Veterinary Medical
Research & Development

KIT de ELISAv2 PARA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS DEL VIRUS DE ANEMIA INFECCIOSA EQUINA

Código: E515.21
Artículo:
Certificado SENASA Nº:

El kit se basa en el ensayo de ELISA para detectar anticuerpos contra el virus de la Anemia Infecciosa Equina en sueros equinos. Los anticuerpos contra EIAV presentes en el suero equino se unen al antígeno p26 de EIAV revestidos en los pocillos de la placa. Los anticuerpos no específicos son lavados y los anticuerpos específicos contra EIAV unidos a la placa capturan el conjugado recombinante de la proteína p26 marcada con la enzima perodixasa (HRP) mediante un sitio Fab de unión a antígeno. El conjugado no unido es lavado y la presencia del conjugado p26 - HRP unido a los anticuerpos es detectado por la adición del sustrato de la enzima con la subsecuente producción de una coloración azul. La adición de la solución de frenado enlentece la reacción enzimática y genera un cambio de color azul a amarillo. EL control positivo establece el límite de corte, dado que provee un valor de referencia visual así como un valor de densidad óptica (DO) de referencia en la lectura de la placa en el espectrofotómetro. El color amarillo o una DO igual o superior al control positivo indica la presencia de anticuerpos contra el antígeno p26 de EIAV en la muestra de suero. Cuando se detecta una DO o color inferior al control positivo, indicaría la ausencia de anticuerpos contra el antígeno p26 de EIAV.

Componentes del kit:

A	Placa sensibilizada con antígeno	1 placa
B	Control Positivo	2 ml
C	Control Negativo	2 ml
D	Conjugado Antígeno peroxidasa	8 ml
E	Solución Sustrato	15 ml
F	Solución de frenado	15 ml
	Instrucciones de uso	

Materiales Requeridos pero no incluídos en el Kit

Pipetas monocanal y multicanal y volumen ajustable, tips descartables, placas de transferencia no recubiertas de antígeno, espectrofotómetro de microplacas de ELISA con un filtro de 450 nm, agua deionizada o destilada, papel absorbente, frascos de descarte de tips,depósitos de plástico para pipeta multicanal, probeta, timer, matraz de lavado, lavadora automática de placas y Parafilm.

IMMUNOLOGY
REACTIVOS PARA DIAGNÓSTICO E INVESTIGACIÓN VETERINARIA

senasa
Certificado SENASA Nº
Uso Veterinario Exclusivo

Almacenamiento y Estabilidad

Almacenar todos los componentes entre 2 - 7°C. No congelar. Los reactivos permanecerán estables hasta la fecha de vencimiento cuando sean conservados adecuadamente. No utilizar el kit luego de la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta de la caja.

Preparación

a. Templado de los reactivos: Colocar las muestras de suero, reactivos y placas a temperatura ambiente (23 ±2°C) antes de comenzar con el test de ELISA.

b. Preparación de placas: Remover la placa del envoltorio de aluminio (A). Si corresponde, guardar las tiras no utilizadas en el envoltorio y sellar nuevamente.Coloque las tiras que utilizará en el marco y numere la parte superior de cada una para mantener la orientación. Marcar siempre las tiras por si se llegaran a desprender del marco durante el lavado.

Procedimiento de prueba:

1. Carga de controles y muestras de suero : Los controles positivos y negativos se encuentran listos para usar (indicados en la etiqueta de la caja como componentes B y C, respectivamente). Las muestras de suero se utilizan sin diluir. Cuando se utilizan placas enteras, es recomendable colocar los controles en áreas diferentes de la placa. Los controles deben utilizarse cada vez que se realiza el test y en cada placa si se analizan múltiples placas. Con una pipeta seteada en 50 µl, cargar los controles y las muestras en la placa recubierta de antígeno (componente A). EL volumen de muestra en la placa de transferencia debe ser superior a 50 µl , para transferir 50 µl. Asegúrese que el suero cubra el fondo de cada pocillo. Tenga precaución de no derramar muestras entre pocillo y pocillo. Incubar la placa por 10 minutos a temperatura ambiente (23 ± 2°C).

