

MONOSCREEN[®] Ab ELISA

Instrucciones de uso
BIO K 451-Neo-Easy_NO_(ES)_V04
 26/11/2024

Monoscreen AbELISA Neospora caninum Easy

Referencia: BIO K 451

Prueba ELISA para el diagnóstico serológico de la neosporosis bovina

Monocúpula, prueba indirecta

Uso *in vitro* y estrictamente veterinario



Muestra	Especie
Suero sanguíneo	Bovino
Leche individual (desnatada* y no desnatada)	Bovino

* centrifugación 20 min. 4000 g.

Presentación

Referencia producto	BIO K 451/5
Formato	5 placas, tira de 8 pocillos
Reacciones	480 pruebas

Composición del kit

Materiales suministrados		BIO K 451/5
Microplate	Microplaca	5
Washing solution	Solución de lavado (20X)	1 X 250 mL
Dilution solution	Solución de dilución coloreado (1X)	2 X 100 mL
Conjugate	Conjugado (50X)	1 X 1,5 mL
CTL POS serum	Control positivo suero (tapón negro)	1 X 0,5 mL
CTL POS milk	Control positivo leche (tapón amarillo)	1 X 0,5 mL
CTL NEG	Control negativo	1 X 0,5 mL
Tracer	Marcador	1 X 0,5 mL
TMB solution	Solución de TMB monocomponente (1X)	1 X 55 mL
Stop solution	Solución de frenado (1X)	1 X 55 mL

Historial de revisiones

Fecha	Versión	Modificaciones
31/08/2022	V02	Supresión del BIO K 451/2.
20/09/2023	V03	Modificación de los nombres de referencia.
26/11/2024	V04	Modificación del volumen de los conjugados y de la solución de frenado.

Nota: las modificaciones menores de tipografía, gramática y maquetación no aparecen en el historial de revisiones.

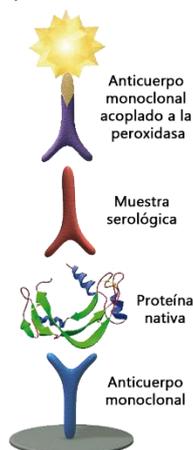
A. Introducción

Neospora caninum es un protozoo descrito, en primera instancia, como un parásito del perro en el que es responsable de miositis y encefalitis. Actualmente, la neosporosis bovina está reconocida como una importante causa de aborto en los bovinos. Existen sospechas fundadas de su presencia en el 20 % de las granjas con abortos repetidos, y una vaca seropositiva en *Neospora caninum* tiene 3 veces más riesgo de abortar que una vaca seronegativa. La transmisión vertical es lo más habitual (como mínimo, el 80 % de los terneros nacidos de las vacas seropositivas están contaminados).

B. Principio del test

Las microplacas de 96 pocillos se sensibilizaron con un anticuerpo monoclonal específico de una proteína de *Neospora caninum*. El anticuerpo asegura la captura y la purificación de esta proteína a partir de un lisado del protozoo.

Los sueros sanguíneos y las leches se diluyen en la solución de dilución. Tras la incubación y el lavado de la preparación, se añade el conjugado, un anticuerpo monoclonal específico de las IgG1 bovinas unido a la peroxidasa. Tras una segunda incubación de 30 minutos a 21 ± 3 °C y un segundo lavado, se añade la solución de revelado (TMB Monocomponente). En caso de presencia de inmunoglobulinas específicas de *Neospora caninum* en el suero o la leche, el conjugado permanece fijado en la cúpula que contiene el protozoo y la enzima cataliza la transformación del cromógeno incoloro en un producto azul. La intensidad de la coloración es proporcional al contenido en anticuerpos específicos presentes en la muestra.



C. Material y equipamiento necesarios, pero no suministrados en el kit

- Agua destilada / desmineralizada.
- Pipeta mono o multicanal de precisión (gama 2 - 20 μ L, 20 - 200 μ L y 100 - 1000 μ L) y conectores de un solo uso.
- Lavador de microplacas (opcional).
- Lector de microplaca (filtro 450 nm).
- Incubadora a 21 ± 3 °C.
- Material de laboratorio estándar: probeta graduada, gradilla, tapa...
- Microplaca de dilución.

