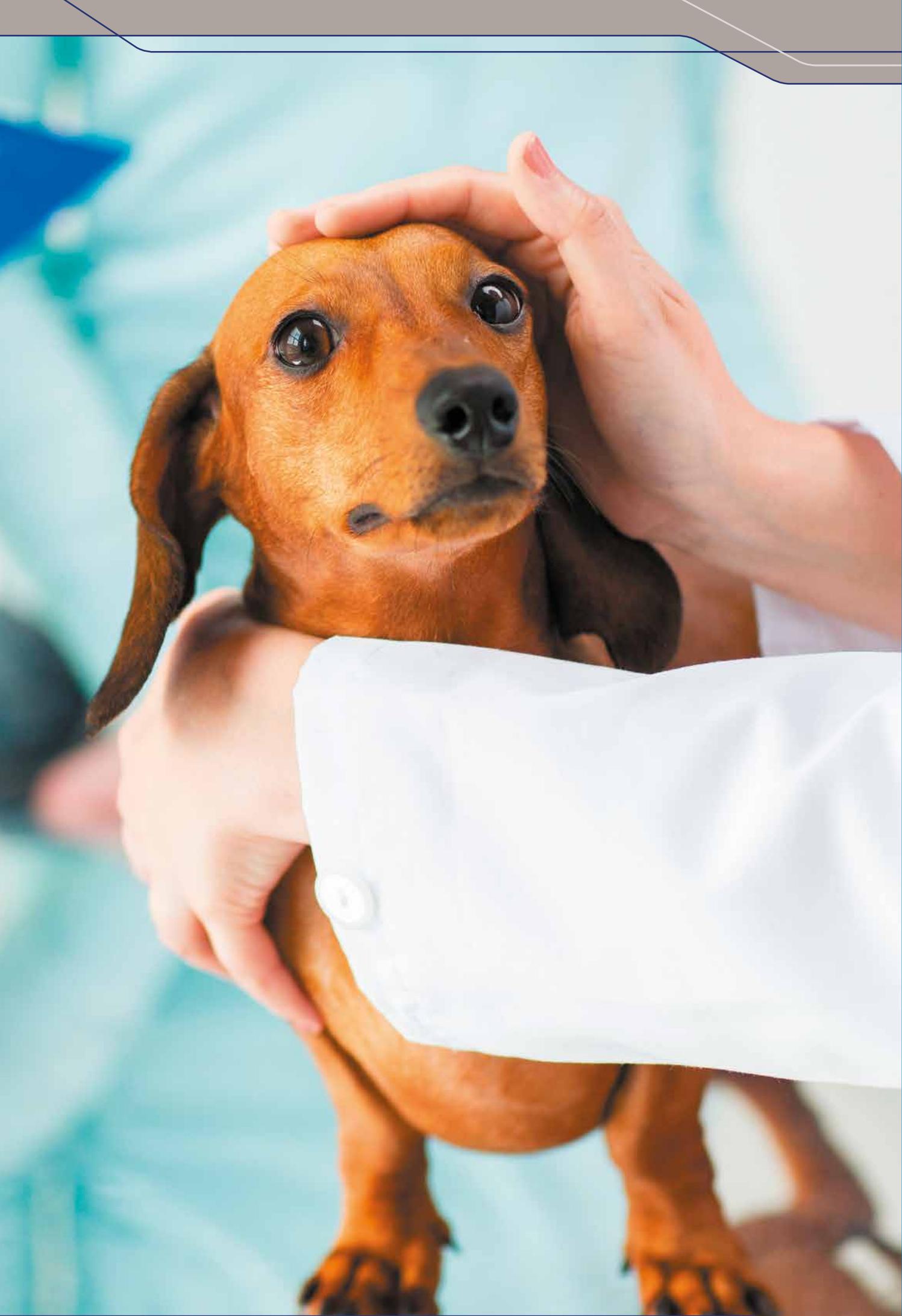


1. Buff S. Physiology and endocrinology of the ovarian cycle. In ESAVS-EVSSAR Course, Reproduction in companion, exotic and laboratory animals. Vol.1 Nantes, France, 2009.
2. Buff S. Interests and limits of hormonal assay in breeding management. In ESAVS-EVSSAR Course, Reproduction in companion, exotic and laboratory animals. Vol.1 Nantes, France, 2009.
3. Chatdarong K, Tummaruk P, Sirivaidyapong S, Raksil S. Seasonal and breed effects on reproductive parameters in bitches in the tropics: a retrospective study. *J Small Anim Pract.* 2007; 48:444-8.
4. Concannon PW. Canine pregnancy and parturition. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1986; 16:453-75.
5. Concannon PW. Reproductive cycles of the domestic bitch. *Anim Reprod Sci.* 2011; 124:200-10.
6. Cunningham JG. Textbook of Veterinary Physiology. 1st Edition, 1992. ISBN : 0-7216-2306-9. WB Saunders, Philadelphia, PA 19106.
7. de Gier J, Kooistra HS, Djajadiningrat-Laanen SC, Dieleman SJ, Okkens AC. Temporal relations between plasma concentrations of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, estradiol-17beta, progesterone, prolactin, and alpha-melanocyte-stimulating hormone during the follicular, ovulatory, and early luteal phase in the bitch. *Theriogenology.* 2006; 65:1346-59.
8. England GC and Concannon PW. Determination of the Optimal Breeding Time in the Bitch: Basic Considerations. In : Recent advances in small animal reproduction. International Veterinary Information Service, Ithaca, NY, 2002. Available in [www.ivis.org](http://www.ivis.org). Access on June 8, 2002.
