

# Manual de uso del kit *cattletype*<sup>®</sup> MAP Ab



5 (n.º de referencia 270803)



20 (n.º de referencia 270805)\*

Para la detección de anticuerpos de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*

Registrado conforme al artículo 17c de la ley alemana sobre enfermedades de animales (FluB 471)

**REF**

270803, 270805\*



QIAGEN Leipzig GmbH, Deutscher Platz 5b, 04103 Leipzig,  
Alemania



\* Disponible únicamente a petición.

## **QIAGEN: tecnologías para la preparación de muestras y ensayos de biología molecular**

QIAGEN es el proveedor líder de tecnologías innovadoras para la preparación de muestras y ensayos de biología molecular que permiten el aislamiento y la detección del contenido de cualquier muestra biológica. Nuestros productos y servicios de vanguardia y máxima calidad garantizan el éxito, desde la muestra hasta el resultado.

### **QIAGEN define los estándares en los siguientes campos:**

- Purificación de ADN, ARN y proteínas
- Ensayos de ácidos nucleicos y proteínas
- Investigación con microARN y ARNi
- Automatización de tecnologías de preparación de muestras y ensayos de biología molecular

Nuestra misión es ayudarle a superar sus retos y a alcanzar un éxito excepcional. Para obtener más información, visite [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Asimismo, QIAGEN proporciona soluciones moleculares fáciles de utilizar y con excelente calidad y sensibilidad para la detección de patógenos en el ámbito veterinario y la investigación de patógenos de animales. La gama de soluciones veterinarias de QIAGEN incluye una amplia selección de ensayos PCR para patógenos específicos así como una extensa y creciente lista de ensayos ELISA. Para obtener más información, visite [www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing](http://www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing).

## Contenido

<b>Contenido del kit</b>	<b>4</b>
<b>Uso previsto</b>	<b>5</b>
<b>Símbolos</b>	<b>5</b>
<b>Almacenamiento</b>	<b>6</b>
<b>Información de seguridad</b>	<b>6</b>
<b>Control de calidad</b>	<b>7</b>
<b>Introducción</b>	<b>7</b>
Principio	8
<b>Equipo y reactivos que debe suministrar el usuario</b>	<b>9</b>
<b>Precauciones generales</b>	<b>10</b>
<b>Protocolos:</b>	
■ <b>Procedimiento de prueba ELISA para muestras de suero y plasma</b>	<b>12</b>
■ <b>Procedimiento de prueba ELISA para muestras de leche</b>	<b>14</b>
<b>Interpretación de los resultados</b>	<b>16</b>
Criterios de validación	16
<b>Guía de resolución de problemas</b>	<b>18</b>
<b>Información para pedidos</b>	<b>19</b>
<b>Guía rápida</b>	<b>21</b>
<b>Interpretación de los resultados</b>	<b>21</b>

## Contenido del kit

<i>cattletype</i> MAP Ab		
N.º de referencia	270803	270805*
Número de placas	5	20
Test Plate (placa de prueba): placa de microtítulo con 96 pocillos, recubierta de antígeno MAP no infeccioso	5	20
Sample diluent (diluyente de muestras), listo para utilizar	1 x 100 ml	1 x 400 ml
Negative Control (control negativo), listo para utilizar	1 x 3,5 ml	2 x 3,5 ml
Positive Control (control positivo), listo para utilizar	1 x 3,5 ml	2 x 3,5 ml
Wash buffer (tampón de lavado), (10x)	3 x 125 ml	2 x 500 ml
Conjugate (conjugado), listo para utilizar	1 x 60 ml	1 x 240 ml
TMB substrate (sustrato TMB), listo para utilizar	1 x 60 ml	1 x 240 ml
Stop solution (solución de parada), lista para utilizar	1 x 60 ml	1 x 240 ml
Manual de uso	1	1

\* Disponible únicamente a petición.

## Uso previsto

El kit *cattletype* MAP Ab es un ensayo ELISA indirecto para la detección de anticuerpos de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* (MAP) en muestras de suero, plasma y leche procedentes de ganado vacuno, ovino y caprino. Este kit está certificado por el Friedrich-Loeffler-Institut y registrado conforme al artículo 17c de la ley alemana sobre enfermedades de animales (FLI-B 471) para su uso en Alemania en procedimientos de diagnóstico veterinario. Para uso exclusivo en el ámbito veterinario.

