

# Manual del pigtype® PRRSV Ab

Para la detección de anticuerpos del  
*Porcine Reproductive and Respiratory  
Syndrome Virus* (PRRSV)

---



5 placas (n.º de catálogo PT272753)



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

# Contenido

Contenido del kit.....	3
Uso previsto.....	4
Símbolos .....	4
Control de calidad.....	5
Almacenamiento.....	5
Información de seguridad .....	5
Introducción .....	7
Principio.....	7
Equipo y reactivos que debe suministrar el usuario .....	8
Notas importantes.....	9
Precauciones generales.....	9
Protocolo: procedimiento de prueba ELISA .....	10
Cuestiones importantes antes de comenzar.....	10
Antes de comenzar .....	10
Protocolo: ELISA.....	11
Interpretación de los datos.....	13
Criterios de validación .....	13
Cálculo .....	13
Interpretación de los resultados .....	14
Índice de cambios.....	15
Guía rápida para pigtype PRRSV Ab .....	16

## Contenido del kit

<b>pigtype PRRSV Ab</b>	<b>(5)</b>
<b>N.º de catálogo</b>	<b>PT272753</b>
<b>Número de placas</b>	<b>5</b>
Test Plate (placa de prueba): placa de microvaloración con 96 pocillos, recubierta de antígenos de PRRSV recombinantes inactivados específicos de EU y NA	5
Sample Diluent (diluyente de muestras), listo para utilizar	1 x 125 ml
Negative Control (control negativo), listo para utilizar	2 x 3,5 ml
Positive Control (control positivo), listo para utilizar	2 x 3,5 ml
Wash Buffer (tampón de lavado), concentrado 10x	2 x 125 ml
Conjugate (conjugado), listo para utilizar	1 x 60 ml
TMB Substrate (sustrato TMB), listo para utilizar	1 x 60 ml
Stop Solution (solución de parada), lista para utilizar	1 x 60 ml
Manual	1

# Uso previsto

El pigtype PRRSV Ab es un ensayo ELISA específico y sensible que sirve para detectar anticuerpos del *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus* (PRRSV) en muestras de suero y plasma procedentes de cerdos.

**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 porcinas

## Control de calidad

En cumplimiento del sistema de gestión de calidad con certificación ISO de INDICAL, cada lote del pigtype PRRSV 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 pigtype PRRSV Ab deben almacenarse a una temperatura comprendida entre 2-8°C y permanecen estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El Wash Buffer (10x) 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 comprendida entre 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](mailto: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

Las infecciones por el virus PRRSV son muy frecuentes y tienen un impacto económico negativo en el sector porcino.

El PRRSV es un virus ARN de la familia *Arteriviridae*, orden *Nidovirales*. Se han clasificado dos genotipos del virus PRRSV: el genotipo europeo (EU/I) y el norteamericano (NA/II). Las infecciones por el virus PRRSV pueden provocar enfermedades respiratorias en cochinitos y fallos reproductivos en cerdas embarazadas.

La serología se utiliza de forma extendida como una herramienta con fines de diagnóstico. El pigtype PRRSV Ab es una solución de altas sensibilidad y especificidad que sirve para detectar anticuerpos del virus PRRSV (tipos de virus NA y EU) en muestras de suero y plasma procedentes de cerdos. Por ello, es un método eficaz para supervisar el estado de vacunación o de infección de los ganados porcinos.

## Principio

El pigtype PRRSV Ab es un ensayo ELISA indirecto.

La placa de prueba de microvaloración está recubierta de antígenos de PRRSV recombinantes específicos de los tipos de virus norteamericano (North American, NA) y europeo (European, EU). Durante la incubación de la muestra, los anticuerpos específicos para PRRSV se unen al antígeno inmovilizado. El material sin unir se elimina mediante aclarado. Los anticuerpos que se han fijado al antígeno se detectan mediante un conjugado con peroxidasa de rábano (horseradish peroxidase, HRP). El conjugado sin unir se elimina mediante aclarado.

Al añadir Substrate Solution se inicia una reacción colorimétrica que se detiene trascurridos 10 minutos. Si se detecta la presencia de anticuerpos específicos para PRRSV en la muestra, se genera un color azul que se vuelve amarillo después de añadir la Stop Solution. La densidad óptica (DO) se mide mediante un espectrofotómetro a 450 nm. El valor de DO se correlaciona con la concentración de anticuerpos específicos para las cepas de los tipos NA y EU del PRRSV en la muestra.

## 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
- Tubos o placas para diluir las muestras
- 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 (10x) 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 9, antes de comenzar.
- Es posible diluir las muestras de suero y plasma antes del análisis o directamente en la Test Plate.
- Los controles se suministran listos para utilizar y no requieren dilución.