9. England GC, Yeager A, and Concannon PW. Ultrasound imaging of the reproductive tract in the bitch. In : Recent advances in small animal reproduction. International Veterinary Information Service Ithaca, NY, 2003. Available in [www.ivis.org](http://www.ivis.org). Access on July 21, 2003.
10. England GC, Burgess CM, Freeman SL, Smith SC, Pacey AA. Relationship between the fertile period and sperm transport in the bitch. *Theriogenology.* 2006; 66:1410-8.
11. Ettinger SJ, Feldman EC. Textbook of Veterinary Internal Medicine. 7th Edition, 2010. Saunders Elsevier, St Louis, Missouri. ISBN : 978-9996962837 (v.2)
12. Feldman EC, Nelson RW. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. 3rd Edition, 2004. WB Saunders, Philadelphia, PA. ISBN : 0-7216-9315-6
13. Fieni F. Management of the heat to obtain a pregnancy in the bitch. In ESAVS-EVSSAR Course, Reproduction in companion, exotic and laboratory animals. Vol.1 Nantes, France, 2009.
14. Fontbonne A, Raul TD, Malandain E, boschiero S, Truelle N, Dumasy M and Begon D. Ovulation diagnosis attempt using ovarian ultrasonography. Proceedings of the 4th European Veterinary Society for Small Animal Reproduction (EVSSAR) Congress. Barcelona, Spain, 2004.
15. Fontbonne A. In vivo ovulation, oocyte maturation and fertilisation in the bitch. *Life Sciences.* AgroParisTech, 2008. English. <NNT : 2008AGPT0010>. <pastel 00004418>
16. Groppetti D, Aralla M, Bronzo V, Bosi G, Pecile A, Arrighi S. Perioovulatory time in the bitch: What's new to know? Comparison between ovarian histology and clinical features. *Anim Reprod Sci.* 2015; 152:108-16.
17. Kooistra HS, Okkens AC, Bevers MM, Poppnijders C, van Haaften B, Dieleman SJ, Schoemaker J. Concurrent pulsatile secretion of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone during different phases of the estrous cycle and anestrus in beagle bitches. *Biol Reprod* 1999a; 60:65-71.