## Símbolos



Contiene reactivos para <N> pruebas



Fabricante legal



Número de lote



Fecha de caducidad



Límites de temperatura para almacenamiento



Manual de uso



Número de referencia



Número de material



Proteger de la luz



Para muestras de ganado vacuno, ovino y caprino

## Almacenamiento

Los componentes del kit ELISA *cattletype* MAP Ab deben almacenarse a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C y permanecen estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El tampón de lavado (10x) y la solución de parada pueden almacenarse a temperatura ambiente (18-25 °C) para evitar la cristalización de sales. Si el kit se suministra con tiras reactivas, almacene las tiras reactivas sobrantes en la bolsa de aluminio con cierre junto con desecante a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C hasta el próximo uso. Las tiras reactivas pueden almacenarse durante 6 semanas como mínimo después de abrir la bolsita de las placas.

## Información de seguridad

Siempre que trabaje con productos químicos, utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Para obtener más información, consulte las hojas de datos correspondientes sobre seguridad (SDS). Puede obtenerlas en línea en el práctico y compacto formato PDF en [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), desde donde también podrá buscar, ver e imprimir las hojas de datos SDS de todos los kits y componentes de los kits QIAGEN.



**PRECAUCIÓN: la solución de parada contiene 0,5 M de ácido sulfúrico.**

Todos los residuos de muestras y los objetos que han estado en contacto con las mismas deben descontaminarse o eliminarse como material potencialmente infeccioso.

## Información para emergencias disponible las 24 horas

En caso de accidentes o emergencias químicas, existe un servicio de asistencia disponible las 24 horas del día por parte de:

CHEMTREC

**EE.UU. y Canadá** ■ Tel: 1-800-424-9300

**Fuera de EE.UU. y Canadá** ■ Tel: +1-703-527-3887

(se aceptan llamadas a cobro revertido)

## Control de calidad

En cumplimiento del sistema de gestión de calidad con certificación ISO de QIAGEN, cada lote del kit *cattletype* MAP Ab se analiza en relación con especificaciones predeterminadas para garantizar la uniformidad de la calidad del producto.

## Introducción

El kit *cattletype* MAP Ab es una solución de alta sensibilidad para la detección de anticuerpos de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* (MAP). MAP es el agente causante de la paratuberculosis, también conocida como enfermedad de Johne. La paratuberculosis es una enfermedad infecciosa, crónica e incurable que presenta un largo período de incubación y se caracteriza por una pérdida de peso excesiva y diarrea persistente en el ganado vacuno durante la fase final de la enfermedad. La bacteria MAP se propaga por todo el mundo entre los rumiantes. El kit *cattletype* MAP Ab permite la detección semicuantitativa de anticuerpos anti-MAP y se puede utilizar con muestras de suero, plasma y leche.

## Principio

Las muestras se diluyen e incuban previamente con un diluyente de muestras que contiene extracto de *Mycobacterium phlei* inactivado para minimizar las reacciones cruzadas con microbacterias atípicas. La placa de microtítulo está recubierta de antígeno de MAP. Durante la incubación de la muestra, los anticuerpos específicos de MAP se unen al antígeno inmovilizado. El material sin unir se elimina mediante aclarado. El conjugado anti-IgG peroxidasa detecta los anticuerpos unidos al antígeno. El conjugado sin unir se elimina mediante aclarado. Al añadir solución de sustrato se inicia una reacción colorimétrica que se detiene trascurridos 10 minutos. Si se detecta la presencia de anticuerpos específicos de MAP en la muestra, la HRP cataliza una reacción de color azul que se vuelve amarillo después de añadir la solución de parada. La densidad óptica (DO) se mide mediante un espectrofotómetro. Los valores de DO se correlacionan con la concentración de anticuerpos anti-MAP de la muestra.

## Equipo y reactivos que debe suministrar el usuario

Siempre que trabaje con productos químicos, utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Para obtener más información, consulte las hojas de datos correspondientes sobre seguridad (SDS), que puede solicitar al proveedor del producto.

- Vasos de precipitado
- Cilindros de medición
- Pipetas (ajustables)
- Pipetas multicanal (ajustables)
- Aluminio o lámina adhesiva para cubrir la placa de prueba
- Dispositivo para el suministro y la aspiración de solución de lavado (opcional)
- Lector de absorbancia de placa de microtítulo
- Tubos o placas para diluir las muestras
- Agua destilada

## Precauciones generales

El usuario debe proceder siempre de acuerdo a las siguientes recomendaciones:

- No exponga la solución de sustrato TMB a luz intensa o a la luz solar durante la realización de la prueba.
- Evite que los componentes del kit de prueba se contaminen o mezclen con los componentes de otros lotes.
- No utilice los componentes del kit de prueba si están caducados.
- El agua procedente de sistemas de intercambio iónico utilizada para diluir la solución de lavado (10x) puede interferir con el ensayo si no es lo suficientemente pura. La calidad de agua adecuada es la correspondiente al agua doblemente destilada o al agua de alta pureza (Milli-Q).
- A fin de obtener unos resultados precisos de la prueba, es imprescindible utilizar dispositivos de cristal limpios, pipetear y aclarar con atención durante la prueba y respetar de forma estricta los tiempos de incubación indicados.