D. Precauciones de uso

- Almacenar estos reactivos entre +2 y +8 °C.
- Las tiras no utilizadas se conservan en el sobre de aluminio cerrado herméticamente con su desecante.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad.
- No utilizar reactivos de otros kits.
- Utilizar siempre agua destilada / desmineralizada.
- La solución de frenado está hecha con ácido fosfórico 1 M. Manipular este producto con cuidado.
- Eliminar el material utilizado respetando la legislación en vigor en materia de protección del medio ambiente y de gestión de residuos biológicos.

- Conservar la solución de TMB protegida de la luz.

E. Preparación de las soluciones

- Las soluciones se deben preparar antes de la utilización.
- La solución de lavado se debe diluir en agua destilada / desmineralizada en una proporción de 1:20. La solución cristaliza de forma espontánea en frío. Llevar el frasco a 21 ± 3 °C para que desaparezcan todos los cristales; mezclar bien la solución y extraer el volumen necesario.
- La solución de dilución está lista para ser utilizado. La solución de dilución es de color amarillo. Se utiliza para la dilución de las muestras, los controles positivo y negativo, el marcador y el conjugado.
- El conjugado se deben diluir en la solución de dilución en una proporción de 1:50.
- La solución de frenado está lista para ser utilizada.
- La solución de TMB está lista para ser utilizada. La solución debe ser completamente incolora.

F. Procedimiento

- Todos los componentes deben llevarse a 21 ± 3 °C antes de su utilización.
- Leer atentamente los puntos anteriores.

Nota: Para evitar las diferencias en el tiempo de incubación entre las muestras, se pueden preparar las diluciones de las muestras y las diluciones de los controles en una microplaca de dilución antes de su transferencia (200 μ L) a la microplaca de prueba, mediante una pipeta multicanal.

Protocolo suero (dilución 1:20)

1. Dispensar la solución de dilución a razón de 190 μ L por pocillo. Añadir las muestras de los sueros y los controles a razón de 10 μ L por pocillo. Homogeneizar por aspiración / expulsión.
2. Cubrir e incubar la placa a 21 ± 3 °C durante 30 ± 3 min.
3. Eliminar el contenido de la microplaca. **Lavar 3 veces** la microplaca con **300 μ L de solución de lavado** por pocillo. Evitar la formación de burbujas en las cúpulas y que la microplaca se seque entre los lavados.
4. Añadir **100 μ L de conjugado diluido** por pocillo. Cubrir e incubar la placa a 21 ± 3 °C durante 30 ± 3 min.

Protocolo leche (dilución 1:4)

1. Para la leche (dilución 1:4): dispensar la solución de dilución a razón de 150 μ L por pocillo. Añadir las muestras a razón de 50 μ L por pocillo. Homogeneizar por aspiración / expulsión. Para los controles (dilución 1:20): dispensar la solución de dilución a razón de 190 μ L por pocillo. Añadir los controles a razón de 10 μ L por pocillo. Homogeneizar por aspiración / expulsión.
2. Cubrir e incubar la placa a 21 ± 3 °C durante 60 ± 5 min.
3. Eliminar el contenido de la microplaca. **Lavar 3 veces** la microplaca con **300 μ L de solución de lavado** por pocillo. Evitar la formación de burbujas en las cúpulas y que la microplaca se seque entre los lavados.
4. Añadir **100 μ L de conjugado diluido** por pocillo. Cubrir e incubar la placa a 21 ± 3 °C durante 60 ± 5 min.

Protocolo común

5. Eliminar el contenido de la microplaca. **Lavar 3 veces** la microplaca con **300 μ L de solución de lavado** por pocillo. Evitar la formación de burbujas en las cúpulas y que la microplaca se seque entre los lavados.

6. Dispensar **100 µL de la solución de TMB** por pocillo. Incubar a **21 ± 3 °C** durante **10 ± 1 min**, protegida de la luz, y sin cubrir.
7. Dispensar la solución de frenado a razón de **100 µL por pocillo**. El color cambia de azul a amarillo.
8. Registrar las densidades ópticas con un espectrofotómetro de placa utilizando un filtro de **450 nm** durante los 5 minutos siguientes a la adición de la solución de frenado.

