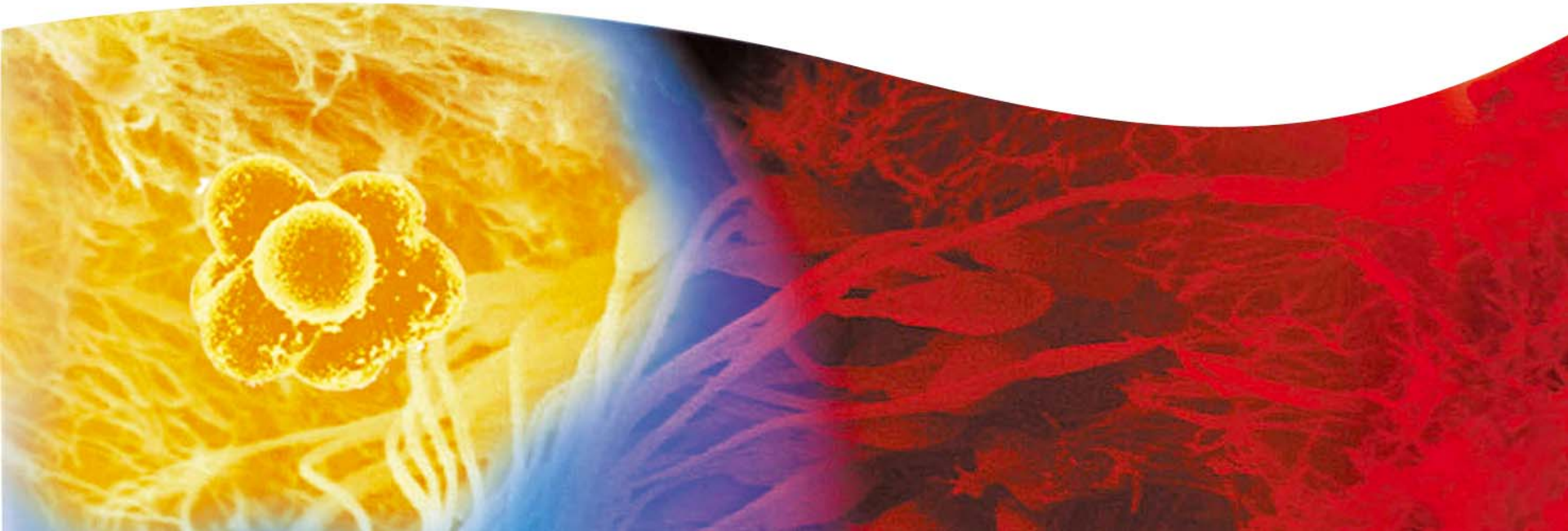
3. AGRH e.V. - Tagung

Progesteronmeßgerät
eProCheck

Monika Esch



eProCheck

Rind und Hund

Ketose → **Milch**

Progesteron (P4) → **Milch** → **1 Standard – Balkendiagramm**

Progesteron (P4) → **Serum** → **2 Standards - Nanogramm**

Our knowledge - Your success

eProCheck

Progesteronbestimmung

Serum

Ref. 21800/0500 eProCheck™ 800, automatisches Testgerät, ELISA
bestehend aus:

- ✓ Reagenzienblock
- ✓ Probenträger
- ✓ Waschblock
- ✓ Waschflüssigkeit
- ✓ Software
- ✓ 2 Standards