2. Lavado de pocillos: Luego de10 minutos de incubación a temperatura ambiente, realice un lavado por única vez. Si se utiliza un lavador automático, coloque la placa en el equipo lavador automático y lave la placa 1 vez, rellenando los pocillos con agua destilada o deionizada. Si se realiza un lavado manual, vacíe el contenido de los pocillos y remueva el suero remanente y controles bruscamente golpeando 4 veces la placa invertida sobre un papel tissue limpio, golpeando un área limpia cada vez. Inmediatamente rellene los pocillos con agua deionizada o destilada utilizando una pipeta multicanal o botella de lavado. Vaciar el agua destilada o deionizada de la placa y golpear la placa invertida bruscamente sobre una toalla de papel limpia como antes.

3. Agregado del conjugado antígeno-peroxidasa (HRP): El conjugado antígeno peroxidasa, se encuentra listo para usar (componente D). Adicione 50 µl del conjugado en cada pocillo. Mueva la placa lateralmente para asegurarse que el líquido de conjugado antígeno peroxidasa cubra el fondo de cada pocillo.Incubar a temperatura ambiente (23 ± 2°C) por 10 minutos.

4. Lavado de los pocillos: Luego de la incubación con el conjugado, lavar la placa 4 veces con agua destilada o deionizada y realizar estos lavados como fue indicado en el punto 2.

5. Agregado de solución de sustrato: Adicione 50 µl de la solución de sustrato en cada pocillo (componente E). Mueva la placa lateralmente para asegurarse que la solución de sustrato cubra el fondo de cada pocillo. Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos. Evitar dejar la placa con incidencia de luz solar. Es posible dejar la placa bajo luz artificial. **No vacíe los pocillos.**

6. Agregado de solución de frenado: Agregue 50 µl de solución de parada a cada pocillo (componente F). Cuando la solución se agrega, el color tornará de azul a amarillo. Mueva la placa lateralmente para mezclar ambas soluciones. No vacíe los pocillos.

7. Lectura y registro de los resultados: Inmediatamente después de agregar la solución de frenado, la placa debe quedar y observarse visualmente contra el control positivo o leída utilizando un espectrofotómetro. En caso de utilizar el espectrofotómetro, setear la longitud de onda a 450 nm para la lectura de densidad óptica (DO) de la placa. Algunos lectores requieren de un pocillo vacío para hacer un blanco. En ese caso no agregar reactivos en ese pocillo.

8. Coloque nuevamente todos los reactivos a 2- 7 °C para su almacenamiento

Validación del test

La media del control negativo dębe tener una DO ≤0.15
La media del control positivo dębe tener una DO ≥ 1.5 veces superior al DO del control negativo.

Interpretación de Resultados

Interpretación de la lectura por espectrofotómetro: Las muestras con una DO igual o superior al DO del control positivo son positivas para el anticuerpo contra antígeno p26 del virus de la Anemia Infecciosa Equina. Las muestras con un valor de DO inferior al valor de DO del control positivo deben considerarse negativas.

Interpretación visual: Las muestras con el mismo color o un color mas intenso que el color del control positivo son positivas. Las muestras sin color, o con colores menos intensos respecto al color del control positivo son negativas.
Los resultados positivos deben ser verificados por AGID.

Precauciones

Los componentes del kit deben manejarse con cuidado y como potencialmente peligrosos. No se debe comer, ni beber o fumar en el área de trabajo donde se manipulan los sueros y reactivos del kit. No se debe pipetear con la boca. Algunos de los reactivos pueden ser dañinos si se ingieren.

Si se ingiere algún componente del kit, asistir al médico. No utilice reactivos contaminados ni vencidos, o reactivos de otros kits o lote. No mezcle reactivos de diferentes lotes del mismo producto.

Componente B, Control positivo, contiene 0,09% azida de sodio como conservante.

Componente C, control negativo, contiene 0,09% azida de sodio como conservante.

Licencia Veterinaria de USDA N0. 332

Versión 150722

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