G. Validación de los resultados

La prueba solo se considerará **válida** si:

- la diferencia entre las lecturas de densidad óptica del control positivo (suero y/o leche) y del control negativo es superior a 0,450.

$$DO_{\text{control positivo (suero y/o leche)}} - DO_{\text{control negativo}} > 0,450$$

- el control negativo da una densidad óptica inferior a 0,400.

$$DO_{\text{control negativo}} < 0,400$$

H. Interpretación de los resultados

Calcular el coeficiente (M/P %) para cada muestra mediante la siguiente fórmula:

$$M/P (\%) = \frac{DO_{\text{muestra}} - DO_{\text{control negativo}}}{DO_{\text{control positivo (suero o leche)}} - DO_{\text{control negativo}}} * 100$$

		Resultados	Estatus
IgG1	Suero	M/P % < 70 %	Negativo
		M/P % ≥ 70 %	Positivo
IgG1	Leche	M/P % < 50 %	Negativo
		M/P % ≥ 50 %	Positivo

Obtenga rápida y fácilmente la interpretación de sus resultados gracias a nuestra plataforma en línea gratuita **AnalysisScreen**, disponible en nuestro sitio web: <https://www.biox.com>



AnalysisScreen™ es el nuevo módulo de lectura e interpretación de todos los tipos de placas ELISA Monoscreen™ y Multiscreen™. AnalysisScreen™ es:

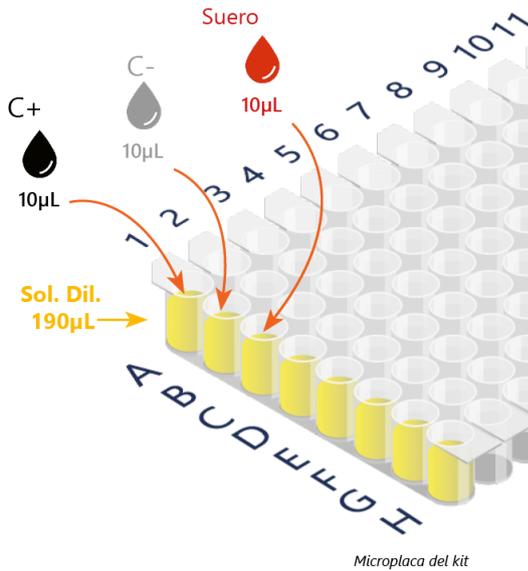
- Gratuito
- Accesible en línea a través de nuestro sitio web: <https://www.biox.com>
- Actualizado en tiempo real
- Compatible con todos los diseños de placas Bio-X Diagnostics
- Muy fácil de usar



SCAN ME

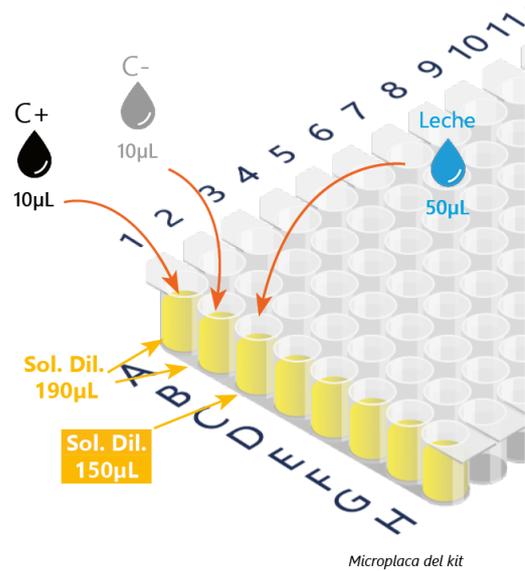
Protocolo suero

- 1 Dilución de las muestras 1:20
Dilución de los C+ suero y C- 1:20



Protocolo leche

- 1 Dilución de las muestras 1:4
Dilución de los C+ leche y C- 1:20



- 2 Añadir 100 µL de conjugado



- 2 Añadir 100 µL de conjugado



Protocolo común

- 3 Añadir 100 µL de TMB



- 4 Añadir 100 µL de solución de frenado

- 5 Registrar las densidades ópticas

450 nm



* Los notas no sustituyen al modo de empleo, ya que son únicamente un resumen del mismo.