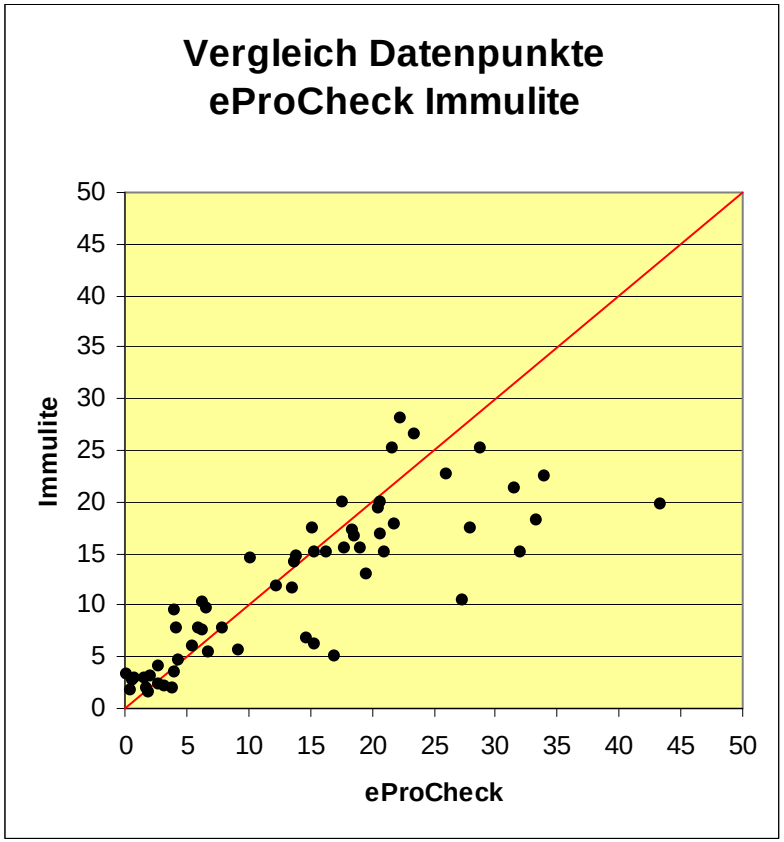
Progesteron Serum, 2 Standards – Anzeige Nanogramm:

Ref. 21800/0510 Progesteron Testkit canines Serum, 72 Tests max.

Our knowledge - Your success

Entwicklungsgeschichte

Ende 2008



Erste Erkenntnisse:

Ein Großteil der Proben zeigte durchwegs gute Übereinstimmung mit dem Immulite. Einige Ausreißer vorhanden.

Muss evtl. verdünnt werden?

Our knowledge - Your success

Entwicklungsgeschichte

Februar bis Oktober 2009

- Prinzipiell wird das Gerät positiv bewertet

- Vorgeschichte der Hunde wird in die Auswertung einbezogen – Verdacht der Vorbehandlung (Antibiose) der Tiere und dadurch Ergebnisverfälschung

  erste Erkenntnis: Alle Ausreißer der Seren bezogen sich auf Seren von Hündinnen, die wegen Entzündungen mit Antibiotika behandelt wurden

  weiteres Ergebnis: Auftauchen von hohen Werten auch bei nicht AB-behandelten Tieren!

Our knowledge - Your success

Aktueller Stand der Entwicklung

Der Durchbruch

- Über eine Fällungsreaktion können die zu hohen Messwerte bei den problematischen Hündinnen vermieden werden

- Die Fällungsreaktion bedingt die Zugabe eines Substrates und anschließende Zentrifugation

Our knowledge - Your success

Interpretation

- **1. Nicht-trächtige Hündin:**
- 2-3 ng/ml = man befindet sich 2-3 Tage vor der Ovulation
- 8-10 ng/ml = Zeitpunkt der Ovulation -> erste Besamung, Wiederholung nach 2 Tagen
- > 15 ng/ml = Hündin hat bereits ovuliert (postovulatorischer Östrus) -> Besamung
- Wenn Werte zwischen 3 und 8 ng/ml gemessen werden, sollte man noch 2-3 Tage warten

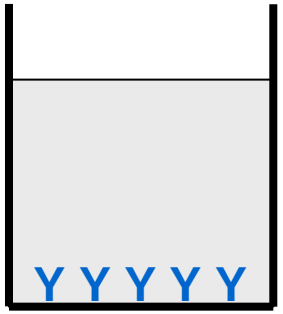
- **2. Trächtige Hündin:**
- > 15 ng/ml vor dem 30. Tag
- > 10 ng/ml bis ca. 10 Tage vor der Geburt
- 2-3 ng/ml = innerhalb von 48 Stunden sollte die Geburt erfolgen
- < 1 ng/ml = Geburt beginnt, wenn keine Geburtsanzeichen -> Tierarzt konsultieren, evtl. Kaiserschnitt

