

PrioCHECK™ Porc. Salmonella Ab 2.0 Strip Kit

ELISA para detección *in vitro* de anticuerpos contra *Salmonella* en plasma y suero de cerdo

Número de Catálogo 7610660

N.º de Pub. MAN0013916 Rev. B.0

-  **¡ADVERTENCIA!** Lea las hojas de datos de seguridad (SDS) y siga las instrucciones de manipulación. Lleve el equipo de protección individual (EPI) adecuado (gafas, ropa, guantes). Las hojas de datos de seguridad (SDS) se encuentran disponibles en thermofisher.com/support.
-  **¡ADVERTENCIA! POSIBLE RIESGO BIOLÓGICO.** Lea la información sobre seguridad frente a los riesgos biológicos en la página de este producto en thermofisher.com. Lleve el equipo de protección individual (EPI) adecuado (gafas, ropa, y guantes)

Introducción

La salmonelosis es una de las enfermedades zoonóticas más importantes y causa serios síntomas clínicos en los seres humanos. Los cerdos han sido identificados como una fuente importante de esta *Salmonella*. Las piaras especialmente infectadas constituyen un riesgo para la salud pública en tanto son una fuente de contaminación de la carne producida en mataderos. Puede lograrse fácilmente una vigilancia y un diagnóstico de piaras infectadas haciendo un ensayo de anticuerpos para *Salmonella* en suero o jugo de carne. Applied Biosystems™ PrioCHECK™ Porc. Salmonella Ab 2.0 Strip Kit se origina en el Instituto Danés de Veterinaria (Nielsen et al., 1995) y ha sido aplicado con éxito en el programa de control de *Salmonella* en cerdos de Dinamarca. Adicionalmente suele usarse el ELISA como criterio de referencia en el desarrollo de otros ELISA para *Salmonella* [1].

PrioCHECK™ Porc. Salmonella Ab 2.0 Strip Kit puede usarse para detectar la infección en cerdos causada por cepas de *Salmonella* pertenecientes al grupo sérico B, C1 y D (los serotipos más comunes aislados en Europa, Asia y América). El ensayo es adecuado para detección a gran escala y para su aplicación en programas de control de infecciones por *Salmonella* en cerdos [1,2].

Principio del ensayo

PrioCHECK™ Porc. Salmonella Ab 2.0 Strip Kit es un ELISA indirecto para la detección de anticuerpos anti-*Salmonella* en cerdos y detecta anticuerpos contra los antígenos O: 1, 4, 5, 6, 7 y 12 del polisacárido (LPS) de *Salmonella*. Las placas están recubiertas con LPS purificado aislado de *S. Typhimurium* y *S. Choleraesuis*. El conjugado es suero de cerdo anti-conejo acoplado a peroxidasa de rábano picante.

Las muestras del ensayo son pre-diluidas en una placa de dilución y transferidas a los correspondientes pocillos de la lámina de ensayo e incubadas a temperatura ambiente (22±3°C). Posteriormente, las placas se lavan y se añade el conjugado HRPO y se incuba a 22±3°C. Después de que las placas fueron lavadas, el sustrato cromogénico (TMB) listo para usar se distribuye a todos los pocillos de la placa de ensayo. Después de la incubación a 22±3°C, el desarrollo de color se detiene y se mide a 450 nm.

Componentes del kit

Kit de 5 placas para 450 muestras. Almacenar el kit a 5±3°C hasta la fecha de vencimiento. Ver fecha de vencimiento actual en la etiqueta del kit.

La vida útil de los componentes diluidos, abiertos o reconstituidos, se indica a continuación, cuando corresponda.

Componente	Descripción
1: Placa de ensayo	Cinco placas de ensayo
2: Conjugado (30x)	30x concentrado, diluir antes de usar. Un vial que contienen 2.2 mL de conjugado. Vida útil de conjugado diluido: 24 horas a 22±3°C.
3: Tampón de dilución (5x)	5x concentrado, diluir antes de usar. Un vial que contiene 60 mL de tampón de dilución. Vida útil de solución de trabajo del tampón de dilución: 24 horas a 22±3°C.
4: Líquido de lavado (100x)	100x concentrado, diluir antes de usar. Cuatro viales que contienen 60 mL de líquido de lavado. Vida útil de líquido de lavado: 1 semana a 22±3°C.
5: Control negativo	Listo para usar. Un vial que contiene 0.5 mL de control negativo.
6: Control de validación	Listo para usar. Un vial que contiene 0.5 mL de control de validación. Nota: El uso de este control es opcional.
7: Control positivo	Listo para usar. Un vial que contiene 0.5 mL de control positivo.
8: Sustrato cromogénico (TMB)	Listo para usar. Un vial que contiene 60 mL de sustrato cromogénico (TMB).
9: Solución de frenado	Listo para usar. Un vial que contiene 60 mL de solución de frenado.
Contenido adicional del kit	Instrucciones de uso

