Septiembre 2025 | ES

Manual del Kit
cattletype® BHV1 gE Ab

Para la detección de anticuerpos de la glucoproteína E del Bovine Herpesvirus 1

Certificado conforme al artículo 11 (2) de la ley alemana de sanidad animal, n.º MA: FLI-B 664

REF 5 placas (n.º de catálogo CT270203)

INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Deutscher Platz 5b,
04103 Leipzig, Alemania

INDICAL
BIOSCIENCE

Contenido

Contenido del kit 3
Uso previsto 3
Símbolos 4
Control de calidad 5
Almacenamiento 5
Información de seguridad 5
Introducción 7
Principio 7
Equipo y reactivos que debe suministrar el usuario 9
Notas importantes 10
Precauciones generales 10
Protocolo: procedimiento de prueba ELISA 11
Cuestiones importantes antes de comenzar 11
Antes de comenzar 11
Preparación de muestras de leche 11
Procedimiento de prueba para muestras de suero y plasma 12
Procedimiento de prueba para muestras de leche 14
Interpretación de los datos 16
Criterios de validación 16
Cálculo 16
Interpretación de los resultados 17
Índice de cambios 23
Guía rápida para cattletype BHV1 gE Ab 24

Contenido del kit

cattletype BHV1 gE Ab N.º de catálogo Número de placas	(5) CT270203 5
Test Plate (placa de prueba): placa de microvaloración con 96 pocillos, recubierta de antígeno BHV1 inactivo	5
Sample Diluent (diluyente de muestras), listo para utilizar	1 x 30 ml
Negative Control (control negativo), listo para utilizar	1 x 3,5 ml
Positive Control (control positivo), listo para utilizar	1 x 3,5 ml
Wash Buffer (tampón de lavado), concentrado 10×	3 x 125 ml
Conjugate (conjugado), listo para utilizar	1 x 60 ml
TMB Substrate (sustrato TMB), listo para utilizar	1 x 60 ml
Solución de parada (Stop Solution), lista para utilizar	1 x 60 ml
Manual	1

Uso previsto

El cattletype BHV1 gE Ab es un enzimoinmunoanálisis (ELISA). Se ha diseñado para detectar anticuerpos de la glucoproteína E de Bovine

Herpesvirus 1 (BHV1) en muestras de suero, plasma y leche procedentes de ganado infectado por el BHV1.

Este kit está autorizado por el Friedrich-Loeffler-Institut y ha sido certificado conforme al artículo 11 (2) de la ley alemana de sanidad animal (FLI-B 664) para su uso en Alemania en procedimientos de diagnóstico veterinario.

Para uso exclusivo en el ámbito veterinario.

Símbolos

Fabricante legal

Número de lote

Fecha de caducidad

Límites de temperatura para almacenamiento

Manual

Número de catálogo

Número de material

Para muestras de ganado

Control de calidad

En cumplimiento del sistema de gestión de calidad con certificación ISO de INDICAL, cada lote del cattletype BHV1 gE Ab se analiza en relación con especificaciones predeterminadas para garantizar la uniformidad de la calidad del producto.

Almacenamiento

Los componentes del kit para ensayo ELISA cattletype BHV1 gE Ab deben almacenarse a una temperatura de 2-8°C y permanecen estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El Wash Buffer (10x), el Sample Diluent y la Stop Solution pueden almacenarse a temperatura ambiente (18-25°C) para evitar la cristalización de sales. Si el kit se suministra con tiras reactivas, almacene las que sobren en la bolsa de aluminio con cierre junto con secante a una temperatura de 2-8°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

Cuando trabaje con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Para obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (Safety Data Sheet, SDS) correspondientes. Puede solicitarlas a su representante de ventas local o por correo electrónico a compliance@indical.com.

PRECAUCIÓN: La Stop Solution contiene ácido sulfúrico de 0,5 M.

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

Introducción

El cattletype BHV1 gE Ab es una solución de alta sensibilidad que sirve para detectar anticuerpos de la glucoproteína E (gE) de Bovine Herpesvirus 1 (BHV1) en muestras de suero, plasma y leche. BHV1 es el agente causante de rinotraqueítis infecciosa bovina (Infectious Bovine Rhinotracheitis, IBR), una enfermedad respiratoria que provoca traqueítis, rinitis y fiebre. Además, las infecciones por el BHV1 pueden provocar vulvovaginitis pustular infecciosa (Infectious Pustular Vulvovaginitis, IPV), balanopostitis y abortos.