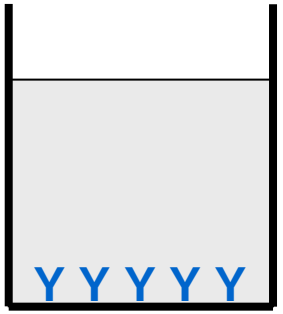
mini tüb
Our knowledge - Your success

Kalibrierung der Kurve

- Kein Kalibrator, sondern zwei Standards

Our knowledge - Your success

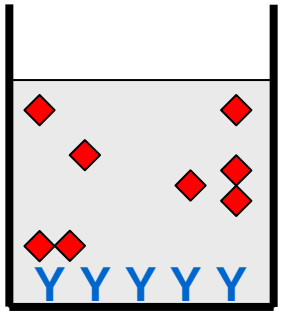




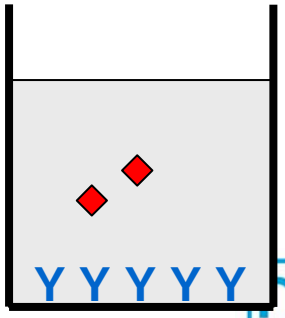
Die weißen Reaktionsgefäße sind mit einem polyklonalem Antikörper gegen Progesteron vorbeschichtet

1. Zugabe der Probe

Probe mit hohem Gehalt an Progesteron (◆)



Probe mit geringem Gehalt an Progesteron

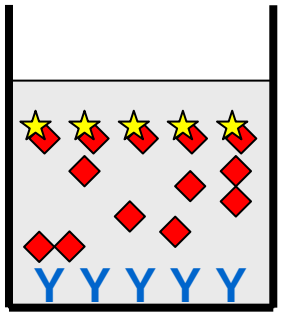


mini tüb
Our knowledge - Your success

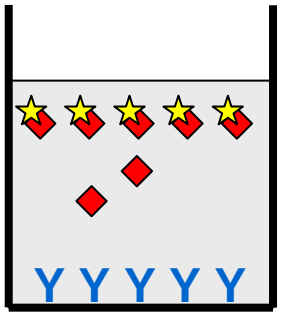
1. Zugabe der Probe

2. **Automatisierte Zugabe von Konjugat**

Probe mit hohem Gehalt an Progesteron (◆)



Probe mit geringem Gehalt an Progesteron



Eine definierte Menge an enzymmarkiertem Progesteron (=Konjugat) wird vom eProCheck zugegeben

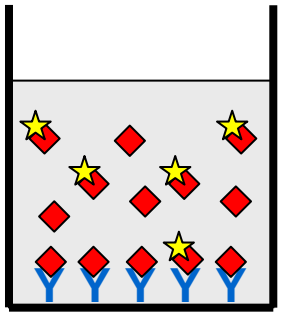
Our knowledge - Your success

1. Zugabe der Probe

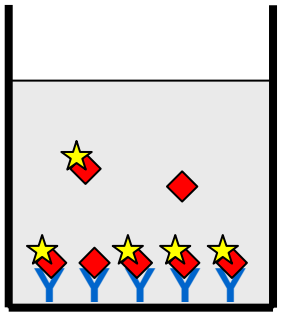
2. Automatisierte Zugabe von Konjugat

3. Inkubation

Probe mit hohem Gehalt an Progesteron (◆)



Probe mit geringem Gehalt an Progesteron



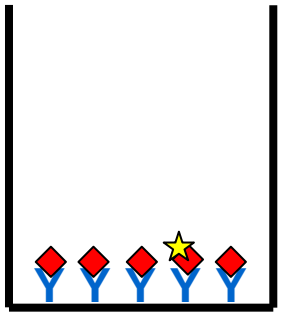
Während der Inkubation konkurrieren das Progesteron aus der Probe mit dem hinzugegebenen Progesteronkonjugat um die freien Bindungsstellen am Antikörper.