Material adicional requerido

A menos que se indique lo contrario, todos los materiales están disponibles en thermofisher.com.

Uso	Descripción
Placas de dilución	Placas de dilución para hacer pre-diluciones de muestras de plasma y suero. Recomendamos placas con fondo en forma de U (N.º de Cat. 267245). De todas maneras, pueden usarse también otras placas o tubos no obligatorios.
General	Equipamiento de laboratorio conforme a normas de seguridad nacionales.
Análisis de resultados	Lector de placa. El lector debe tener un juego de filtros apropiado para leer las placas a 450 nm.
Opcional	Lavadora de placas.

Método del ensayo

Preveniones

- Se deben seguir estrictamente las normas nacionales de seguridad.
- PrioCHECK™ Porc. Salmonella Ab 2.0 Strip Kit debe usarse en laboratorios adecuados para este propósito.
- Las muestras deben ser consideradas como potencialmente infecciosas y todos los artículos que entren en contacto las muestras como potencialmente contaminados.

Notas

Para lograr óptimos resultados con PrioCHECK™ Porc. Salmonella Ab 2.0 Strip Kit deben tomarse en cuenta los siguientes aspectos:

- **El protocolo de método del ensayo debe ser seguido estrictamente.**
- Se recomienda el uso de 6 tiempos de lavado, si el ensayo se realiza en un sistema robótico.
- Todos los reactivos del kit deben equilibrarse a temperatura ambiente (22±3°C) antes de su uso.
- Las puntas de pipeta tienen que ser cambiadas para cada paso de pipeteado.
- Para cada reactivo deben usarse depósitos de solución separados.
- Los componentes del kit no deben usarse después de su fecha de vencimiento o si se observan cambios en su apariencia.
- Los componentes del kit de distinto número de lote no deben utilizarse juntos.
- Para el ensayo debe usarse agua desmineralizada o agua de la misma calidad.

Soluciones que debe tener preparadas antes de comenzar

Tampón de dilución: solución de trabajo

El tampón de dilución (componente 3) debe ser diluido 5 veces en agua desmineralizada o destilada. Para realizar un ensayo con una sola placa, preparar 45 mL (añadir 9 mL de tampón de dilución (5x) a 36 mL de agua desmineralizada o destilada).

Estabilidad de la solución de trabajo del tampón de dilución: 24 horas a 22±3°C.

Dilución de conjugado

Preparar la dilución del conjugado (componente 2) en solución de trabajo del tampón de dilución. Para realizar un ensayo con una sola placa, preparar 12 mL (añadir 0.4 mL de conjugado concentrado (30x) a 11.6 mL de tampón de dilución).

Nota: El conjugado diluido es estable hasta 24 hs.

Solución de lavado

El líquido de lavado (componente 4) se debe diluir (100x) en agua desmineralizada y es suficiente para un volumen final de 6 litros. Para realizar un ensayo con una placa, preparar 500 mL (añadir 5 mL de solución de lavado (100x) a 495 mL de agua desmineralizada o destilada).

Estabilidad de la solución de lavado: 1 semana guardada a 22±3°C.

Pre-dilución de muestras para el ensayo 20x en una placa de dilución

1. Dispense 10 µl de cada muestra de prueba en los pocillos adecuados de la placa de dilución (consulte la Tabla 1), dependiendo de los requisitos del experimento.

Nota: Las muestras de prueba se pueden añadir a un pocillo (una prueba) o a dos pocillos adyacentes (prueba duplicada).

2. Dispense 190 µl del tampón de dilución (solución de trabajo) a cada pocillo que contenga una muestra y, a continuación, mezcle el contenido de los pocillos.

3. Agite la placa o placas de dilución durante 1 minuto a 700 RPM (1/min).

Nota: Mezclar la muestra con solución de trabajo del tampón de dilución es esencial para el ensayo.

