

# Manual de uso del kit *flocktype*<sup>®</sup> Mycoplasma Ms Ab



2 (n.º de referencia 274602)



5 (n.º de referencia 274603)\*

Para la detección de anticuerpos  
de *Mycoplasma synoviae*

Registrado conforme al artículo 17c de la ley alemana  
sobre enfermedades de animales (FluB 432)

**REF**

274602, 274603\*



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	9
<b>Equipo y reactivos que debe suministrar el usuario</b>	<b>10</b>
<b>Precauciones generales</b>	<b>11</b>
<b>Protocolo:</b>	
■ <b>ELISA</b>	<b>13</b>
<b>Interpretación de los datos</b>	<b>15</b>
Criterios de validación	15
<b>Guía de resolución de problemas</b>	<b>17</b>
<b>Información para pedidos</b>	<b>18</b>
<b>Guía rápida</b>	<b>22</b>
<b>Interpretación de los datos</b>	<b>22</b>

## Contenido del kit

<b><i>flocktype</i> Mycoplasma Ms Ab</b>		
<b>N.º de referencia</b>	<b>274602</b>	<b>274603*</b>
<b>Número de placas</b>	<b>2</b>	<b>5</b>
Test Plate (placa de prueba): placa de microtítulo con 96 pocillos, recubierta de antígeno Ms no infeccioso	2	5
Sample diluent (diluyente de muestras), listo para utilizar	1 x 125 ml	2 x 125 ml
Negative Control (control negativo), listo para utilizar	1 x 3,5 ml	1 x 3,5 ml
Positive Control (control positivo), listo para utilizar	1 x 3,5 ml	1 x 3,5 ml
Wash buffer (tampón de lavado) (10x)	1 x 125 ml	2 x 125 ml
Conjugate (conjugado), listo para utilizar	1 x 24 ml	1 x 60 ml
TMB substrate (sustrato TMB), listo para utilizar	1 x 24 ml	1 x 60 ml
Stop solution (solución de parada), lista para utilizar	1 x 24 ml	1 x 60 ml
Handbook (manual de uso)	1	1

\* Disponible únicamente a petición.

## Uso previsto

El kit *flocktype Mycoplasma Ms Ab* es un ensayo ELISA específico de alta sensibilidad para la detección de anticuerpos de *Mycoplasma synoviae* en muestras de suero y plasma de pollo y pavo. Este kit está certificado por el Friedrich-Loeffler-Institut y registrado conforme al artículo 17c de la ley alemana sobre enfermedades de animales (Flu-B 432) para su uso en Alemania en procedimientos de diagnóstico veterinario. Para uso exclusivo en el ámbito veterinario.

## Símbolos

	Contiene reactivos para <N> placas
	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 pollo y pavo

## Almacenamiento

Los componentes del kit ELISA *flocktype* Mycoplasma Ms 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 24 horas al 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 *flocktype* Mycoplasma Ms Ab se analiza en relación con especificaciones predeterminadas para garantizar la uniformidad de la calidad del producto.

## **Introducción**

El kit *flocktype* Mycoplasma Ms Ab es una solución específica de alta sensibilidad para la detección de anticuerpos de *Mycoplasma synoviae* (*M. synoviae*) en muestras de suero y plasma de pollo y pavo.

La presencia de *Mycoplasma synoviae* es de ámbito mundial y provoca enfermedades respiratorias crónicas en las aves. La infección sistémica desencadena una sinovitis infecciosa. La gravedad de la infección depende de las infecciones secundarias. Los *micoplasmas* se adhieren al epitelio respiratorio y a los eritrocitos. La respuesta inmunitaria celular se traduce en

infecciones por *M. synoviae*, aunque la producción de anticuerpos específicos también puede ser la respuesta a infecciones y vacunas.

El ensayo *flocktype* Mycoplasma Ms Ab utiliza una proteína de membrana de *Mycoplasma synoviae* preparada como antígeno mediante tecnología recombinante. Esta proteína presenta un elevado nivel de conservación entre las cepas de *Mycoplasma synoviae*, además de una gran capacidad inmunogénica.

El ensayo *flocktype* Mycoplasma Ms Ab en combinación con el programa FlockSoft™ es capaz de calcular el título de anticuerpos en pollos/pavos y de mostrar los resultados cuantitativamente.

## Principio

La placa de microtítulo está recubierta de una proteína recombinante específica para *M. synoviae*. Durante la incubación de la muestra, los anticuerpos específicos de Ms se unen al antígeno inmovilizado. El material sin unir se elimina mediante aclarado. El conjugado anti-IgY con HRP detecta anticuerpos del suero 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 Ms 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 están relacionados con la concentración de anticuerpos anti-Ms 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 **1:500** (p. ej., diluya 1  $\mu$ l de muestra en 499  $\mu$ l de diluyente de muestras) y mezcle bien. Utilice tubos de plástico o placas de microtítulo sin recubrimiento para la dilución. Cambie las puntas de las pipetas para cada muestra. También es posible diluir las muestras de suero/plasma a partir de una predilución (1:50 en diluyente de muestras) directamente en la placa de prueba (consulte el paso 1a del procedimiento).

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

## Protocolo: ELISA

Consulte el apartado “Antes de comenzar” en la página 11.