# Bibliografía



- 18.** Lévy X, Fontbonne A. Determining the optimal time of mating in bitches: particularities. *Revue Bras. Reprod. Anim.* 2007; 31:128-134.
- 19.** Linde-Forsberg C, Wallén A. Effects of whelping and season of the year on the interoestrous intervals in dogs. *J Small Anim Pract.* 1992; 33:67-70
- 20.** Moxon R, Batty H, Irons G, England GCW. Periovarian changes in the endoscopic appearance of the reproductive tract and teasing behavior in the bitch. *Theriogenology.* 2012; 78:1907-16.
- 21.** Okkens AC, Teunissen JM, Van Osch W, Van Den Brom WE, Dieleman SJ, Kooistra HS. Influence of litter size and breed on the duration of gestation in dogs. *J Reprod Fertil Suppl.* 2001;57:193-7.
- 22.** Reynaud K, Fontbonne A, Marseloo N, de Leseqno CV, Saint-Dizier M, Chastant-Maillard S. In vivo canine oocyte maturation, fertilization and early embryogenesis: a review. *Theriogenology.* 2006; 66:1685-93.
- 23.** Root Kustritz MV. Use of Supplemental Progesterone in Management of Canine Pregnancy. In: *Recent advances in small animal reproduction.* International Veterinary Information Service, Ithaca, NY, 2001. Available in [www.ivis.org](http://www.ivis.org). Access on April 21, 2001.
- 24.** Root Kustritz MV. *The Dog Breeder's Guide to Successful Breeding and Health Management.* 1st edition, 2006. Saunders Elsevier, St Louis, Missouri. ISBN : 1-4160-3139-1
- 25.** Wildt DE, Chakraborty PK, Panko WB, Seager SW. Relationship of reproductive behaviour, serum luteinizing hormone and time of ovulation in the bitch. *Biol Reprod.* 1978; 18:561-70.



*Speed*<sup>™</sup> Progesterone

## ANÁLISIS DE PROGESTERONA EN LA CLÍNICA



# Speed™ Progesterone

## Especificaciones del Test



### » Introducción

#### » Speed Reader™

Speed Reader™ es un instrumento de lectura de fluorescencia semiautomático y portátil para la medición de la concentración de biomarcadores específicos en la sangre de distintas especies. La concentración de cada marcador se mide indirectamente mediante la intensidad de una señal fluorescente producida por la mezcla de la muestra con el reactivo.

**Speed Reader™ convierte esta intensidad de la señal fluorescente en un valor cuantitativo y lo muestra como resultado del test.**

Speed Reader™ se ha calibrado para un uso veterinario y solo debe utilizarse junto con tests de inmunoensayo compatibles que se basen en la reacción antígeno-anticuerpo y la tecnología de la fluorescencia.

#### » Speed™ Progesterone

Speed™ Progesterone es un test rápido cuantitativo que permite el análisis de progesterona circulante mediante el análisis de la fluorescencia inducida por láser.

**RANGO DINÁMICO DE  
Speed™ PROGESTERONE**

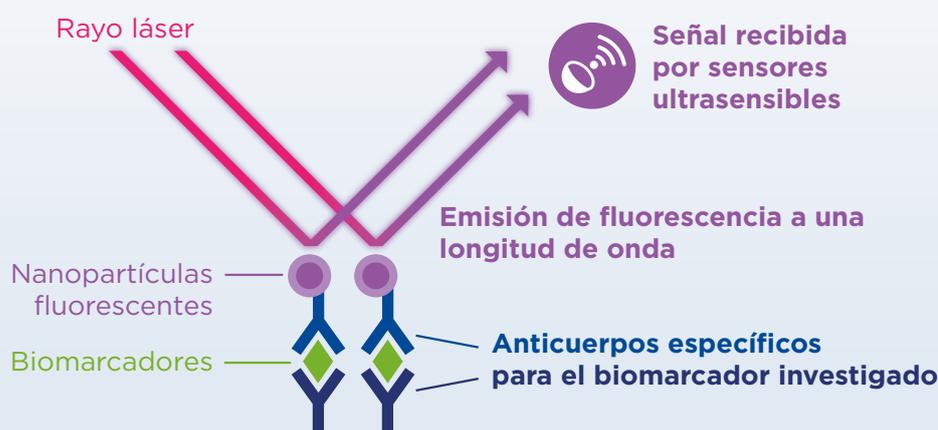
**Entre 1 ng/l y 20 ng/l**  
(Entre 3,18 nmol/l y 63,60 nmol/l)

### » Principio esencial del inmunoensayo

Los inmunoensayos son métodos bioanalíticos en los que la medición cuantitativa de biomarcador depende de la reacción de un antígeno (el biomarcador que se busca) y un anticuerpo.

