

INTERPRETACIÓN

Cálculo de la relación

- Para el control, calcule la media de los OD obtenidos en la placa recubierta con *L. Pomona*.
- Calcule la RELACIÓN dividiendo la OD de cada muestra por la OD media del control positivo.

Ejemplo:

$$\frac{\text{OD de muestra}}{\text{OD media control positivo}} = \text{RELACIÓN}$$

Validez del ensayo

Se deben cumplir los siguientes criterios para validar la prueba:

- La DO450 media del control negativo debe ser $< 0,25$.
- La DO450 media del control positivo debe ser $> 0,75$.

Interpretación del ensayo

- Un cociente de muestra $< 0,20$ se considera negativa.
- Un cociente de muestra $\geq 0,20 < 0,30$ se considera sospechoso. Una segunda muestra de suero se puede recoger 2 semanas más tarde y volver a analizar.
- Un cociente de muestra $\geq 0,30$ se considera positiva.

MANTENER FUERA DEL ALCANCE DE LOS NIÑOS

TELEFONO CENTRO NACIONAL DE INTOXICACIONES: 0800 333 0160 - (11) 4654-6648 / 7777

IMPORTADOR
Av. Rivadavia 1367 • Piso 16 • (C1033AAD)
C.A.B.A. • ARGENTINA
Tel. (011) 3221 2569 • Fax: (011) 3221 2100 Int. 2569
info@immunology.com.ar

IMMUNOLOGY
REACTIVOS PARA DIAGNÓSTICO E INVESTIGACIÓN VETERINARIA

Biovet

2017-07-24

Leptospira pomona Antibody Test Kit, ELISA Bovichek® Lepto P

Código:
Artículo:
Certificado

Este es un ensayo inmunoenzimático para la detección de anticuerpos contra *Leptospira pomona* en suero bovino.

Leptospirosis es una enfermedad zoonótica mundial de los animales domésticos y silvestres. Es causada por una bacteria espiroqueta clasificada bajo el género *Leptospira*. La taxonomía del género es compleja, involucra una serie de especies y serovares. En el ganado, la leptospirosis se debe principalmente a *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo (*L. hardjo*) y *Leptospira interrogans* serovar pomona (*L. pomona*). Ambos serovares pueden afectar al ganado de todas las edades, pero los signos clínicos varían mucho según el serovar y la edad de los animales.

L. pomona puede causar infecciones agudas, especialmente en los terneros. Los terneros pueden mostrar fiebre alta, anorexia, disnea, anemia hemolítica, hemoglobinuria, ictericia y alta mortalidad. Además, este serotipo puede causar un aborto que generalmente ocurre al final de la preñez. También se producen natimortos y nacimientos prematuros o terneros débiles infectados.

El diagnóstico de leptospirosis, especialmente en el ganado adulto, puede ser difícil. Se puede utilizar cultivo en medios especiales, PCR, técnicas de inmunohistoquímica y serología. Los títulos de anticuerpos pueden alcanzar su punto máximo antes del aborto porque la infección aguda ocurrió varias semanas antes.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Los controles y las muestras de suero bovino preparadas se incuban en wells recubiertos con antígenos de *L. pomona* (Ag). Los anticuerpos (Ac) específicos para *L. pomona* presentes en muestras de sueros positivos se unirán al Ag en los wells. Después de varios lavados para eliminar sustancias no unidas, se agrega un conjugado (proteína G acoplada a peroxidasa). Luego de la incubación, el exceso de este conjugado se elimina mediante una segunda serie de lavados y se revela su unión a los anticuerpos bovinos con sustrato cromógeno.

El conjugado, si está presente, reacciona con el sustrato y se tiñe de un color azul. Luego se detiene la reacción y se leen las densidades ópticas. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de Ac en las muestras de sueros.