### Procedimiento

1. Pipetee 100  $\mu$ l de cada uno de los controles listos para utilizar, control negativo y control positivo (por duplicado), y las muestras diluidas en una proporción de 1:500, en los pocillos de la placa de prueba.
  - 1a. También puede pipetear 90  $\mu$ l de diluyente de muestras en cada pocillo de muestra y añadir luego 10  $\mu$ l de la muestra prediluida en una proporción de 1:50. Mezcle bien.

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

7. Aclare cada pocillo 3 veces con 300  $\mu$ l de tampón de lavado preparado. Retire el tampón después de cada aclarado.
8. Pipetee 100  $\mu$ l de solución de sustrato TMB en cada pocillo.
9. Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Comience a medir el tiempo después de llenar el primer pocillo.
10. 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.
11. 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 datos

### 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:

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

Los títulos de punto final se calculan a partir del cociente M/P diluido con una concentración de 1:500 y utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Log}_{10} \text{Título} = 1,12 (\text{Log}_{10} S/P) + 3,83$$

## Interpretación de los resultados

**Las muestras con un cociente M/P < 0,1 se consideran negativas.**

No se han podido detectar anticuerpos específicos de *M. synoviae*.

**Las muestras con un cociente M/P  $\geq$  0,1 y < 0,2 se consideran dudosas.**

Los resultados dudosos deben agruparse con la mayoría de resultados positivos o negativos. Se recomienda volver a analizar los resultados dudosos al cabo de unas semanas.

**Las muestras con un cociente M/P  $\geq$  0,2 se consideran positivas.**

Se han detectado anticuerpos específicos de *M. synoviae*.

Para obtener resultados de diagnóstico serológico se recomienda identificar el patógeno obtenido de los exudados traqueales mediante PCR en tiempo real (p. ej., con el kit *bactotype*<sup>®</sup> Mycoplasma Mg/Ms PCR).

## **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	N.º ref.
<i>flocktype</i> Mycoplasma Ms Ab (2)	Para 192 reacciones: 2 placas de prueba (tiras), tampón de lavado, diluyente de muestras, control positivo, control negativo, conjugado, solución de sustrato TMB, solución de parada	274602
<i>flocktype</i> Mycoplasma Ms Ab (5)*	Para 480 reacciones: 5 placas de prueba, tampón de lavado, diluyente de muestras, control positivo, control negativo, conjugado, solución de sustrato TMB, solución de parada	274603
<b>Productos relacionados</b>		
<i>flocktype</i> Mycoplasma Mg Ab (2)†	Para 192 reacciones: 2 placas de prueba (tiras), tampón de lavado, diluyente de muestras, control positivo, control negativo, conjugado, solución de sustrato TMB, solución de parada	274502
<i>flocktype</i> Mycoplasma Mg/Ms Ab (5)†	Para 480 reacciones: 5 placas de prueba, tampón de lavado, diluyente de muestras, control positivo, control negativo, conjugado, solución de sustrato TMB, solución de parada	274803

\* Disponible únicamente a petición.

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

<b>Producto</b>	<b>Contenido</b>	<b>N.º ref.</b>
<i>bactotype</i> Mycoplasma Mg/Ms PCR Kit (96)*	Para 96 reacciones: mezcla maestra, control positivo, control negativo	288105
<i>flocktype</i> IBV Ab (2)*	Para 192 reacciones: 2 placas de prueba (tiras), tampón de lavado, diluyente de muestras, control positivo, control negativo, conjugado, solución de sustrato TMB, solución de parada	274302
<i>flocktype</i> IBDV Ab (2)*	Para 192 reacciones: 2 placas de prueba (tiras), tampón de lavado, diluyente de muestras, control positivo, control negativo, conjugado, solución de sustrato TMB, solución de parada	274202
<i>flocktype</i> AIV Ab (2)*	Para 192 reacciones: 2 placas de prueba (tiras), tampón de lavado, diluyente de muestras, control positivo, control negativo, conjugado, solución de sustrato TMB, solución de parada	274012
<i>flocktype</i> NDV Ab (2)*	Para 192 reacciones: 2 placas de prueba (tiras), tampón de lavado, diluyente de muestras, control positivo, control negativo, conjugado, solución de sustrato TMB, solución de parada	275002

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

Producto	Contenido	N.º ref.
<i>flocktype</i> Salmonella Ab (2)*	Para 192 reacciones: 2 placas de prueba (tiras), tampón de lavado, diluyente de muestras, control positivo, control negativo, conjugado, solución de sustrato TMB, solución de parada	275702

\* 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 en 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*, *cador*<sup>®</sup>, *cattletype*<sup>®</sup>, *flocktype*, *pigtype*<sup>®</sup> y *virotype*<sup>®</sup>.

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual de uso o la guía del usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales de uso y las guías del usuario 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 1:500

<b>Paso</b>	
1. Muestra	100 µl/pocillo
2. Incubación	30 min. en tiempo real
3. Lavado	3 × 300 µl
4. Conjugado	100 µl/pocillo
5. Incubación	30 min. en tiempo real
6. Lavado	3 × 300 µl
7. TMB	100 µl/pocillo
8. Incubación	10 min. en tiempo real
9. Parada	100 µl/pocillo
10. Lectura	450 nm

## Interpretación de los datos

<b>Negativa</b>	<b>Dudosa</b>	<b>Positiva</b>
M/P < 0,1	M/P ≥ 0,1 y < 0,2	M/P ≥ 0,2

Marcas comerciales: QIAGEN®, *bactotype*®, *cador*®, *cattletype*®, *flocktype*®, FlockSoft™, *pigtype*®, *virotype*® (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

