

BRUCELLA FPA

KIT DE PRUEBA DE ANTICUERPOS *Brucella abortus*, FPA

El *Brucella abortus* ANTIBODY TEST KIT, FPA es una prueba semicuantitativa que utiliza la tecnología de fluorescencia polarizada para determinar la presencia de anticuerpos en muestras de suero, plasma o leche contra especies de *Brucella* que producen colonias lisas (*B. melitensis*, *B. abortus*, y *B. suis*- Rev. Sci. Tech., OIE 1982). La presencia de anticuerpos indica una infección actual o reciente por *Brucella*.

El *Brucella* FPA ha sido validado para analizar muestras en bovinos (bisontes, búfalos y cérvidos). El kit puede analizar muestras de suero y plasma. Con la adición de ClearMilk™ Buffer, es adecuado para procesar muestras de leche individuales. Contáctanos para más detalles.

La prueba diagnóstica utiliza un polisacárido-O (OPS) extraído de la bacteria *Brucella abortus* y conjugado con fluoresceína. Un instrumento de polarización por fluorescencia mide el estado de polarización de la luz emitida por el conjugado OPS (Trazador). Cuando no hay anticuerpos presentes, la polarización es baja. La polarización aumenta cuando los anticuerpos se unen al Trazador.

Contenido del kit

Reactivos	250 pruebas	1000 pruebas
Control positivo	1 ml	1 ml
<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>		
Control negativo	2 ml	2 ml
<p>Listo-para-usar; suero negativo bovino 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>		
Diluyente de muestra 25X	50 ml	50 ml
<p>Fórmula patentada; El diluyente de muestra es una mezcla de sustancias no peligrosas disueltas en agua ultrapura. Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>		
Trazador	2.5 ml	10 ml
<p>Listo-para-usar; fórmula patentada que contiene polisacárido-O (OPS) extraído de la bacteria <i>Brucella abortus</i> marcada con fluoresceína. Contiene 0.095% de azida de sodio como conservante. Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>		

Materiales requeridos, pero no proporcionados

- Un instrumento de FP
- Tubos de ensayo de vidrio de borosilicato de 10 x 75 o 72 x 75 mm para instrumentos de tubo
- Sentry Microplate Strips para lectores de tiras
- Placas de micro titulación negras para instrumento de microplaca
- Micropipetas individuales de precisión y puntas para volúmenes entre 10 y 1000 µl
- Botellas de plástico o vidrio con taparrosca y vasos de precipitados de laboratorio o matraces Erlenmeyer para preparar diluyente de muestra para usar
- Destilador o agua desionizada
- Tampón de TM ClearMilk para analizar muestras de leche (Cat# C1001)

Para suministros, póngase en contacto con nuestro servicio de atención al cliente en support@ellielab.com.

Almacenamiento y estabilidad

El kit debe almacenarse de 2-8°C. El diluyente de muestra 25X se puede almacenar a temperatura ambiente.

Durante el uso, evite exponer el control negativo a temperaturas superiores a la temperatura ambiente (hasta 25 °C).

El kit se transporta en una caja refrigerada a temperaturas entre 0 y 15°C.

Advertencias

- Todos los reactivos son solo para uso de diagnóstico in *vitro*.
- No pipetear por vía oral.
- Evite el contacto con la piel abierta.
- Evite el pipeteo que crea burbujas.
- La preparación de polarización se ve afectada por la temperatura; todos los reactivos utilizados en el ensayo deben estar a la misma temperatura que las muestras que se están analizando. Evite las variaciones de temperatura durante las pruebas.
- El azida de sodio es una sustancia tóxica, y se utiliza en algunos reactivos. En caso de contacto con los ojos o la piel, enjuague inmediatamente con abundante agua. El azida de sodio puede reaccionar con el plomo y las tuberías de cobre para formar azida

metálica explosiva. Al desechar los reactivos, enjuague con abundante agua para ayudar a prevenir la acumulación de azida.

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

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 BRUCELLA FPA de Ellie se puede usar con muestras individuales de suero, plasma o leche del ganado.

Muestras de suero y plasma

La prueba utiliza sólo 40 µl de muestra por pruebas duplicadas. 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. Centrifugar la sangre recolectada con tubos de Li-Heparina a un mínimo de 4500 RPM durante 5 minutos y separar el plasma. Evite el uso de muestras muy hemolizadas o contaminadas. Se deben utilizar muestras frescas para las pruebas. Almacene las muestras a 2-8°C durante 7 días o congélelas a -20°C si no se analizan dentro de las 72 horas; evitar la congelación repetida. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba.

Muestras de leche

No pruebe muestras de calostro y leche hasta 20 días después del parto debido a reacciones inespecíficas.