**Esencialmente, el método se basa en la reacción de unión de una cantidad específica de un anticuerpo marcado con la cantidad del antígeno de la muestra (biomarcador que se busca).**

El marcador se une a los anticuerpos marcados con un colorante fluorescente, formando un complejo Marcador-Anticuerpo. El complejo se fija sobre la membrana del test en unos puntos de unión específicos. El análisis se completa midiendo la actividad fluorescente inducida por el láser en los puntos de unión.



# Speed™ Progesterone

## Especificaciones de uso



### » Requisitos de la muestra

#### » Muestra

Speed™ Progesterone puede utilizarse tanto con muestras de **suero** (tubo seco) o **plasma** (Heparina-Li). No utilizar tubos con gel para separación del suero.

No se ha detectado interferencia con la hemólisis. Las muestras muy lipémicas pueden afectar a los resultados. Se recomienda un periodo de ayuno de 6 horas antes de la toma de muestras para limitar la hiperlipemia.

#### » Conservación

Las muestras pueden utilizarse directamente después de la centrifugación o puede transferirse el suero o plasma a un nuevo tubo seco y conservarlo para utilizarlo más tarde.

- Las muestras pueden conservarse en un frigorífico (entre 2 y 8 °C) hasta 72 horas.
- Pasadas 72 horas, conservarlas en un congelador (-20 °C)

Las muestras almacenadas deberían dejarse volver a la temperatura ambiente (18-27 °C) y centrifugarse antes del análisis.

### » Instrucciones para antes del análisis

#### » Transferencia de la muestra

Las muestras deberían transferirse **únicamente con la micropipeta de 100 µl proporcionada** siguiendo las instrucciones para un uso apropiado de la pipeta.

#### » Puntos a comprobar

**PRESENCIA DE BURBUJAS DE AIRE:** Debe presionarse el pistón de la pipeta ANTES de insertar la punta de la pipeta en el tubo de la muestra. En caso contrario, la micropipeta podría aspirar burbujas de aire que afectarían al volumen de muestra aspirada.

**FORMACIÓN DE FIBRINA:** Un tiempo no apropiado para la coagulación o centrifugación de la muestra o unas condiciones de conservación de la muestra (frigorífico o -20 °C) pueden contribuir a la presencia de hebras de fibrina en el suero o plasma. Esto puede generar resultados erróneos del test por el taponamiento de la pipeta y un volumen reducido de la muestra aspirada. En este caso, se recomienda volver a centrifugar las muestras.

# Speed™ Progesterone

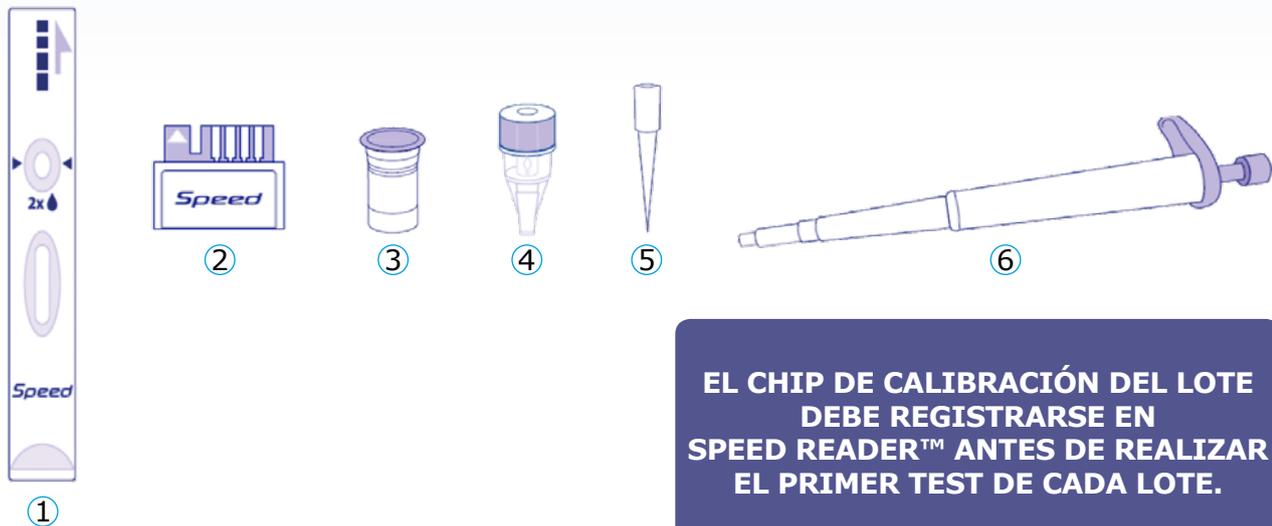
## Especificaciones de uso



Speed™ Progesterone no puede interpretarse visualmente, debiendo ser leído únicamente con el analizador Speed Reader™.