A menudo, a la enfermedad clínica le acompaña una infección latente por el BHV1. La reactivación del virus puede provocar la propagación de la infección en el rebaño.

Los métodos serológicos normalizados no pueden diferenciar entre los animales infectados y los vacunados de forma natural, con la excepción de las vacunas contra la IBR, que no contienen la proteína vírica gE y, por lo tanto, permiten la diferenciación serológica. El cattletype BHV1 gE Ab detecta específicamente los anticuerpos de gE y no reacciona con los anticuerpos de las vacunas que tienen la gE suprimida. Por lo tanto, este método identifica a los animales infectados por cepas de campo de BHV1 o que se han vacunado con vacunas contra la IBR que no tienen la gE suprimida.

Principio

El cattletype BHV1 gE Ab es un ensayo ELISA de bloqueo. La Test Plate está recubierta de antígeno BHV1 inactivo. Durante la incubación de la muestra, los anticuerpos específicos de BHV1 se

unen al antígeno inmovilizado. El material sin unir se elimina mediante aclarado.

Se añade el conjugado del anticuerpo monoclonal específico de gE y etiquetado con la peroxidasa de rábano picante (horseradish peroxidase HRP), que no puede unirse al antígeno BHV1 mientras su determinante antigénico esté bloqueado por anticuerpos en la muestra de la prueba. Se aclara el conjugado anti-gE acoplado a la peroxidasa de rábano picante (HRP) sin unir. Al añadir la solución de sustrato, se inicia una reacción de color que se detiene trascurridos 10 minutos.

La densidad óptica (DO) se mide utilizando un espectrofotómetro. El valor de bloqueo (porcentaje de inhibición) se calcula a partir de los valores de DO obtenidos con la muestra de prueba y el Negative Control, que no contiene ningún anticuerpo específico de gE BHV1.

Equipo y reactivos que debe suministrar el usuario

Cuando trabaje con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Para obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (SDS) correspondientes, que puede solicitar al proveedor del producto.

- Vasos de precipitados
- Cilindros de medición
- Pipetas (ajustables)
- Pipetas multicanal (ajustables)
- Aluminio o lámina adhesiva para cubrir la Test Plate
- Opcional: dispositivo para el suministro y la aspiración de Wash Buffer
- Lector de absorbancia de placa de microvaloración
- Agua destilada

Notas importantes

Precauciones generales

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

- No exponga la TMB Substrate Solution a luz intensa o a la luz solar durante la realización de la prueba.
- Evite que los componentes del kit para la prueba se contaminen o mezclen con los componentes de otros lotes.
- No utilice los componentes del kit para la prueba si están caducados.
- El agua procedente de sistemas de intercambio iónico utilizada para diluir el Wash Buffer (10×) puede interferir con el ensayo si no es lo suficientemente pura. Utilice agua doblemente destilada o agua de alta pureza (p. ej., Milli-Q®).
- A fin de obtener resultados exactos de la prueba, es imprescindible utilizar material de cristal limpio y pipetear y aclarar con atención, así como respetar de forma estricta los tiempos de incubación indicados durante la prueba.

Protocolo: procedimiento de prueba ELISA

Cuestiones importantes antes de comenzar

- Lea el apartado “Notas importantes”, en la página 10, antes de comenzar.

Antes de comenzar

- Permita que los reactivos se equilibren a temperatura ambiente (18-25°C) inmediatamente antes de utilizarlos. Si se han precipitado cristales de sal en el Wash Buffer (10x), disuélvalos agitando suavemente y aplicando calor.
- Diluya el Wash Buffer (10x) con agua destilada en una proporción de 1:10. Por ejemplo, para una sola Test Plate, diluya 50 ml de Wash Buffer (10x) en 450 ml de agua destilada y mezcle.
- Muestras de suero/plasma: pueden utilizarse muestras de suero o plasma frescas, refrigeradas o previamente descongeladas.

