

TB ★ FPA**KIT DE PRUEBA DE ANTICUERPOS MYCOBACTERIUM BOVIS, FPA**

El MYCOBACTERIUM BOVIS ANTIBODY TEST KIT, FPA es una prueba cualitativa que utiliza la tecnología de fluorescencia polarizada para determinar la presencia de anticuerpos contra *Mycobacterium bovis* en el suero bovino. La presencia de anticuerpos indica infección previa por *Mycobacterium bovis*.

La prueba diagnóstica utiliza un péptido marcado con fluoresceína con la misma secuencia de aminoácidos que una región del epítipo de la proteína MPB70 de la bacteria *Mycobacterium bovis*. La secuencia se conserva en todo el complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Se utiliza un instrumento de polarización por fluorescencia para medir el estado de polarización de la luz emitida por el péptido conjugado.

La polarización es baja cuando no hay anticuerpos presentes. La polarización aumenta cuando los anticuerpos se unen al conjugado.

Contenido del kit

Reactivos	250 pruebas	1000 pruebas
Control positivo	1.5 ml	4.5 ml
<p>Listo para usar; suero bovino positivo contra <i>Mycobacterium bovis</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	2 x 50 ml
<p>Fórmula patentada: 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; una fórmula patentada que contiene péptidos conjugados 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 microplaca FP
- Placa de ensayo 24 pozos de fondo sólido, negro, Código de producto: PLATES24
- Micropipetas individuales de precisión y puntas para volúmenes entre 10 y 1000 µl (por ejemplo, pipetas individuales 10-100 y 100-1000 µl)
- Agua desionizada, destilada o purificada por ósmosis inversa para preparar el diluyente de muestra
- Botellas de plástico o vidrio con taparrosca y vasos de precipitados de laboratorio o matraces Erlenmeyer para hacer diluyente de muestra listo para usar

Para obtener 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 Diluyente de Muestra 25X se puede almacenar a temperatura ambiente. Durante el uso, evite exponer los componentes del kit a temperaturas superiores a la temperatura ambiente (hasta 25°C). El kit se transporta en una caja refrigerada a una temperatura entre 0-15 °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.
- Las lecturas de polarización se ven afectadas por la temperatura, todos los reactivos utilizados en el test deben estar a la misma temperatura que las muestras que se están probando. Evite las variaciones de temperatura durante las pruebas.
- La azida de sodio es una sustancia tóxica y se usa en algunos reactivos. En caso de contacto con los ojos y la piel, enjuague inmediatamente con abundante 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 cantidad de 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 de TB FPA de Ellie se puede usar con muestras de suero de ganado.

La prueba utiliza 200 µl de suero para pruebas duplicadas. Recolecte la cantidad de sangre requerida por el sistema de recolección de sangre, pero no menos de 2 ml.

Recolectar sangre asépticamente en tubos no tratados o tubos separadores de suero. Permita que la sangre se coagule y separe el suero. Evite el uso de sueros muy hemolizados o contaminados. Se deben usar sueros frescos para las pruebas. Conservar los sueros a 2-8 °C durante 7 días o congelar a -20 °C durante 4 meses; evite la congelación repetida. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba.

Pasos preliminares

Prepare el diluyente de muestra mezclando una parte del diluyente de muestra 25X 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 para su uso.

Las muestras deben estar libres de partículas. Centrifugar todas las muestras que contengan partículas visibles. 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. Use los pozos A1, B1 y C1 para el control negativo y D1 para el control positivo. Ejecute el control negativo por triplicado.
2. Pipetear 100 µl del Control Positivo y cada muestra en sus pozos apropiados.
3. Pipetear 1000 µl de diluyente de muestra en los pozos negativos de control (A1 -C1).
4. Pipetear 900 µl de diluyente de muestra en pozos que contengan el control positivo y muestras. Mezclar con cuidado.
5. Incubar durante 1 a 60 minutos a temperatura ambiente.
6. Obtenga lecturas en blanco de todas las muestras y controles.

7. Añadir 10 µl de trazador en todos los pozos que contengan controles y muestras. Mezclar con cuidado.
8. Cubra la placa con lamina adhesiva para protegerla de la luz e incube durante 5 a 60 minutos a temperatura ambiente.
9. Obtenga lecturas de mP para todas las muestras y controles.

Validación de pruebas

1. El Control Negativo debe leer entre 70 y 90 mP.
2. El Control Positivo debe leer entre 120 y 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 probar las muestras.
4. Si se ajusta el control negativo 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 la prueba no son válidos y las muestras deben volver a analizarse.

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:

$$\Delta mP = (mP \text{ Muestra} - mP \text{ Promedio de control negativo})$$

Interpretación

La interpretación de los resultados de un ensayo de anticuerpos para la tuberculosis debe basarse en una combinación de la información epidemiológica del animal y el rebaño con el nivel de anticuerpos detectado. Clasificar a un animal como positivo también depende de la

definición de "positivo". Por ejemplo, un animal positivo se puede definir como cualquier animal que es positivo de acuerdo con el cultivo de tejidos o PCR o cualquier animal con lesiones encontradas en el sacrificio. El límite será diferente en función de la definición seleccionada. Para ser equivalente a los animales que dan positivo con cultivo de tejidos, el límite de TB FPA es 15. Para ser equivalente a los animales encontrados con lesiones, el punto de corte es 30. La siguiente tabla se basa en las lesiones como definición de un animal positivo:

Negativo	Sospechoso	Positivo
<15	15-30	>30

Resultados negativos de ΔmP

Es común que una muestra tenga un valor de mP más bajo que el CN promedio, lo que resulta en un ΔmP negativo. Los valores negativos de ΔmP son causados por una alta concentración de moléculas fluorescentes en esa muestra en particular. Esto podría ser un indicador de degradación de la muestra o fluorescencia naturalmente alta en la muestra. Si el resultado de ΔmP es muy bajo (por ejemplo, menos de -15) considere la posibilidad de obtener una nueva muestra.

Control de Calidad

Al primer uso del kit de prueba, registre el Delta mP del Control Positivo. Esta información debe ser sistemáticamente registrada y seguida. El Delta mP del Control Positivo es una verdadera indicación del estado del kit de prueba, así como del instrumento.

ellie

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