## 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.
- En caso necesario, es posible diluir las muestras de suero y plasma antes del análisis. Diluya las muestras de suero o plasma en Sample Diluent en una proporción de **1:40** (p. ej., diluya 5 µl de muestra en 195 µl de Sample Diluent) y mezcle bien. Utilice tubos de plástico o placas de microvaloración sin recubrimiento para la dilución. Utilice puntas de pipetas nuevas para cada muestra.

# Protocolo: ELISA

Lea el apartado “Antes de comenzar”, en la página 10.

## Procedimiento

1. Si utiliza muestras diluidas antes del análisis, vaya al paso 1a. Si las muestras se deben diluir en la Test Plate, vaya al paso 1b.
- 1a. Pipetee 100 µl de cada uno de los Negative Control (por duplicado) y de los Positive Control (por duplicado), así como las muestras de suero o plasma **diluidas previamente en una proporción 1:40** en los pocillos de la Test Plate. Continúe en el paso 2.

**Nota:** registre las posiciones de los controles y las muestras en un protocolo de prueba. Recomendamos la utilización de una pipeta multicanal para la transferencia de muestras. Cubra la Test Plate.

- 1b. Pipetee 100 µl de cada uno de los Negative Control (por duplicado) y de los Positive Control (por duplicado) en los pocillos de la Test Plate. Dispense 97,5 µl de Sample Diluent en cada pocillo con muestra de la Test Plate y añada 2,5 µl de muestra de suero o plasma **sin diluir**. Mezcle bien. Continúe en el paso 2.

**Nota:** registre las posiciones de los controles y las muestras en un protocolo de prueba. El procedimiento de mezcla puede realizarse con un agitador de placas o pipeteando el líquido arriba y abajo varias veces. Cubra la Test Plate.

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 5 veces con 300 µl de Wash Buffer preparado (1x). Retire el tampón después de cada aclarado mediante aspiración o golpecitos suaves.

5. Pipetee 100  $\mu$ l de Conjugate listo para utilizar en cada pocillo e incube durante 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Retire la solución de los pocillos mediante aspiración o golpecitos suaves.
7. Aclare cada pocillo 5 veces con 300  $\mu$ l de Wash Buffer preparado (1x). Retire el tampón después de cada aclarado mediante aspiración o golpecitos suaves.
8. Pipetee 100  $\mu$ l de TMB Substrate Solution 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 Stop Solution a cada pocillo. Añada la Stop Solution en el mismo orden en que se añadió la Substrate Solution.
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 Positive Control (PC) debe ser  $\geq 0,5$ .
- El valor medio (VM) de la DO medida para el Negative Control (NC) debe ser  $\leq 0,3$ .

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).

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

$$M/P = \frac{DO_{\text{muestra}} - VM DO_{\text{NC}}}{VM DO_{\text{PC}} - VM DO_{\text{NC}}}$$

## Interpretación de los resultados

- **Las muestras con un cociente M/P < 0,4 se consideran negativas.**  
No se han podido detectar anticuerpos específicos de PRRSV.
- **Las muestras con un cociente M/P ≥ 0,4 se consideran positivas.**  
Se han detectado anticuerpos específicos de PRRSV.

INDICAL ofrece una amplia gama de kits para ELISA así como kits para PCR en tiempo real y RT-PCR en tiempo real para la detección de patógenos de animales.

Visite **[www.indical.com](http://www.indical.com)** para obtener más información sobre productos bactotype, cador, cattletype, flocktype, pigtype y virotype.

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o el manual del usuario del kit de INDICAL correspondiente.

## Acuerdo de licencia limitada para el pigtype PRRSV 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](http://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](http://www.indical.com).

**Marcas comerciales:** bactotype<sup>®</sup>, cador<sup>®</sup>, cattletype<sup>®</sup>, flocktype<sup>®</sup>, pigtype<sup>®</sup>, virotype<sup>®</sup> (INDICAL BIOSCIENCE GmbH); Milli-Q<sup>®</sup> (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-1944-ES-004 © 2018-2019 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, todos los derechos reservados.

## Índice de cambios

---

Manual	Versión	Cambio
HB-1944-ES-004	Mayo 2019	Incremento el volumen control
HB-1944-ES-003	Agosto 2018	Diseño de INDICAL

---

# Guía rápida para pigtype PRRSV Ab

Dilución de la muestra:

Suero, plasma 1:40; mezclar bien

---

<b>Paso</b>	
1. Muestra	100 µl/ pocillo
2. Incubación	30 min a temp. ambiente
3. Lavado	5 x 300 µl
4. Conjugado	100 µl/ pocillo
5. Incubación	30 min a temp. ambiente
6. Lavado	5 x 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

---

<b>Muestra</b>	<b>Negativa</b>	<b>Positiva</b>
Suero, plasma	M/P < 0,4	M/P ≥ 0,4

---