### Información general

Muermo es una enfermedad altamente contagiosa que afecta principalmente a caballos, mulas y asnos. Es causada por una bacteria gram-negativa *Burkholderia mallei*. Esta también puede afectar a otros animales (como perros, gatos, cabras) y humanos.

Este kit diagnostico está diseñado para detectar anticuerpos contra la bacteria Burkholderia mallei.

Puede ser usado en suero o plasma de equinos u otras especies susceptibles.

## Descripción y principio

Los pocillos están tapizados con un antígeno inactivado de *Burkholderia mallei*.

Las muestras a analizar y los controles son distribuidos en los pocillos. Los anticuerpos anti-Burkholderia mallei, si están presentes, formarán un complejo antígeno-anticuerpo.

Un conjugado multi-especies marcado con una peroxidasa de rábano picante (HRP) es distribuida en los pocillos. Este se fija a los anticuerpos, formando un complejo antígeno-anticuerpo-conjugado-HRP.

Después de la eliminación del exceso del conjugado mediante lavado, la solución de revelación (TMB) es añadida.

La coloración que resulta depende de la cantidad de anticuerpos específicos presentes en la muestra analizada:

- en presencia de anticuerpos en la muestra, aparece una coloración azul que se transforma en amarilla después de añadir la solución de parada.
- En ausencia de anticuerpos en la muestra, no aparece ninguna coloración.

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

Nota: Este kit no contiene material infeccioso

### Componentes

Reactivos*
Microplacas sensibilizadas con antígeno de Burkholderia mallei inactivado
Conjugado Concentrado (10X)
Control Positivo
Control Negativo
Diluyente 2
Diluyente 3
Solución de Lavado Concentrada (20X)
Solución de Revelación

Solución de Parada (0.5 M)

- \* Las cantidades suministradas están indicadas en la etiqueta del kit
- El conjugado, los controles y la solución de revelación deben conservarse a 5°C (± 3°C).
- El resto de los reactivos puede conservarse de +2°C a +26°C.
- Los componentes con la misma denominación de los kits IDvet son compatibles para otras técnicas diferentes. Los diluyentes con el mismo número de lote son intercambiables.

#### Materiales necesarios no incluidos

- Micropipetas de precisión mono o multicanales de volúmenes de 10 ul. 100 ul y 500 ul.
- 2. Puntas de pipetas desechables.
- 3. Microplaca de predilución de 96 pocillos.
- 4. Agua destilada o desionizada.
- Sistema de lavado manual o automático.
- 6. Lector de microplacas de 96 pozos.

# Precauciones de uso

- 1. Precauciones de uso
- 2. No pipetear con la boca.

- Contiene componentes que pueden ser dañinos para la piel y los ojos, puede causar sensibilización por contacto con la piel. Evitar el contacto con la piel y los ojos. Usar bata de laboratorio protectora, guantes de un solo uso y gafas de seguridad. La solución de parada (0.5 M de ácido) puede ser nociva si se ingiere.
- No exponer la solución de revelación a la luz o a agentes oxidantes.
- Todos los desechos deben ser descontaminados adecuadamente antes de ser eliminados. Eliminar los productos de acuerdo a la reglamentación local en vigor.

Por favor consulte la hoja de datos de seguridad del material (MSDS), disponible bajo pedido, para obtener información más detallada.

## Preparación de las muestras

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

# Preparación de la solución de lavado

Si es necesario, dejar la Solución de lavado concentrada (20X) a temperatura ambiente ( $21^{\circ}C \pm 5^{\circ}C$ ) y agitar bien para asegurar la disolución de los cristales.

Preparar la Solución de Lavado (1X) diluyendo al 1:20 la Solución de Lavado (20X) en agua destilada/desionizada.

La calidad del paso de lavado puede influir en los resultados. Asegurarse que los pocillos están completamente vacíos entre lavados. Si usa un lavador automático, es importante corregir los parámetros de la maquina (modo, tipo de aspiración, altura de aspiración). Para más información, por favor consultar la "guía de lavado", disponible bajo solicitud en info@id-vet.com.

### **Procedimiento**

Colocar todos los reactivos a temperatura ambiente (21°C  $\pm$  5°C) antes de ser utilizados y homogenizarlos por vortex o por inversión.

- Distribuir:
  - 190 µl del Diluyente 2 en cada pocillo.
  - 10 µl del Control Negativo a los pocillos A1 y B1.
  - 10 µl del Control Positivo a los pocillos C1 y D1.
  - 10 µl de cada muestra a analizar en los pocillos restantes.
- Cubrir la placa e incubar 45 min ± 5 min a 21°C (± 5°C).
- Vaciar los pocillos. Lavar 3 veces cada pocillo con al menos 300µl de la Solución de Lavado. Evitar el desecado de los pocillos entre los lavados.
- Preparar el Conjugado 1X diluyendo al 1:10 el Conjugado Concentrado 10X con el Diluyente 3.
- 5. Distribuir 100 µl del Conjugado 1X a cada pocillo.
- Cubrir la placa e incubar 30 min ± 3 min a 21°C (+5°C).
- Vaciar los pocillos. Lavar 3 veces cada pocillo con al menos 300µl de la Solución de Lavado. Evitar el desecado de los pocillos entre los lavados.
- Distribuir 100 µl de la Solución de Revelación en cada pocillo.
- Cubrir la placa e incubar 15 min ± 2 min a 21°C (± 5°C) en la obscuridad.
- Distribuir 100µl de la Solución de Parada en cada pocillo en el mismo orden que en el paso Nº8 para detener la reacción.
- Leer a una densidad óptica de 450nm y guardar los resultados.

## Validación

El test es válido si:

✓ la media de la densidad óptica del Control Positivo (DO<sub>CP</sub>) es mayor que 0.350.

$$DO_{CP} > 0.350$$

✓ el cociente entre la media de los Controles Positivos y Negativos ( $DO_{CP}$  a  $DO_{CN}$ ) es mayor que 3.

$$DO_{CP}/DO_{CN} > 3$$

# Interpretación

Para cada muestra, calcular el porcentaje S/P (S/P%):

$$S/P\% = \frac{DO_{muestra} - DO_{CN}}{DO_{CP} - DO_{CN}} \times 100$$

Las muestras que presentan un S/P%:

- Menor o igual a 40% son consideradas como negativas.
- Entre 40% y 50% son consideradas como dudosas.
- Superior o igual a 50% son consideradas como positivas.

Resultado	Estatus
S/P % ≤ 40 %	NEGATIVO
40% < S/P % < 50%	DUDOSO
S/P % ≥ 50 %	POSITIVO

Nota: Los resultados positivos deben ser confirmados por otras técnicas serológicas (Prueba de Fijación de Complemento o Western Blot).

<u>Nota</u>: El programa para el análisis de datos ID Soft™, se encuentra disponible gratuitamente. Para mayor información, sírvase ponerse en contacto con support.software@id-vet.com.

Este programa informático permite calcular los diferentes parámetros del kit (criterios de validación, valores S/P o S/N, títulos, determinación de la edad de vacunación, grupos) y asimismo propone una síntesis gráfica de los perfiles serológicos de los animales analizados.





# ID Screen® Glanders Indirect Multi-species



ELISA indirecto para la detección de anticuerpos dirigidos contra la *Burkholderia* mallei en suero o plasma de caballos y otras especies susceptibles

Para uso in vitro

GLANS-MS ver1017 ES