## Antes de comenzar

- Permita que los reactivos se equilibren a temperatura ambiente (18-25 °C) inmediatamente antes de su uso. Si se han precipitado cristales de sal en el tampón de lavado (10x), disuélvalos agitando suavemente y aplicando calor.

**Tampón de lavado:** diluya el tampón de lavado (10x) con agua destilada en una proporción de 1:10; p. ej., para una placa de prueba, diluya 25 ml de tampón de lavado (10x) en 225 ml de agua destilada y mezcle.

**Suero/Plasma:** antes del análisis de la muestra, diluya las muestras de suero/plasma con diluyente de muestras en una proporción de **1:20** (p. ej., diluya 10 µl de muestra en 190 µl de diluyente de muestras) y mezcle bien. Utilice tubos de plástico o placas de microtítulo sin recubrimiento para la dilución y la preincubación. Cambie las puntas de las pipetas para cada muestra.

**Muestras de leche:** antes de proceder a su análisis, las muestras de leche se deben desgrasar. Centrifugue las muestras de leche entera durante 10 minutos a 3.000 x g a una temperatura de 10 °C o almacene las muestras a 2-8 °C durante toda la noche. A continuación, retire la crema de la leche.

**Obtenga una muestra de leche de debajo de la nata. Si es necesario, utilice una punta distinta para el muestreo y para la introducción en la capa de nata. Evite que la nata se transfiera a los pocillos de la placa de microtítulo, ya que podrían producirse reacciones no específicas.**

Diluya la leche descremada con diluyente de muestras en una proporción de **1:2** (p. ej., diluya 70 µl de muestra en 70 µl de diluyente de muestras) y mezcle bien. Cambie las puntas de las pipetas para cada muestra.

- Los **controles** se suministran listos para utilizar y no requieren dilución.

# Protocolo 1: procedimiento de prueba ELISA para muestras de suero y plasma

Consulte el apartado "Antes de comenzar" en la página 10.

## Procedimiento

1. **Incube previamente las muestras diluidas durante 1-2 h a temperatura ambiente o durante toda la noche (12-18 horas) a 2-8 °C.**

Cierre los tubos de plástico y cubra la placa de preincubación (con una tapa o una lámina adhesiva).

2. **Pipetee 100 µl de control negativo (por duplicado) y control positivo (por duplicado) en los pocillos correspondientes.**
3. **Pipetee 100 µl de las muestras preincubadas en el resto de los pocillos y mezcle.**

Registre las posiciones de los controles y las muestras en un protocolo de prueba. Se recomienda la utilización de una pipeta multicanal para la transferencia de muestras. Cubra la placa de prueba.

4. **Incube durante 30 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C).**
5. **Retire la solución de los pocillos mediante aspiración o golpecitos suaves.**
6. **Aclare cada pocillo 3 veces con 300 µl de tampón de lavado preparado. Retire el tampón después de cada aclarado.**
7. **Pipetee 100 µl de conjugado listo para utilizar en cada pocillo e incube durante 30 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C).**
8. **Retire la solución de los pocillos mediante aspiración o golpecitos suaves.**

9. **Aclare cada pocillo 3 veces con 300 µl de tampón de lavado preparado. Retire el tampón después de cada aclarado.**
10. **Pipetee 100 µl de solución de sustrato TMB en cada pocillo.**
11. **Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Comience a medir el tiempo después de llenar el primer pocillo.**
12. **Detenga la reacción añadiendo 100 µl de solución a cada pocillo. Añada la solución de parada en el mismo orden en que se añadió la solución de sustrato.**
13. **Mida la DO en el lector de placas a 450 nm en un periodo de 20 minutos tras la parada de la reacción.**

La medición a una longitud de onda de referencia (620-650 nm) es opcional.

## Protocolo 2: procedimiento de prueba ELISA para muestras de leche

Consulte el apartado "Antes de comenzar" en la página 10.