Preparación de 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 3000 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.

Procedimiento de prueba para muestras de suero y plasma

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

Procedimiento

1. Pipetee 50 µl de Sample Diluent listo para utilizar en los pocillos de la Test Plate.
2. Pipetee 50 µl del Negative Control (por duplicado) y del Positive Control (por duplicado) en los pocillos correspondientes y mezcle.
3. Pipetee 50 µl de las muestras en el resto de los pocillos y mezcle.

   Nota: Registre las posiciones de los controles y las muestras en un protocolo de prueba. Mezcle mediante un agitador de placas o mediante la aspiración y dispensación del líquido varias veces. Cubra la Test Plate.
4. Incube durante toda la noche (16-22 h) a temperatura ambiente (18-25°C).
5. Retire la solución de los pocillos mediante aspiración o golpecitos suaves.
6. Aclare cada pocillo 5 veces con 300 µl de Wash Buffer preparado (1x). Retire el tampón después de cada aclarado mediante aspiración o golpecitos suaves.
7. Pipetee 100 µl de Conjugate 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 5 veces con 300 µl de Wash Buffer preparado (1x). Retire el tampón después de cada aclarado mediante aspiración o golpecitos suaves.
10. Pipetee 100 µl de TMB Substrate Solution 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 Stop Solution a cada pocillo. Añada la Stop Solution en el mismo orden en que se añadió la Substrate Solution.
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.

Procedimiento de prueba para muestras de leche

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

Procedimiento

1. Pipetee 100 µl del Negative Control (por duplicado) y del Positive Control (por duplicado) en los pocillos correspondientes.
2. Pipetee 100 µl de las muestras de leche desnatada en el resto de los pocillos.

   Nota: Registre las posiciones de los controles y las muestras en un protocolo de prueba. Cubra la Test Plate.
3. Incube durante toda la noche (16-22 h) a temperatura ambiente (18-25°C).
4. Retire la solución de los pocillos mediante aspiración o golpecitos suaves.
5. Aclare cada pocillo 5 veces con 300 µl de Wash Buffer preparado (1x). Retire el tampón después de cada aclarado mediante aspiración o golpecitos suaves.
6. Pipetee 100 µl de Conjugate listo para utilizar en cada pocillo e incube durante 30 minutos a temperatura ambiente (18-25°C).
7. Retire la solución de los pocillos mediante aspiración o golpecitos suaves.
8. Aclare cada pocillo 5 veces con 300 µl de Wash Buffer preparado (1x). Retire el tampón después de cada aclarado mediante aspiración o golpecitos suaves.

9. Pipetee 100 µl de TMB Substrate Solution en cada pocillo.
10. Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Comience a medir el tiempo después de llenar el primer pocillo.
11. Detenga la reacción añadiendo 100 µl de Stop Solution a cada pocillo. Añada la Stop Solution en el mismo orden en que se añadió la Substrate Solution.
12. 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 Negative Control (NC) debe ser ≥ 0,5.
- El valor de bloqueo calculado a partir del VM de la DO medida para el Positive Control (PC) debe ser ≥ 75 %.

En el caso de obtener ensayos no válidos, repita la prueba después de leer detenidamente las instrucciones de uso.

Cálculo

Calcule el VM de la DO medida para el Negative Control (NC) y el Positive Control (PC).

<u>Cálculo de las muestras de suero y plasma</u>

El valor de bloqueo se calcula según la siguiente ecuación:

$$\%\ \text{de bloqueo} = \frac{\text{VM DO}_{\text{NC}} - \text{DO}_{\text{muestra}}}{\text{VM DO}_{\text{NC}}} \times 100$$

Cálculo de las muestras de leche

El valor de bloqueo se calcula según la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de bloqueo} = \frac{(\text{VM DO}_{NC} \times 2) - \text{DO}_{muestra}}{(\text{VM DO}_{NC} \times 2)} \times 100$$

Interpretación de los resultados

Interpretación de los datos para las muestras de suero y plasma

- Las muestras con valores de bloqueo < 40 % son negativas.
  No han podido detectarse anticuerpos específicos de gE BHV1.
- Debe sospecharse de muestras con valores de bloqueo
  ≥ 40 % y < 50 %.
  Se recomienda volver a analizar a los animales con resultados sospechosos.
- Las muestras con valores de bloqueo ≥ 50 % son positivas.
  Se han detectado anticuerpos específicos de gE BHV1.