Las muestras de leche deben recogerse antes del proceso de ordeño. Recoger la muestra de leche (10-50 ml) del cuarto de leche sano de la ubre tirando los primeros 5-10 chorros de leche y luego recoger 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.

Clarifique las muestras de leche utilizando ClearMilk™ Buffer de acuerdo con el procedimiento adjunto. Use 20 µl de suero de leche para las pruebas.

Pasos preliminares

Preparar el diluyente de muestra mezclando una parte 25X diluyente de muestra con 24 partes de agua destilada o desionizada.

Asegúrese de que el diluyente de muestra esté libre de partículas. Calentar hasta 37°C para disolver cualquier cristal.

Luego, equilibre a temperatura ambiente antes de usar.

Las muestras deben estar libres de partículas. Centrifugar todas las muestras que contengan cualquier partícula visible. Las muestras hemolizadas son aceptables para las pruebas. Las muestras liofilizadas deben reconstituirse por completo, y las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse por completo.

Procedimiento de prueba

1. Pipetear 20 µl de cada muestra y controles en tubos adecuados para el Sentry Tube, pocillos de tira para el lector Sentry Strip, o pocillos de una placa de micro titulación para el Sentry de microplaca. Realizar controles negativos por triplicado. Evite las burbujas al pipetear en tiras o placas de microtitulación.
NOTA: Cuando realice pruebas con tubos o tiras Sentry, vuelva a probar los controles después de cada 60 muestras o 6 tiras.
2. Pipetear 1 ml del diluyente de muestra en todos los tubos o pipetear 180 µl de diluyente de muestra en todos los pocillos de tira de microtitulación o en la placa de microtitulación. Mezclar con cuidado.
3. Incubar durante 3-30 minutos a temperatura ambiente.
4. Obtenga lecturas en blanco para todas las muestras y controles.
5. Añadir 10 µl de Trazador en todos los tubos/pocillos que contengan controles y muestras. Mezclar con cuidado.

6. Incubar durante 3-5 minutos a temperatura ambiente.
7. Obtener lecturas mP para todas las muestras y controles.

Validación de pruebas

1. El Control Negativo debe leer entre 70 y 95 mP.
2. El Control Positivo debe leer entre 120 and 250 mP.
3. Si el Control Negativo está fuera del rango anterior, ajuste el instrumento para leer el Control Negativo medio a 80 ± 1 mP. Para obtener más instrucciones, consulte el manual del instrumento. Dependiendo del instrumento, esto se puede hacer sin volver a testear las muestras.
4. Si el Control Negativo está ajustado y el Control Positivo está fuera del rango anterior, la prueba se considera inválida. Póngase en contacto con el soporte técnico en support@ellielab.com.

Si no se cumplen los criterios de validación, los resultados de las pruebas no son válidos y las muestras deben volverse a testear.

Resultados e interpretación

Cálculo de los valores de ΔmP

Calcule los valores de ΔmP restando el valor medio de mP de control negativo del valor de mP de la muestra:

$$\Delta mP = (\text{Muestra mP}_- - \text{Promedio mP de Control Negativo})$$

Interpretación:

Para las zonas presuntamente libres de brucelosis sin vacunación o donde se usa la vacuna RB51, aplique los siguientes puntos de corte:

Negativo ≤ 10	Sospechoso 10-20	Positivo >20
------------------------------	----------------------------	------------------------

Para los animales vacunados con vacunas distintas de RB51 (por ejemplo, S19, A19 o similares), aplique los siguientes puntos de corte:

Negativo ≤ 40	Sospechoso 40-60	Positivo >60
------------------------------	----------------------------	------------------------

Los puntos de corte para este grupo, son similares a los cortes de FPA propuestos por O.I.E., publicados en O.I.E. Manual for Diagnostic Tests and Vaccines.

Las muestras positivas y sospechosas deben volver a analizarse por duplicado. Si ambas nuevas pruebas leen igual o menos de 10 Δ mP, la muestra se reporta como negativa. Si alguna de las nuevas pruebas es superior a 10 Δ mP, la muestra se informa como positiva.

Los valores de corte pueden variar de un país a otro dependiendo del diferente uso o estado de vacunación de los animales.

Control de calidad

Tras el primer uso del kit de prueba, registre el Δ mP del Control Positivo. Además, registre el valor mP del control negativo. Esta información debe registrarse y seguirse sistemáticamente. El Δ mP del Control Positivo es una verdadera indicación de la condición del kit de prueba y del instrumento. El mP del Control Negativo es una indicación de la condición de prueba y la condición del Control Negativo.

ellie

N114 W19320 Clinton Dr., Unit 5
Germantown, WI 53022, United States of America

Phone: +1 (800) 556-6953

support@ellielab.com