

BRUCELLA OPS iELISA SWINE

KIT DE PRUEBA DE ANTICUERPOS BRUCELLA PORCINA, OPS iELISA

El KIT DE PRUEBA DE ANTICUERPOS BRUCELLA PORCINA, OPS iELISA es una prueba semicuantitativa que utiliza la tecnología ELISA indirecta. La prueba determina la presencia y el título de anticuerpos contra el polisacárido de cadena O (polisacárido-O u OPS) de *Brucella spp.* en muestras de suero porcino individual. La presencia de anticuerpos contra OPS indica una infección reciente o actual con Biovares lisos de Brucella. El antígeno de *Brucella suis* es similar a los antígenos de *Brucella abortus* y *Brucella neotomae*.

La prueba diagnóstica utiliza placas de microtitulación que contienen pozos recubiertos con fragmentos OPS de varias longitudes, extraídos de la bacteria *Brucella abortus*. Cualquier anticuerpo anti-Brucella OPS presente en la muestra se unirá al OPS recubierto en la placa. Después de un paso 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 la muestra de suero animal.

Contenido del kit

Reactivos	Kit de 2 placas	Kit de 5 placas
Control positivo	0.5 ml	1 ml
<p>Listo para usar; suero bovino positivo contra <i>Brucella suis</i>. Contiene 0.095% de azida de sodio como conservante. Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>		
Control negativo	0.5 ml	1 ml
<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>		
Diluyente de muestra	60 ml	120 ml
<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>		
Conjugado 100X	0.5 ml	1 ml
<p>Una formulación patentada que contiene anticuerpos animales purificados Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>		
Sustrato	30 ml	70 ml
<p>Ready-to-use; TMB-buffered solution. Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>		
Buffer de lavado 10X	100 ml	2 x 100 ml
<p>Listo para usar; Solución con TMB tamponada. Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>		
Diluyente de conjugado	30 ml	70 ml
<p>Una formulación patentada que contiene albúmina sérica animal. Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>		
Placa recubierta Brucella OPS	2 placas	5 placas
<p>Microplacas recubiertas de OPS de <i>Brucella abortus</i>. Código de peligro: No clasificado según la normativa de la UE.</p>		
Solución de parada	30 ml	70 ml
<p>Listo para usar; solución ácida de baja concentración. Código de peligro: R35 - Causa quemaduras graves; S26 - En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con abundante agua y busque consejo médico. S36/37/39 - Use ropa protectora adecuada,</p>		

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 µl (*por ejemplo*, pipetas individuales de 10-100 y 100-1000 µl y pipetas multicanal de 5-50 y 50-300 µl)
- 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 listo para usar.
- Depósitos de reactivos para transferir reactivos en placas
- Lector de microplacas ELISA o espectrofotómetro equipado con un filtro de 450 nm
- Agua desionizada o destilada para preparar 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 vórtex

Para suministros, póngase en contacto con nuestro servicio de atención al cliente en 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 por 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 abundantes cantidades de 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 porcina Brucella OPS iELISA de Ellie se puede realizar con muestras de suero de cerdos.

Muestras de suero

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

Recolectar sangre asépticamente en tubos no tratados o tubos separadores de suero. Permita que la sangre coagule y separe el suero. Evite el uso de sueros muy hemolizados o contaminados. Conservar los sueros a 2-8°C. Congele los sueros a -20 ° C si no se prueban dentro de las 72 horas; evite la congelaciones repetitivas.

Nota: Las muestras de suero porcino almacenadas a 2-8 ° C durante más de 10 días, a -20 ° C durante más de 1 mes. Las muestras congeladas y descongeladas repetidamente no son adecuadas para la prueba debido a que podrían generarse reacciones no específicas.

Pasos preliminares

Preparación de reactivos

Todos los reactivos del kit deben equilibrarse a temperatura ambiente (20-25 ° C) antes de su uso, excepto 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 el Buffer de lavado listo para usar mezclando una parte del 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 del conjugado

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

Preparación de Muestras y Controles

Mezcle bien las muestras antes de la prueba.

Prediluir controles y muestras 1:10 en 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 vórtex, si está disponible.

Procedimiento de prueba

1. Cargue controles y muestras prediluidos en una placa recubierta con OPS de Brucella.
 - Pipeteé 90 µl de diluyente de muestra en todos los pozos de prueba de placa recubierta de OPS de Brucella. Agregue inmediatamente 10 µl de controles y muestras prediluidos en sus respectivos pozos. Controles de pipeta por duplicado para cada placa.
2. Mezcle bien la placa de prueba antes de continuar con el procesamiento. Use un agitador de placas si está disponible.
3. Cubra la placa e incube durante 30 minutos a 36-38°C.
4. 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.
5. Dispensar 100 µl de Conjugado en cada pozo.
6. Cubra la placa e incube durante 30 minutos a 36-38°C.
7. Lavar la placa:
 - Deseche el contenido de la placa.

- Lavar cuatro veces con $300 \pm 20 \mu\text{l}$ de Buffer de Lavado.
 - Golpee la placa firmemente sobre papel absorbente después del último paso de lavado.
8. Dispensar $100 \mu\text{l}$ de sustrato en cada pozo.
 9. Incubar durante 15 ± 3 minutos en la temperatura de la habitación.
 10. Dispensar $100 \mu\text{l}$ de Solución de Parada en cada pozo.
 11. Lea los resultados a 450 nm en un lector de microplacas.

Validación de pruebas

- La DO media de los controles negativos debe ser inferior a 0.200 DO.
- La DO media de los controles positivos debe ser superior a 0.800 DO.

Si no se 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 (S/P)

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

donde:

Muestra DO = 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 de acuerdo con la siguiente tabla:

Muestras de suero individuales	
Negativo	Positivo
< 20	≥ 20

ellie

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