

# BRUCELLA OPS iELISA Cattle

*Brucella abortus* KIT DE PRUEBA DE ANTICUERPOS, OPS iELISA Bovino

El *Brucella abortus* ANTIBODY TEST KIT, OPS iELISA Bovino es una prueba semicuantitativa que utiliza tecnología ELISA indirecta. La prueba determina la presencia y el título de anticuerpos contra el polisacárido de la cadena O (polisacárido-O u OPS) de *Brucella abortus* en muestras de suero bovino individuales o agrupadas, muestras individuales de plasma y leche individual o en tanque. La presencia de anticuerpos contra OPS indica una infección reciente o actual con Biovares lisos de *Brucella*. El antígeno de *Brucella abortus* es similar a los antígenos de *Brucella suis* y *neotomae*. *Brucella melitensis* y *Brucella abortus* comparten suficientes epítomos OPS para permitir una alta sensibilidad y especificidad cuando *B. melitensis* es el biovar infeccioso.

Siga las pautas de su país para determinar cuántas muestras de leche en tanque se pueden analizar. Las muestras de suero se pueden analizar en grupos de cinco muestras (Directiva 64/432/CEE del Consejo de la UE).

La prueba diagnóstica utiliza placas de microtitulación que contienen pocillos recubiertos con fragmentos de OPS de varias longitudes extraídos de la bacteria *Brucella abortus*. Cualquier anticuerpo OPS anti-*Brucella abortus* presente en la muestra se unirá al OPS recubierto en la placa. Después de una etapa de lavado posterior, los anticuerpos secundarios conjugados con HRP (conjugado) se unirán a cualquier anticuerpo inmovilizado en los pozos. Después de otro paso de lavado, cualquier conjugado unido se detecta utilizando un sustrato TMB que produce color en presencia de HRP. Se utiliza un lector de microplacas para medir la densidad óptica del color producido. La cantidad de color generado es proporcional a la cantidad de anticuerpos anti-*Brucella* OPS específicos en el suero animal o la muestra de leche.

# Contenido del kit

Reactivos	Kit de 2 placas	Kit de 5 placas
<p><b>Control positivo</b></p> <p>Listo para usar; suero bovino positivo contra <i>Brucella abortus</i>.            Contiene 0.095% de azida de sodio como conservante.            Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>	0.5 ml	1 ml
<p><b>Control negativo</b></p> <p>Listo para usar; suero bovino positivo contra <i>Brucella spp.</i>            Contiene 0.095% de azida de sodio como conservante.            Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>	0.5 ml	1 ml
<p><b>Diluyente de muestra</b></p> <p>Listo para usar; fórmula patentada que contiene suero animal.            Sample Diluent contiene 0.1% ProClin 300 como conservante. Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>	60 ml	120 ml
<p><b>Conjugado 100X</b></p> <p>Una formulación patentada que contiene anticuerpos animales purificados            Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>	0.5 ml	1 ml
<p><b>Sustrato</b></p> <p>Ready-to-use; TMB-buffered solution.            Hazard Code: Not classified according to EU regulations.</p>	30 ml	70 ml
<p><b>Buffer de lavado 10X</b></p> <p>Listo para usar; Solución con TMB tamponada.            Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>	100 ml	2 x 100 ml
<p><b>Diluyente de conjugado</b></p> <p>Una formulación patentada que contiene albúmina sérica animal.            Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>	30 ml	70 ml
<p><b>Placa recubierta Brucella OPS</b></p> <p>Microplacas recubiertas de OPS de <i>Brucella abortus</i>.            Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>	2 placas	5 placas
<p><b>Solución de parada</b></p> <p>Listo para usar; solución ácida de baja concentración.            Código de peligro: <b>R35</b> - Causa quemaduras graves; <b>S26</b> - En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con abundante agua y busque consejo médico. <b>S36/37/39</b> - Use ropa protectora adecuada,</p>	30 ml	70 ml

---

guantes y protección para los ojos/ cara; **S45** - En caso de accidente o si se siente mal, busque consejo médico de inmediato (muestre la etiqueta en el vial).

---

## Materiales requeridos, pero no proporcionados

---

- Micropipetas y puntas de dosificación simple y múltiple de precisión para volúmenes entre 10 y 1000  $\mu\text{l}$  (*por ejemplo*, pipetas individuales de 10-100 y 100-1000  $\mu\text{l}$  y pipetas multicanal de 5-50 y 50-300  $\mu\text{l}$ )
- Tubos de ensayo o placa(s) de transferencia no recubiertas de antígeno para diluir muestras
- Botellas de plástico o vidrio con taparrosca y, vasos de precipitados de laboratorio o matraces Erlenmeyer para hacer Buffer de lavado listos para usar
- Depósitos de reactivos para transferir reactivos a placas
- Lector de microplacas ELISA o espectrofotómetro equipado con un filtro de 450 nm
- Agua desionizada o destilado para formar el Buffer de lavado.
- Sistema de lavado manual o automático de microplacas
- Incubadora capaz de mantener una temperatura de +37°C
- Tapas de cubierta de microplacas o lámina adhesiva para cubrir placas
- Agitador de microplacas y mezclador vortex

Para obtener suministros, comuníquese con nuestro soporte de clientes en [support@ellielab.com](mailto:support@ellielab.com).