### Procedimiento

- 1. Preincube las muestras diluidas durante 1-2 h a temperatura ambiente.**  
Cierre los tubos de plástico y cubra la placa de preincubación (con una tapa o una lámina adhesiva).
- 2. Pipetee 50 µl de diluyente de muestras en 4 pocillos de la placa de prueba. Pipetee por duplicado 50 µl de control negativo y positivo en los pocillos predeterminados y mezcle bien.**
- 3. Pipetee 100 µl de las muestras de leche preincubadas en los pocillos de la placa de prueba.**  
Registre las posiciones de los controles y las muestras en un protocolo de prueba. Se recomienda la utilización de una pipeta multicanal para la transferencia de muestras. Cubra la placa de prueba.
- 4. Incube durante toda la noche a temperatura ambiente (2-8 °C).**
- 5. Retire la solución de los pocillos mediante aspiración o golpecitos suaves.**
- 6. Aclare cada pocillo 3 veces con 300 µl de tampón de lavado preparado. Retire el tampón después de cada aclarado.**
- 7. Pipetee 100 µl de conjugado listo para utilizar en cada pocillo e incube durante 30 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C).**
- 8. Retire la solución de los pocillos mediante aspiración o golpecitos suaves.**

9. **Aclare cada pocillo 3 veces con 300  $\mu$ l de tampón de lavado preparado. Retire el tampón después de cada aclarado.**
10. **Pipetee 100  $\mu$ l de solución de sustrato TMB en cada pocillo.**
11. **Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Comience a medir el tiempo después de llenar el primer pocillo.**
12. **Detenga la reacción añadiendo 100  $\mu$ l de solución a cada pocillo. Añada la solución de parada en el mismo orden en que se añadió la solución de sustrato.**
13. **Mida la DO en el lector de placas a 450 nm en un periodo de 20 minutos tras la parada de la reacción.**

La medición a una longitud de onda de referencia (620-650 nm) es opcional.

# Interpretación de los resultados

## Criterios de validación

Los resultados serán válidos si se cumplen los criterios siguientes:

- El valor medio (VM) de la DO medida para el control positivo (CP) es  $\geq 0,7$ .
- El valor medio (VM) de la DO medida para el control negativo (CN) es  $\leq 0,2$ .

En el caso de obtener ensayos no válidos, repita la prueba después de realizar una revisión minuciosa de las instrucciones de uso.

## Cálculo

Calcule los valores medios (VM) de la DO medida para el control negativo (CN) y el control positivo (CP).

El cociente (M/P) de la DO de la muestra con respecto a la DO media del control positivo se calcula de acuerdo con la ecuación siguiente:

$$M/P = \frac{DO_{\text{muestra}} - VM DO_{\text{CN}}}{VM DO_{\text{CP}} - VM DO_{\text{CN}}}$$

## Interpretación de los datos para las muestras de suero y plasma

**Las muestras con un cociente M/P < 0,4 se consideran negativas.**

No se han podido detectar anticuerpos específicos de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*.

**Las muestras con un cociente M/P  $\geq$  0,4 se consideran positivas.**

Se han detectado anticuerpos específicos de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*.

## Interpretación de los datos para las muestras de leche

**Las muestras con un cociente M/P < 0,6 se consideran negativas.**

No se han podido detectar anticuerpos específicos de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*.

**Las muestras con un cociente M/P  $\geq$  0,6 se consideran positivas.**

Se han detectado anticuerpos específicos de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*.

## **Guía de resolución de problemas**

Los científicos del servicio técnico de QIAGEN se encargarán de responder cualquier pregunta que tenga sobre la información y los protocolos de este manual, así como sobre las tecnologías para la preparación de muestras y ensayos de biología molecular (encontrará la información de contacto en la contraportada o en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Información para pedidos

Producto	Contenido	Referencia
<i>cattletype</i> MAP Ab (5)	Para 480 reacciones: 5 placas de prueba (tiras), solución de lavado, diluyente de muestras, control positivo, control negativo, conjugado, solución de sustrato TMB, solución de parada	270803
<i>cattletype</i> MAP Ab (20)*	Para 1.920 reacciones: 20 placas de prueba (sólidas), solución de lavado, diluyente de muestras, control positivo, control negativo, conjugado, solución de sustrato TMB, solución de parada	270805
<b>Productos relacionados</b>		
<i>cattletype</i> BHV1 gB Ab (5)†	Para 480 reacciones: 5 placas de prueba (tiras), solución de lavado, diluyente de muestras, control positivo, control negativo, conjugado, solución de sustrato TMB, solución de parada	270043
<i>cattletype</i> Milk Prep Kit (50)	Reactivo de precipitación, tampón de neutralización, matriz, tampón de elución, filtros de centrifugado, tubos de recogida	271906

\* Disponible únicamente a petición.