Bei hohem Progesterongehalt bindet fast ausschließlich das Progesteron aus der Probe an den Antikörper, bei wenig Progesteron kann mehr Enzymmarkiertes Progesteron binden.

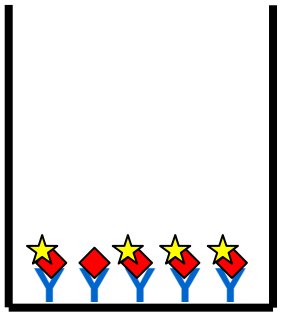
Our knowledge - Your success

1. Zugabe der Probe
2. Automatisierte Zugabe von Konjugat
3. Inkubation
4. **Waschen**

Probe mit hohem Gehalt an Progesteron (◆)



Probe mit geringem Gehalt an Progesteron



Durch den Waschschritt wird das Reaktionsgefäß geleert. Lediglich an Antikörper gebundenes Progesteron bzw. Progesteron-Konjugat verbleibt im Gefäß.

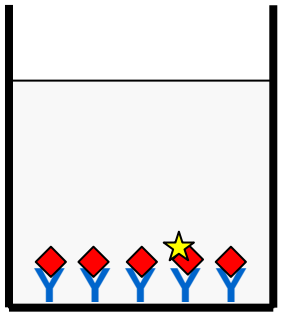
Progesteron ◆

Progesteron-Konjugat ◆

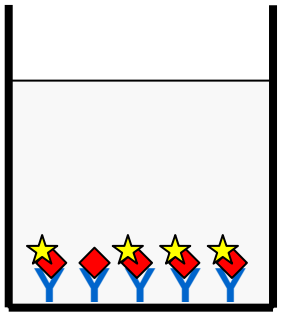
Our knowledge - Your success

1. Zugabe der Probe
2. Automatisierte Zugabe von Konjugat
3. Inkubation
4. Waschen
5. **Zugabe von Enzymsubstrat**

Probe mit hohem Gehalt an Progesteron (◆)



Probe mit geringem Gehalt an Progesteron



Eine Substratlösung wird automatisch in das Reaktionsgefäß gegeben, welche durch Enzym zersetzt wird. Dabei bildet sich ein blauer Farbstoff.

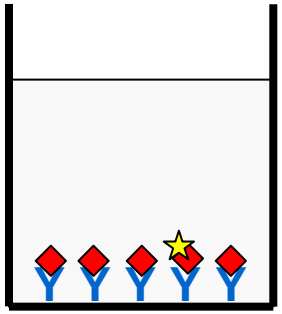
Progesteron ◆

Progesteron-Konjugat ◆

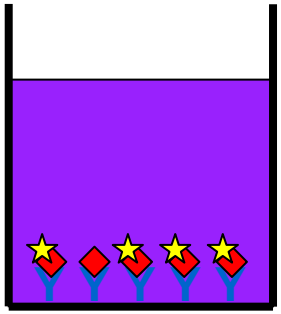
Our knowledge - Your success

1. Zugabe der Probe
2. Automatisierte Zugabe von Konjugat
3. Inkubation
4. Waschen
5. Zugabe von Enzymsubstrat
6. **Inkubation**

Probe mit hohem Gehalt an Progesteron (◆)



Probe mit geringem Gehalt an Progesteron



Je mehr Enzym im Gefäß enthalten ist, desto intensiver ist die Färbung;
also
Färbung umgekehrt proportional zur Menge des Progesterons

Ermittlung des Progesterongehalt in der Probe indem er den erhaltenen „Blauwert“ der Probe mit dem „Blauwert“ des Standards verrechnet wird

Progesteron ◆

Progesteron-Konjugat ◆

Our knowledge - Your success

Minitüb Headquarter, Germany

Our knowledge - Your success

Minitüb Headquarter, Germany

Our knowledge - Your success

Vielen Dank !!

Our knowledge - Your success