## Almacenamiento y estabilidad

---

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

No utilice componentes después de la fecha de caducidad. No mezcle reactivos de diferentes lotes de kits. No exponga la solución de TMB a agentes ligeros u oxidantes fuertes. Manipule la solución de TMB con cristal limpio o plástico.

Se debe tener cuidado para evitar la contaminación de los componentes del kit.

## Advertencias

---

- Todos los reactivos son solo para uso de diagnóstico *in vitro*.
- No pipetear vía oral.
- Evite el contacto con la piel abierta.
- La azida de sodio es una sustancia tóxica y se usa en algunos reactivos. En caso de contacto con los ojos o la piel, enjuague inmediatamente con agua. La azida de sodio puede reaccionar

con el plomo y las tuberías de cobre para formar azidas metálicas explosivas. Al desechar los reactivos, enjuague con un gran volumen de agua para ayudar a prevenir la acumulación de azida.

- La solución de parada contiene ácido diluido. Usar con cuidado y evitar el contacto con la piel y los ojos. Evite la exposición a bases, metales u otros compuestos que puedan reaccionar con los ácidos. Los derrames deben limpiarse de inmediato.

Todos los materiales de este kit deben tratarse de acuerdo con la hoja de datos de seguridad del producto.

## Requisitos de la muestra

---

La prueba de ganado Brucella OPS iELISA de Ellie se puede realizar con muestras de suero, plasma o leche del ganado.

### *Muestra de suero y plasma*

La prueba utiliza sólo 20 µl de muestra por prueba duplicada. Recolectar la cantidad de sangre requerida por el sistema de recolección de sangre.

Recolectar sangre asépticamente en tubos no tratados, tubos separadores de suero o tubos de li-heparina. Permita que la sangre coagule y separe el suero. Centrifugue la sangre recolectada con tubos de Li-Heparina a un mínimo de 4500 RPM durante 5 minutos y separe el plasma. Evite el uso de muestras muy hemolizadas o contaminadas. Almacene las muestras a 2-8°C. Congelar muestras a -20°C si no se analizan dentro de las 72 horas; evitar repetir la congelación.

### *Muestras de leche*

La prueba utiliza sólo 100 µl de leche por prueba duplicada. No use muestras de calostro o leche hasta 20 días después del parto para analizar muestras de leche individuales debido a reacciones inespecíficas. Las muestras de leche individuales deben ser recolectadas antes del proceso de ordeño. Recolecte muestras de leche del cuarto sano de la ubre tirando los primeros 5-10 chorros de leche y luego recoja la muestra.

Las muestras de leche deben transportarse en una caja refrigerada a una temperatura entre 0 y 15°C. Para el almacenamiento a corto plazo hasta 3 días, mantenga las muestras de leche a 2-8 ° C. Para el almacenamiento a largo plazo, mantenga las muestras de leche a -20 ° C.

# Pasos preliminares

---

## *Preparación de reactivos*

Todos los reactivos del kit deben equilibrarse a temperatura ambiente (20-25 ° C) antes de su uso, excepto para el Conjugado 100X. El tiempo mínimo necesario para hacer esto es de 2 horas. Es muy importante calentar el diluyente de muestra y el Buffer de lavado a temperatura ambiente antes de su uso.

Retire la placa recubierta de antígeno de la bolsa de aluminio. Si usa placas parciales, solo retire el número de pozos necesarios para analizar todas las muestras. Coloque los pozos restantes de nuevo en la bolsa y devuélvalos a 2-8 ° C.

## *Preparación del Buffer de lavado*

Prepare Buffer de lavado listo para usar, mezclando una parte de Buffer de lavado 10X con 9 partes de agua destilada o desionizada. Es muy importante equilibrar el Buffer de lavado a temperatura ambiente antes de su uso. Mezclar bien. La cantidad de Buffer de lavado necesaria para lavar una placa es de 300 ml. Guarde el Buffer de lavado a temperatura ambiente hasta un mes.

## *Preparación conjugado*

Diluir el conjugado concentrado 100X, 1:100 con diluyente conjugado combinando una parte de conjugado 100X con 99 partes el Diluyente conjugado (*por ejemplo*, la cantidad necesaria para una placa es 110 µl de conjugado concentrado más 10,89 ml de diluyente conjugado). Devuelva el conjugado 100X a 2-8 °C después de su uso. Proteja de la luz la dilución preparada. ¡La dilución de conjugado debe usarse el mismo día en que se prepara!