Interpretación de los datos para las muestras de leche

- Las muestras con valores de bloqueo < 35 % son negativas.
  No han podido detectarse anticuerpos específicos de gE BHV1.
- Las muestras con valores de bloqueo ≥ 35 % son positivas.
  Se han detectado anticuerpos específicos de gE BHV1.

Nota: En caso de que se obtengan resultados de la prueba negativos de muestras de leche individuales, se recomienda volver a analizar las muestras de suero o plasma de dichos animales para verificar el estado de BHV-1 de cada animal. Al analizar conjuntos o muestras de leche a granel, puede aumentarse la sensibilidad mediante protocolos adecuados para la concentración de inmunoglobulina procedente de la leche.

INDICAL ofrece una amplia gama de productos para apoyar las pruebas de patógenos animales, incluyendo kits ELISA, kits y reactivos de qPCR, Master Mixes y química de extracción de ácidos nucleicos, así como instrumentación para extracción automatizada.

Visita www.indical.com para obtener más información sobre los productos afosa, bactotype, cador, cattletype, flocktype, IndiField, IndiMag, IndiMix, IndiSpin, pigtype, SVANOVIR y virotype.

Para información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas de cada producto, consulta el manual o guía del usuario correspondiente.

Notas

Notas

Notas

Acuerdo de licencia limitada para el cattletype BHV1 gE Ab

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, así como con los componentes contenidos en el kit. INDICAL no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para incorporar o utilizar los componentes contenidos en este kit con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, en este manual y en los protocolos adicionales disponibles en www.indical.com. Algunos de estos protocolos adicionales los han proporcionado usuarios de INDICAL para usuarios de INDICAL. INDICAL no ha probado ni optimizado estos protocolos en profundidad. Por ello, INDICAL no los garantiza ni asegura que no infrinjan los derechos de terceros.

2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, INDICAL no garantiza que este kit y su uso 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. INDICAL niega específicamente cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.

5. El comprador y el usuario del kit aceptan no llevar a cabo ni permitir que otros lleven a cabo medidas que puedan conducir a acciones prohibidas en las especificaciones anteriores o que puedan facilitarlas. INDICAL 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 gastos judiciales, incluidos los costes procesales, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual en relación con este kit o con sus componentes.

Para obtener los términos actualizados de la licencia, visite www.indical.com.

Marcas comerciales: afosa, bactotype®, cador®, cattletype®, flocktype®, IndiField®, IndiMag®, IndiMix®, IndiSpin®, pigtype®, SVANOVIR®, virotype® (INDICAL BIOSCIENCE GmbH); Milli-Q® (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc. utilizados en este documento, incluso cuando no aparecen marcados como tales, están protegidos por la legislación.

HB-1833-ES-008 © 2018-2025 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, todos los derechos reservados.

Índice de cambios

Manual	Versión	Cambio
HB-1833-ES-008	Septiembre 2025	Terminación CT270205, cambios editoriales
HB-1833-ES-007	Mayo 2018	Diseño de INDICAL

Guía rápida para cattletype BHV1 gE Ab

Dilución de la muestra:

Suero, plasma 1:2, mezclar bien

Leche sin diluir

Paso	Protocolo
1. Muestra	100 µl/pocillo
2. Incubación	Durante toda la noche (16-22 h) a temperatura ambiente
3. Lavado	5 × 300 µl
4. Conjugado	100 µl/pocillo
5. Incubación	30 min a temp. ambiente
6. Lavado	5 × 300 µl
7. TMB	100 µl/pocillo
8. Incubación	10 min a temp. ambiente
9. Parada	100 µl/pocillo
10. Lectura	450 nm

Interpretación de los datos

	Negativa	Existe sospecha	Positiva
Suero, plasma	< 40 %	≥ 40 % y < 50 %	≥ 50 %
Leche	< 35 %	-	≥ 35 %

INDICAL BIOSCIENCE

Pedidos: www.indical.com/contact
Servicio técnico: support@indical.com
Sitio web: www.indical.com