### » Materials

- 1 placa de test,
- chip de calibración del lote,
- 1 tubo de reactivo,
- 1 tapón cuentagotas,
- 1 punta de pipeta y
- micropipeta de 100.



### » Aplicación de la muestra

El reactivo y la placa del test deberían alcanzar la temperatura ambiente (entre 18 y 27 °C) **durante un mínimo de 30 minutos antes de utilizarlos.**

Transferir **100 µl de suero o plasma** al tubo de reactivo con la ayuda de la micropipeta.

**No precisa incubación. La mezcla debe utilizarse inmediatamente.** Cualquier alteración del volumen de reactivo o del tiempo de incubación puede causar resultados erróneos de la prueba.

Deben desecharse las 2 primeras gotas de la mezcla para limpiar el espacio muerto. Tras retirar completamente la placa de Speed Reader™, añadir las siguientes **2 gotas en el pocillo para muestra** mientras se sostiene el vial **VERTICALMENTE.**



# Speed™ Progesterone

Motivo de utilización



## MOTIVO DE UTILIZACIÓN

### DETECCIÓN DEL PERIODO FÉRTIL

- Determinación de la **subida de LH** (elevación inicial de la progesterona) y **momento de ovulación**
- Manejo de la monta o inseminación

## » Valores de referencia

### Rango dinámico de Speed™ Progesterone:

Entre 1 ng/ml y 20 ng/ml (Entre 3,18 nmol/l y 63,60 nmol/l)

Conversión: 1 ng/ml = 3,18 nmol/l

<b>PROGESTERONA BASAL</b> Entre 0 y 2 ng/ml	<b>PICO DE LH SUBIDA DE PROGESTERONA</b> Entre 2 y 5 ng/ml	<b>LOS OVOCITOS EMPIEZAN A MADURAR DESPUÉS DE LA OVULACIÓN</b> Entre 5 y 10 ng/ml	<b>PERIODO FÉRTIL CASI AL FINAL</b> > 10 ng/ml
<b>PERIODO FÉRTIL</b> Repetir el test cada 2 días hasta que la progesterona sea $\geq 2$ ng/ml	Repetir el test cada día hasta que la progesterona sea $\geq 5$ ng/ml	Se recomienda la monta o inseminación dos veces entre 1 y 4 días después	Monta o inseminación inmediatamente <b>Cuidado:</b> El periodo fértil podría haber pasado

# Speed™ Progesterone

## Validación del método



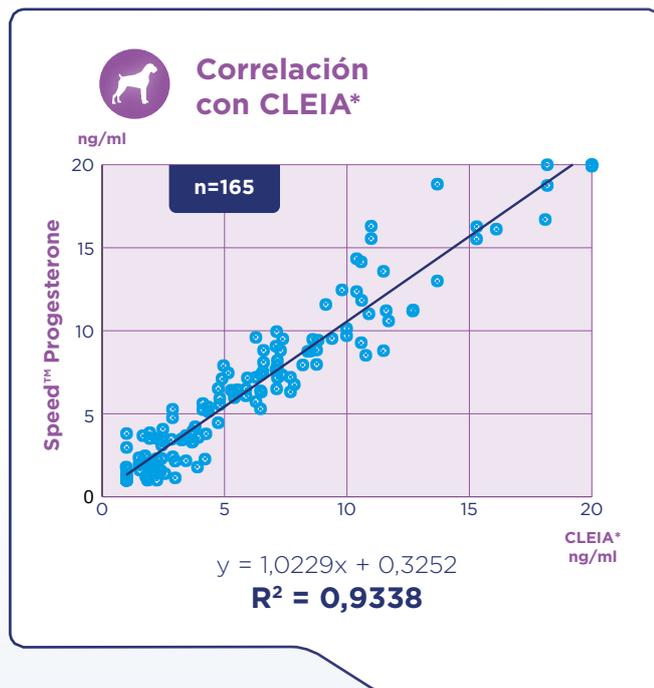
El inmunoensayo Speed™ Progesterone en la clínica fue validado para la medición de progesterona circulante en sangre en perras, en comparación con el método de laboratorio, inmunoensayo con enzimas quimioluminiscentes (CLEIA; IMMULITE® 2000, Siemens).