## *Preparación de Muestras y Controles*

### **Mezcle bien las muestras antes de la prueba.**

Prepare muestras de suero agrupadas mezclando cantidades iguales de un máximo de 5 muestras de suero individuales para cada muestra de suero agrupada.

**Controles prediluidos** muestras individuales de suero/plasma o suero agrupado 1:10 en el diluyente de muestra (*por ejemplo*, 10 µl de controles o muestras en 90 µl de diluyente de muestra). Utilice placas de transferencia o microtubos. Mezclar bien antes de seguir procesando. Para microplacas, use un agitador de placas; para los tubos, use un mezclador de vortex, si está disponible.

Las muestras de leche individuales y en tanque se analizan sin diluir.

# Procedimiento de la prueba

---

1. Cargue muestras en una placa recubierta Brucella OPS.

*Controles y muestras de suero:*

Pipeteé 90 µl de diluyente de muestra en todos los pozos de prueba brucella OPS de placa recubierta. Agregue inmediatamente 10 µl de muestras y controles prediluidos en sus respectivos pozos. Controles de pipeta por duplicado para cada placa.

*Muestras de leche individuales y en tanque:*

Pipeteé 50 µl del diluyente de muestra en todos los pozos de prueba de placa recubierta Brucella OPS. Añadir 50 µl de cada muestra de leche individual o en tanque sin diluir.

**NOTAS:**

- Mezcle bien cada muestra de leche antes del procesamiento.
- Si hay un gran número de muestras de leche a analizar, transfiera primero las muestras a una placa de transferencia y luego transfiera 50 µl de cada muestra a un pozo correspondiente, en la placa recubierta Brucella OPS. Utilice una pipeta multicanal para pipetear las muestras de leche en los pozos de placa recubierta OPS de Brucella
- Mezcle las muestras en una placa de transferencia pipeteandolas con pipeta multicanal 1-3 veces e inmediatamente pipeteé la cantidad adecuada en los pozos de prueba.

2. Mezcle bien la placa de prueba antes de continuar con el procedimiento. Use un agitador de placas si está disponible.
3. Cubra la placa e incube durante 60 minutos a 36-38 °C.

***Nota: Para una mayor sensibilidad al analizar muestras de leche individuales y en tanque, cubra la placa e incube durante 14-28 horas (durante la noche) a 2-8 ° C.***

4. Lavar la placa:

- Deseche el contenido de la placa.
- Lave cuatro veces con 300 ± 20 µl de Buffer de lavado.
- Golpee la placa firmemente sobre papel absorbente después del último paso de lavado.

5. Dispensar 100 µl de Conjugado en cada pozo.

6. Cubra la placa e incube durante 60 minutos a 36-38 °C.

7. Lavar la placa:

- Deseche el contenido de la placa.
- Lavar cuatro veces con 300 ± 20 µl de Buffer de Lavado.
- Golpee la placa firmemente sobre papel absorbente después del último paso de lavado.

8. Dispensar 100 µl de Sustrato en cada pozo.

9. Incubar durante 15 ± 3 minutos en la temperatura del laboratorio.

10. Dispensar 100 µl de Solución de parada en cada pozo.

11. Lea los resultados a 450 nm en un lector de microplacas.

## Validación de pruebas

---

The mean OD of the Negative Controls must read less than 0.200 OD.

The mean OD of the Positive Controls must read over 0.800 OD.

Si no cumplen los criterios de validación, los resultados de la prueba no son válidos y las muestras deben volver a analizarse.

## Resultados e interpretación

---

### *Cálculo de la relación muestra/positivo*

$$\text{Relación S/P} = \frac{\text{Muestra de DO} - \text{DO NC}}{\text{DO CP} - \text{DO CP}}$$

donde:

DO Muestra = Valor DO de una muestra

DO CN = Valor medio de DO del control negativo

DO CP = Valor medio de DO del control positivo

### *Interpretación*

Los resultados se indican en las siguientes tablas:

#### **Muestras individuales de suero, plasma y leche en tanque**

<b>Negativo</b>	<b>Positivo</b>
< 20	≥ 20

#### **Muestras individuales de leche**

<b>Negativo</b>	<b>Positivo</b>
< 30	≥ 30

### Muestras de suero agrupadas

Negativo	Positivo
$\leq 7$	$> 7$

En este punto de corte, se espera una tasa de falsos positivos inferior al 0,5%. Para campañas más agresivas, se recomienda un límite más bajo con una tasa esperada de falsos positivos de menos del 1%. Llámenos si tiene una consulta.

*ellie*

N114 W19320 Clinton Dr., Unit 5  
Germantown, WI 53022, United States of America  
Phone: +1 (800) 556-6953  
[support@ellielab.com](mailto:support@ellielab.com)