Incubación de muestras de control y de ensayo

Consulte en la Tabla 2 la disposición de la placa de ensayo recomendada.

1. Etiquetar cada tira de la placa de ensayo (componente 1) con un rotulador.
2. Agregar 90 µL de solución de trabajo del tampón de dilución en todos los pocillos de la placa de ensayo.
3. Transfiera 10 µl de cada muestra prediluida de la placa de dilución a los pocillos correspondientes de la placa de ensayo.
4. Agregar 10 µL del control negativo (componente 5) a pocillos A1 y B1.
5. Agregar 10 µL del control positivo (componente 7) a pocillos C1 y D1.
6. (Opcional) Agregar 10 µL del control de validación (componente 6) a pocillos E1 y F1.
7. Agite la placa o placas durante 1 minuto a 700 RPM (1/min).
8. Incubar la(s) placa(s) de ensayo por 30±3 minutos a temperatura ambiente (22±3°C).

Incubación con conjugado

1. Vaciar la placa de ensayo y lavar la placa 3 veces con 300 µL de líquido de lavado diluido. Sacuda la placa firmemente después del último ciclo de lavado.
2. Distribuya 100 µL de la solución de trabajo del conjugado en todos los pocillos.
3. Incubar la placa durante 30±3 minutos a temperatura ambiente 22±3°C.

Incubación con sustrato cromogénico (TMB)

1. Vaciar la placa de ensayo de tiras y lavar la placa 3 veces con 300 µL de líquido de lavado diluido. Sacuda la placa firmemente después del último ciclo de lavado.
2. Distribuya 100 µL de sustrato cromogénico (TMB) (componente 8) en todos los pocillos.
3. Incubar la placa durante 15±1 minutos a 22±3°C.
4. Agregar 100 µL de solución de frenado (componente 9) a todos los pocillos.
5. Mezclar el contenido de los pocillos de la placa.

Nota: Iniciar el agregado de solución de frenado 15 minutos después de haber llenado el primer pocillo con sustrato cromogénico (TMB). Agregar la solución de frenado en el mismo orden y con el mismo ritmo con el que se distribuyó que el sustrato cromogénico (TMB).

Lectura del ensayo y cálculo de los resultados

1. Medir la densidad óptica (OD) de los pocillos a 450 nm, preferentemente dentro de los 15 minutos después de que se detuvo el desarrollo de color.
2. Calcular el valor principal OD₄₅₀ del control positivo (pocillos C1 y D1).
3. Calcular el valor principal OD₄₅₀ del control negativo (pocillos A1 y B1).
4. Calcule el valor corregido de la OD₄₅₀ del control positivo, el control de validación (si se utilizara) y de todas las muestras sustrayendo la OD₄₅₀ media del control negativo (pocillos A1 y B1).

5. Calcular la positividad porcentual (PP) de todos los controles y de las muestras de ensayo conforme a la siguiente fórmula.

La OD₄₅₀ de todas las muestras está expresada como positividad porcentual (PP) de la OD₄₅₀ del control positivo (PC) (pocillos C1 y D1) corregida con la OD₄₅₀ principal del control negativo (NC) (pocillos A1 y B1).

$$PP = \left(\frac{OD_{450 \text{ muestra de ensayo}} - OD_{450 \text{ principal NC}}}{OD_{450 \text{ PC}} - OD_{450 \text{ principal NC}}} \times 120 \right)$$

Interpretación de resultados

Criterios de validación

1. La OD₄₅₀ media del control negativo (pocillos A1 y B1) debe ser <0.4.
2. La OD₄₅₀ media del control positivo (no corregida) debe ser >1.0.
3. Si se utilizó el control de validación, la positividad porcentual del control de validación debe ser ≥60.

No satisfacer estos criterios es razón para descartar los resultados de esa placa de ensayo específica.

Nota: Si la OD₄₅₀ del control positivo (no corregida) es inferior a 1.0, posiblemente el sustrato cromogénico (TMB) esté demasiado frío. En ese caso, calentar la solución a 22±3°C o incubar hasta 30 minutos.

Interpretación de la positividad porcentual

PP = <40%	Negativa	Hay ausencia de anticuerpos específicos contra <i>Salmonella</i> en la muestra para ensayo.
PP = ≥40%	Positiva	Hay presencia de anticuerpos específicos contra <i>Salmonella</i> en la muestra para ensayo.