IMMUNOLOGY
REACTIVOS PARA DIAGNÓSTICO E INVESTIGACIÓN VETERINARIA

senasa
Certificado SENASA N°
Uso Veterinario Exclusivo

COMPONENTES DEL KIT

• 12 tiras de 8 wells recubiertos con <i>L. Pomona</i>	2
• Control positivo listo para usar	2,5 ml
• Control negativo listo para usar	2,5 ml
• Solución de lavado concentrada (10X)*	2 x 100 ml
• Conjugado concentrado	500 - 1000 μ l
• Sustrato listo para usar	25 ml
• Sustrato de parada lista para usar *	25 ml

* Los cristales pueden formarse cuando estas soluciones se mantienen a 2-7 ° C. Esto no afectará la eficacia de los productos. Sin embargo, los cristales deben disolverse colocando las soluciones a temperatura ambiente y en agitación.

** El volumen preciso depende del lote de conjugado y la dilución de trabajo recomendada (vea sección C).

Material requerido, pero no provisto:

- Agua purificada
- Micropipetas variables mono y multicanal
- Tips de micropipetas
- Lavador de microplaca ELISA (facultativo)
- Tubos de ensayo para la dilución de muestras
- Lector de microplaca ELISA de 96 wells equipado con filtro de 450nm
- Contenedores para la preparación de soluciones

Precauciones

- Para uso veterinario "in vitro" únicamente.
- Los materiales utilizados en este kit deben considerarse como infeccioso. Por lo tanto, se debe descontaminar todo el desperdicio antes de desecharlo.
- No use el kit después de la fecha de caducidad indicada en el paquete.
- No mezcle los reactivos o las instrucciones de diferentes series de prueba.
- La sensibilidad y especificidad de la prueba están garantizadas solo si los procedimientos se realizan estrictamente.
- No exponga el sustrato a la luz o a un agente oxidante. Siempre coloque el sustrato en un recipiente de plástico limpio. La solución puede causar irritación en la piel o de los ojos.
- La solución de parada contiene un ácido fuerte y debe manipularse con precaución para evitar tener contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Dispone de la solución de lavado, el sustrato y la solución de parada de acuerdo con las regulaciones locales para productos químicos.
- Mantenga todos los reactivos a 2-7 °C y lleve a temperatura ambiente antes de usarlo.

EJECUCIÓN

• Preparación de la Solución de lavado

Después de homogeneizar la solución de lavado concentrada (sin evidencia de cristales), diluya la solución de lavado concentrada 10X en agua purificada a 1/10 (por Ej. 50 ml de solución de lavado concentrada 10X en 450 ml de agua purificada). Una vez preparada, la solución (1X) es estable durante 1 semana a 2-7 °C.

• Preparación de muestras

Diluya las muestras de suero 1/200 en solución de lavado 1X (ver sección A) (por ej.: 4 μ l de suero en 796 μ l de solución de lavado 1X). Asegúrese de que cada una de las muestras este bien mezclada con el diluyente antes de distribuirla en los pozos.

• Preparación del conjugado

Diluya el conjugado con una solución de lavado 1X (ver sección A) de acuerdo con la dilución indicada en el Certificado de Control de Calidad. Diluya el conjugado unos minutos antes de su uso y siempre prepare una solución nueva del conjugado.

• Procedimiento de prueba

Lleve todos los reactivos a temperatura ambiente y mezcle bien manualmente antes de usar.

1. Haga una representación esquemática de las placas y la distribución de los controles y muestras.
2. Dispensar 100 μ l de control positivo listo para usar, control negativo listo para usar o muestras diluidas (ver sección B) en los pocillos apropiados (se recomienda ejecutar sueros de control por duplicado).
3. Incubar a 23 +/- 2 °C durante 30 minutos.
4. Lave cada pocillo 3 veces con 300 μ l con solución de lavado 1X (ver sección A). Deseche todo el líquido contenido en el pocillo después de lavarlo. Después del último lavado, seque la placa golpeándolo sobre papel absorbente.
5. Dispensar 100 μ l del conjugado diluido (ver sección C) en cada uno de los pocillos.
6. Incubar a 23 +/- 2 °C durante 30 minutos.
7. Repetir el paso 4.
8. Dispensar 100 μ l del sustrato en cada pocillo.
9. Incubar en la oscuridad a 23 +/- 2 °C durante 15 minutos.
10. Dispensar 100 μ l de la solución de parada en cada pocillo.
11. Medir la densidad óptica (OD) de cada pocillo a 450 nm. La lectura debe hacerse a más tardar 15 minutos después de la adición de la solución de parada.
12. Calcular los resultados.