† Otros tamaños de kit disponibles; consulte [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

QIAGEN ofrece una amplia gama de kits ELISA así como kits PCR en tiempo real y RT-PCR en tiempo real para la detección de patógenos de animales. Visite [www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing](http://www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing) para obtener más información sobre los productos *bactotype*<sup>®</sup>, *cador*<sup>®</sup>, *cattletype*, *flocktype*<sup>®</sup>, *pigtype*<sup>®</sup> y *virotype*<sup>®</sup>.

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual de usuario o el manual de uso del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales de usuario y los manuales de uso de los kits de QIAGEN están disponibles en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) y también pueden solicitarse a los servicios técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

## Guía rápida

Dilución de la muestra:

Suero/Plasma 1:20

Leche 1:2

Paso	Suero/Plasma	Leche
1. Preincubación	1-2 h a temp. ambiente o toda la noche a 2-8 °C	1-2 h a temp. ambiente
2. Transferencia	100 µl/pocillo	
3. Incubación	30 min en tiempo real	Incube durante toda la noche a 2-8 °C
4. Lavado	3 x 300 µl	
5. Conjugado	100 µl/pocillo	
6. Incubación	30 min en tiempo real	
7. Lavado	3 x 300 µl	
8. TMB	100 µl/pocillo	
9. Incubación	10 min en tiempo real	
10. Parada	100 µl/pocillo	
11. Lectura	450 nm	

## Interpretación de los resultados

Muestra	Negativa	Positiva
Suero/Plasma	M/P < 0,4	M/P ≥ 0,4
Leche	M/P < 0,6	M/P ≥ 0,6

Notas

Marcas comerciales: QIAGEN®, *bactotype*®, *cattletype*®, *flocktype*®, *pigtype*®, *viratype*® (Grupo QIAGEN). Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc. utilizados en este documento, incluso cuando no aparecen marcados como tales, están protegidos por la legislación.

La utilización de este producto implica por parte de cualquier comprador o usuario del producto la aceptación de los siguientes términos:

1. El producto debe utilizarse exclusivamente de acuerdo con los protocolos proporcionados con el producto y este manual de uso, así como con los componentes contenidos en el kit. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para utilizar o incorporar los componentes suministrados en estos kits con componentes no incluidos en los mismos, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, este manual de uso y otros protocolos disponibles en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Algunos de estos protocolos adicionales han sido proporcionados por usuarios de QIAGEN para otros usuarios. QIAGEN no ha probado ni optimizado estos protocolos en profundidad. Por ello, QIAGEN no los garantiza ni asegura que no infrinjan los derechos de terceros.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que estos kits ni su(s) uso(s) no infrinjan los derechos de terceros.
3. Este kit y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no se pueden reutilizar, reacondicionar ni revender.
4. QIAGEN renuncia específicamente a cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario de los kits aceptan no realizar ni permitir a otros realizar ningún paso que pueda conducir a acciones prohibidas en las especificaciones anteriores o que pueda facilitarlas. QIAGEN se reserva el derecho de emprender acciones legales ante cualquier tribunal para el cumplimiento de las prohibiciones especificadas en este Acuerdo de licencia limitada, y recuperará todos los gastos derivados de la investigación y de los costes del juicio, incluidos los honorarios de abogacía, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual con relación a este kit y con sus componentes.

Para obtener los términos actualizados de la licencia, visite [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2013 QIAGEN, reservados todos los derechos.

---

**www.qiagen.com**

**Australia** ■ techservice-au@qiagen.com

**Austria** ■ techservice-at@qiagen.com

**Belgium** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Brazil** ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

**China** ■ techservice-cn@qiagen.com

**Denmark** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Finland** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**France** ■ techservice-fr@qiagen.com

**Germany** ■ techservice-de@qiagen.com

**Hong Kong** ■ techservice-hk@qiagen.com

**India** ■ techservice-india@qiagen.com

**Ireland** ■ techservice-uk@qiagen.com

**Italy** ■ techservice-it@qiagen.com

**Japan** ■ techservice-jp@qiagen.com

**Korea (South)** ■ techservice-kr@qiagen.com

**Luxembourg** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Mexico** ■ techservice-mx@qiagen.com

**The Netherlands** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Norway** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Singapore** ■ techservice-sg@qiagen.com

**Sweden** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Switzerland** ■ techservice-ch@qiagen.com

**UK** ■ techservice-uk@qiagen.com