En programas avanzados de control de *Salmonella*, el ensayo puede ser usado con un punto de corte diferente (p.ej., 20% PP). Queda bajo la responsabilidad de las respectivas autoridades/usuarios implementar estos puntos de corte.

Disposiciones de placa recomendadas

Las siguientes disposiciones de placa permiten una transferencia eficaz de las muestras prediluidas de la placa de dilución a la placa de ensayo (X - Vacío; S - Muestra; P - Control positivo; N - Control negativo; V - Control de validación [opcional]).

Tabla 1 Disposición de la placa de dilución

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	X	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B	X	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
C	X	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
D	X	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E	X or S ⁽¹⁾	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F	X or S ⁽¹⁾	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
G	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
H	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

⁽¹⁾ Si utiliza el control de validación, deje los pocillos E1 y F1 vacíos.

Tabla 2 Disposición de la placa de pruebas

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	N	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B	N	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
C	P	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
D	P	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E	V or S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F	V or S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
G	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
H	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Referencias

1. Nielsen B, Baggesen D, Bager F, Haugegaard J, Lind P (1995). *Veterinary Microbiology* 47:205–218.
2. Van der Heijden HMF (2001). First International Ring Trial of ELISA's for *Salmonella*-antibody. *Berl Münch Tierärztl Wschr* 389–392.

Asistencia al cliente y soporte técnico

Asistencia técnica: visite thermofisher.com/askaquestion

Visite thermofisher.com/support para conocer lo último en servicios y asistencia, incluyendo lo siguiente:

- Números de teléfono de contacto de todo el mundo
 - Pedidos y soporte web
 - Guías de usuario, manuales y protocolos
 - Certificados de análisis
 - Fichas técnicas de seguridad (Safety Data Sheets, SDS; también conocidas como MSDS)
- NOTA:** Para conocer las SDS de los reactivos y productos químicos de otros fabricantes, póngase en contacto con el fabricante.

Garantía limitada del producto

Life Technologies Corporation y/o su(s) filial(e)s garantizan sus productos tal y como se establece en los términos y condiciones generales de venta de Life Technologies, que se pueden encontrar en el sitio web de Life Technologies www.thermofisher.com/us/en/home/global/terms-and-conditions. Si tiene alguna duda, póngase en contacto con Life Technologies en thermofisher.com/support.



Prionics Lelystad B.V. | Platinistraat 33 | 8211 AR Lelystad | The Netherlands

La información incluida en esta guía está sujeta a cambios sin previo aviso.

EXENCIÓN DE RESPONSABILIDAD: EN LA MEDIDA DE LO ESTIPULADO POR LA LEY, LIFE TECHNOLOGIES Y/O SUS AFILIADOS NO SE HACEN RESPONSABLES POR DAÑOS ESPECIALES, INCIDENTALES, INDIRECTOS, PUNITIVOS, MÚLTIPLES O CONSIGUIENTES EN RELACIÓN CON O DERIVADOS DE ESTE DOCUMENTO, INCLUYENDO EL USO DEL MISMO.

Historial de revisiones: N.º de Pub. MAN0013916 [Español]

Rev.	Fecha	Descripción
B.0	29 octubre 2020	<ul style="list-style-type: none">• Se ha actualizado el protocolo para el uso del control de validación opcional.• Se ha añadido una sección con las disposiciones de placa recomendadas.
A.0	25 julio 2019	<ul style="list-style-type: none">• Documento nuevo. Se ha convertido el documento anterior (MAN0013916 PrioCHECK Salmonella Ab porcine 2.0 serum 5 plt 7610660 v1.2_es_160621-ESL_final.docx) a la plantilla del documento actual, con actualizaciones asociadas a la información sobre la licencia limitada, la garantía, las marcas comerciales y logotipos.• El nombre del producto ha cambiado de PrioCHECK Salmonella Ab porcine 2.0 a PrioCHECK Porc. Salmonella Ab 2.0 Strip Kit.

Información importante sobre licencias: Este producto puede estar cubierto por una o más licencias de etiquetado de uso limitado. Mediante el uso de este producto, acepta los términos y condiciones de todas las licencias de etiquetado de uso limitado aplicables.

©2020 Thermo Fisher Scientific Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales son propiedad de Thermo Fisher Scientific y sus subsidiarias a menos que se especifique lo contrario.