### » Objetivo

El objetivo de este estudio era comparar los resultados producidos por Speed™ Progesterone con los obtenidos mediante CLEIA, que sirvieron como método de referencia.

### » Materiales y método

Se midió la progesterona en **165 muestras clínicas de sangre canina**. Las muestras analizadas con CLEIA, en el laboratorio de patología clínica, VetAgro Sup de Lyon, también fueron analizadas con Speed™ Progesterone.



### » Resultados y conclusión

La correlación ( $R^2$ ) fue de **0,93**, lo que indica una excelente asociación entre ambos sistemas de análisis.

El nuevo ensayo inmunocromatográfico para la clínica Speed™ Progesterone tiene una excelente correlación con el inmunoensayo con enzimas quimioluminiscentes y puede ser una herramienta fiable para el seguimiento del celo y predicción del parto en la clínica.

Fuente: BVT, La Seyne sur Mer, Francia. DATOS INTERNOS.

\*Inmunoensayo con enzimas quimioluminiscentes

# Speed™ Progesterone

Determinación de los intervalos de referencia



## » Objetivo

Evaluación de los intervalos de ovulación de Speed™ Progesterone y la correlación con el inmunoensayo quimioluminiscente Elecsys® de la Universidad Veterinaria de París (Maison-Alfort).

## » Materiales y método

### » Muestras

Se siguió a 28 perras durante su ciclo estral, con un mínimo de 3 visitas.

### » Métodos de referencia

Inmunoquímica - Elecsys® (Roche diagnostics, Alemania).

**MÉTODOS DE CONFIRMACIÓN:** Ecografía y citología vaginal

### » Correlación con el método de referencia

- Los valores de Speed™ Progesterone estuvieron altamente correlacionados ( $R^2=0,9015$ ) con el método validado (electroinmunoensayo quimioluminiscente, Elecsys®) de CERCA (Centre of Reproduction Studies of Carnivores), de la Universidad Veterinaria de París (Maison-Alfort).
- Los resultados de progesterona para ambos métodos se verificaron mediante ecografía para obtener una identificación más rigurosa del momento de la ovulación.

## » Resultados y conclusión

Los valores absolutos de progesterona pueden variar entre dos métodos distintos, lo que subraya la necesidad de una interpretación distinta a partir de los intervalos validados para cada método.

