Validación

El test es válido si:

✓ La densidad óptica media del Control Negativo (DO_{CN}) es superior a 0.7.

$$DO_{CN} > 0,7$$

✓ El valor medio de la densidad óptica de los Controles Positivos (DO_{CN}) es inferior a 30% de la DO_{CN}.

$$DO_{CP} / DO_{NC} < 0,3$$

Interpretación

Para cada muestra, calcular el porcentaje de competición (% competición):

$$\% \text{ competición} = \frac{DO_{muestra}}{DO_{CN}} \times 100$$

Las muestras que presentan un % competición:

- inferior o igual a 50% son consideradas positivas.
- superior a 50% e inferior a 60% son consideradas dudosas.
- superior o igual a 60% son consideradas negativas.

Resultado	Estatus
% competición ≤ 50%	POSITIVO
50% < % competición < 60%	DUDOSO
% competición ≥ 60%	NEGATIVO

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

IDvet
Innovative Diagnostics

ID Screen® BLV Competition

Kit para la detección de anticuerpos anti-gP51 por ELISA de competición en sueros individuales y mezclas de sueros.

Incubación corta y nocturna

Sólo para uso *in vitro*

Enero 2013: Nuevos protocolos!

Código: **BLVC-2/4/10P**
Artículo:
Certificado: **0487430/2013**

IMMUNOLOGY
REACTIVOS PARA DIAGNÓSTICO E INVESTIGACIÓN VETERINARIA

senasa
Certificado SENASA

Información general

Este kit de dignóstico está destinado a detectar anticuerpos dirigidos contra la gP51 en sueros de bovinos y búfalos.

Puede ser utilizado en sueros individuales o mezclas de 10 sueros.

Descripción y principio

Los pocillos son sensibilizados con el antígeno gP51.

Las muestras y controles son añadidos a los pocillos. Los anticuerpos anti-gP51,si están presente, formarán un complejo antígeno-anticuerpo que enmascara los epítopos de la gP51.

Un conjugado anti-gP51 marcado con peroxidasa (HRP) es distribuido en los pocillos. Éste se fija a los epítopos del virus que están libres, formando un complejo antígeno-conjugado-HRP.

Luego de la eliminación del exceso del conjugado mediante lavado, la reacción es revelada a través una solución de revelación (TMB).

La coloración que resulta está ligada a la cantidad de anticuerpos específicos presentes en las muestras a analizar.

- En ausencia de anticuerpos en las muestras, aparece una coloración azul que se convierte en amarilla luego de añadir la solución de parada.
- En presencia de anticuerpos en las muestras no aparece ninguna coloración.

La lectura es realizada a una longitud de onda de 450nm.

Componentes

Reactivos*
Miicroplacas fijadas con el antígeno BLV
Control positivo
Control negativo
Conjugado anti-gP51-HRP (10X)
Diluyente2
Solución de lavado concentrada (20X)
Solución de revelación
Solución de parada (H_2SO_4 0.5M)

** La composición del kit aparece en la etiqueta del kit.*

1. El conjugado, los controles y la solución de revelación deben almacenarse a 5ºC (± 3ºC)
2. El resto de los componentes debe ser almacenado entre +2ºC y +26ºC
3. Los componentes con la misma denominación de los kits de IDvet son compatibles para otras técnicas (solución de lavado, diluyente) y pueden ser utilizados en toda la gama de IDvet.

Materiales necesarios no incluídos

1. Micropipetas o pipetas monocanales o multicanales de volúmenes de 10 µl, 100 µl y 200 µl
2. Puntas de pipeta desechables.
3. Lector de microplacas de 96 pocillos.
4. Agua destilada o desionizada.
5. Lavador de placas (manual o automático)

Precauciones de uso

1. No pipetear con la boca.
2. La solución de Revelación puede ser irritante para la piel.
3. La solución de parada (H_2SO_4 0.5M) puede provocar quemaduras graves **(R35)**. En caso de contacto con los ojos, lávense inmediatamente con abundante agua y acuda a un médico **(S26).**
4. No exponer la solución de revelación a la luz o agentes oxidantes.
5. Descontaminar todos los reactivos antes de su eliminación.

Preparación de la muestra

Con el fin de evitar diferencias en los tiempos de incubación entre las muestras, preparar una placa de 96 pocillos conteniendo muestras y controles y después transferirlos a la microplaca ELISA con una pipeta multicanal.

Preparación de la solución de Lavado

Es necesario equilibrar la Solución de Lavado concentrada (20X) a temperatura ambiente(21ºC ± 5ºC) y agitar correctamente para obtener la disolución de los cristales.

Preparar la Solución de Lavado (1X) diluyendo 1:20 la solución de lavado (20X) en agua destilada/desinonizada.

Procedimiento

Colocar todos los reactivos a temperatura ambiente (21ºC ± 5ºC) antes de ser utilizados y homogenizarlos por vortex o por inversión

Incubación corta (Suero individual o mezcla de sueros)

1. Añadir
   - 80 µl del **Diluyente 2** en cada pocillo.
   - 20 µl del **Control positivo** a los pocillos A1 y B1.
   - 20 µl del **Control negativo** a los pocillos C1 y D1.
   - 20 µl de cada muestra a analizar en los pocillos restantes.
2. Incubar **45 min** (± **4 min**) a 21ºC (± 5ºC).

Incubación nocturna (Suero individual o mezcla de sueros .

1. Añadir
   - 190 µl del Diluyente 2 en cada pocillo.
   - 10 µl del Control positivo a los pocillos A1 y B1.
   - 10 µl del Control negativo a los pocillos B1 y C1.
   - 10 µl de cada muestra a analizar en los pocillos restantes.
2. Incubar entre **16 y 20 horas** a 4ºC (± 2ºC).

Las siguientes etapas son las mismas para la incubación corta y nocturna

3. Preparar el **Conjugado gP51-HRP 1X** diluyendo el **Conjugado anti gP51-HRP (10X)** a 1:10 con el **Diluyente 2.**
4. Vaciar los pocillos. Lavar cada pocillo 3 veces con aprox. 300 µl de **Solución de lavado**. Evitar el desecado de los pocillos durante los lavados.
5. Añadir 100 µl del **Conjugado anti-gP51 1X** a cada pocillo.
6. Incubar **30 min** (± **3 min**) a 21ºC (± 5ºC).
7. Vaciar los pocillos. Lavar cada pocillo 3* veces con aprox. 300 µl de **Solución de lavado**. Evitar el desecado de los pocillos durante los lavados.
8. Añadir 100 µl de la **solución de revelación** a cada pocillo.
9. Incubar **15 min** (± **2 min**) a 21ºC (± 5ºC) en la oscuridad.
10. Añadir 100 µl de la **Solución de parada** a cada pocillo para detener la reacción.
11. Leer y guardar la DO a 450nm.

* La calidad del lavado puede influenciar los resultados. Con la finalidad de mejorar los resultados, se aconseja 5 lavados en lugar de 3 después de la incubación del conjugado.