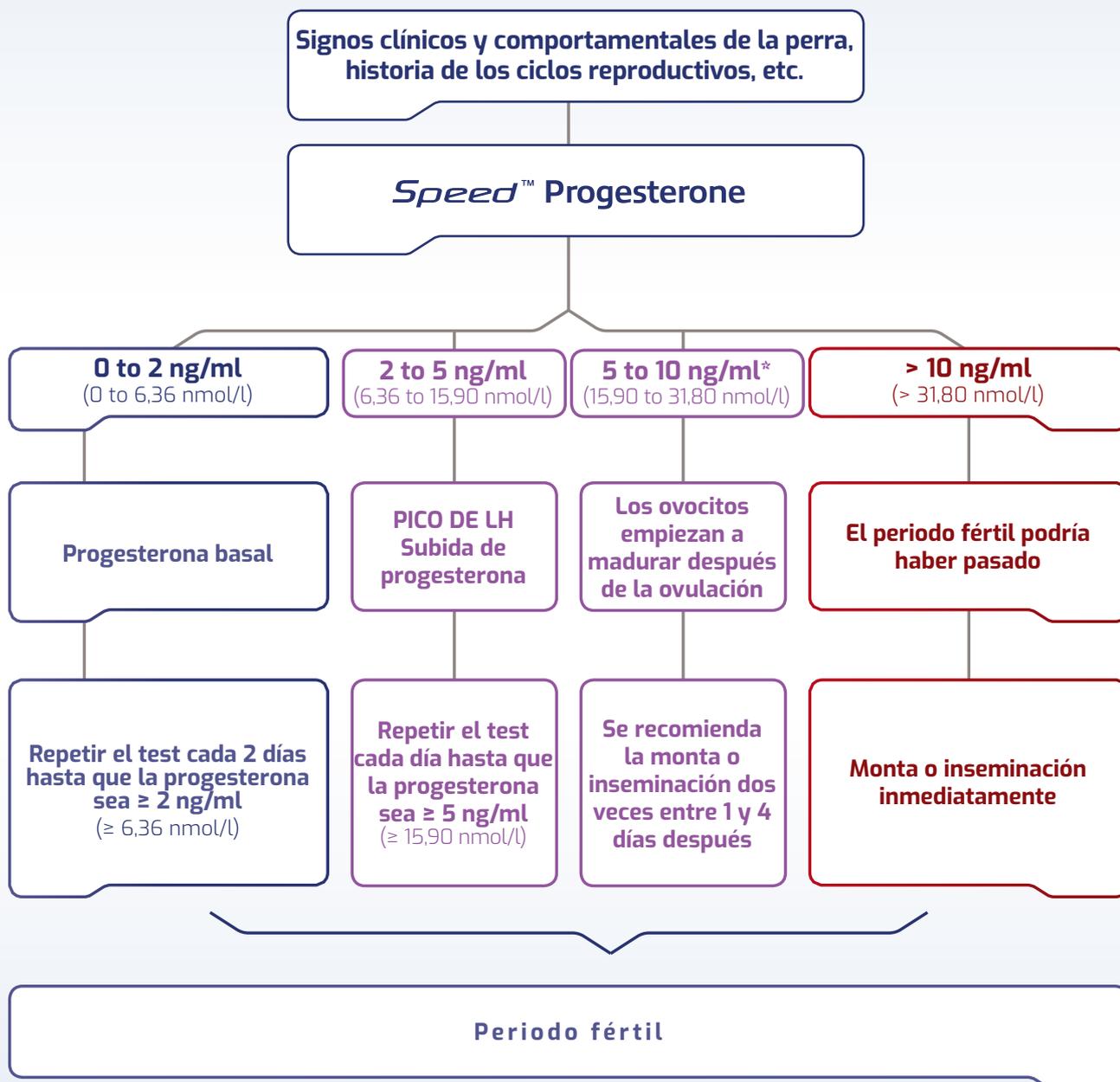
Intervalos de Referencia para la Ovulación		
	Speed™ Progesterone	Elecsys®
Valores Medios (ng/ml)	6,45 ± 1,48	7,58 ± 1,48
Intervalo de confianza 99% (99% IC)	Entre 5,53 y 7,37	Entre 6,36 y 8,80
Correlación	$R^2 = 0,9015$	

El estudio demostró que Speed™ Progesterone es un método fiable para identificar la ovulación y predecir el momento para la cría en perras.

Fuente: Cindy Maenhoudt et al., Progesterone in the reproduction of the bitch: comparative results and interpretation of Speed Progesterone™ and electrochemiluminescence immunoassay. En el congreso EVSSAR, Viena 2017.

# Speed™ Progesterone

## Algoritmo



\* Basado en un estudio del seguimiento de la ovulación, todas las perras estaban en curso de una ovulación cuando los valores de Speed™ Progesterone estuvieron entre 5 y 10 ng/ml, y la mayoría de las perras ovularon entre los 5,5 y 7,5 ng/ml. Fuente: Cindy Maenhoudt et al., Progesterone in the reproduction of the bitch: comparative results and interpretation of Speed Progesterone™ and electrochemiluminescence immunoassay. En el congreso EVSSAR, Viena 2017.

Estas recomendaciones son solo una guía. La interpretación por parte del veterinario debería tener siempre en cuenta la historia, exploración clínica y cualquier otra prueba de diagnóstico adicional o factores que pudieran afectar los resultados.



# Notas



A large section of the page consisting of numerous horizontal lines, intended for taking notes. The lines are evenly spaced and extend across the width of the page.



Construyendo el futuro  
de la salud animal

