



Aspectos sobresalientes:

- Prueba cualitativa de campo con resultados en 10 minutos
- Resultados semi-cuantitativos usando el Lector Óptico QuickStix™
- Prueba altamente sensible con medición numérica objetiva (con el Lector Óptico QuickStix)
- Desarrollado en colaboración con destacados programas de investigación universitarios y expertos en fitopatología de la uva.
- Sustituye la subjetiva y laboriosa evaluación manual.

Contenido del Kit:

- 25 Tiras QuickStix empacadas en un tubo desecantes de almacenamiento resistente a la humedad
- 25 microtubos de reacción
- 25 pipetas desechables
- Tampón de Extracción EB8

No Incluido:

- Lector Óptico QuickStix (Cat# ACC 031, opcional)
- Pipeta & puntas desechables
- Filtro para uso en preparación de muestras
- Recipientes para diluir las muestras (e.g. tubos Falcon)

Número de Catálogo AS 049 GP 25

Propósito del Kit

El QuickStix Kit está diseñado para la detección de *Botrytis* en extractos de uva para vinos. La prueba proporciona resultados cualitativos o semi-cuantitativos. Los resultados cualitativos indican la presencia o ausencia de *Botrytis* con una sensibilidad de 5 BCAGU (Unidades de Antígeno de *Botrytis cinerea*), lo cual es equivalente a una infección del 0.625% en función de incidencia. Vea detalles en la página 2 bajo el título “Límite de Detección”.

Resultados semi-cuantitativos se generan con el Lector Óptico QuickStix. Dicho lector mide la intensidad del color de la línea de resultados y la correlaciona con porcentajes de infección (incidencia o peso), utilizando como punto de referencia el “Estándar Dewey” (descrito en la página 2). El Lector Óptico QuickStix no está incluido en este Kit. EnviroLogix lo vende separadamente bajo el número de catálogo ACC-031.

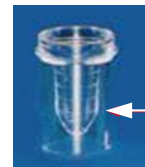
Como Funciona la Tira

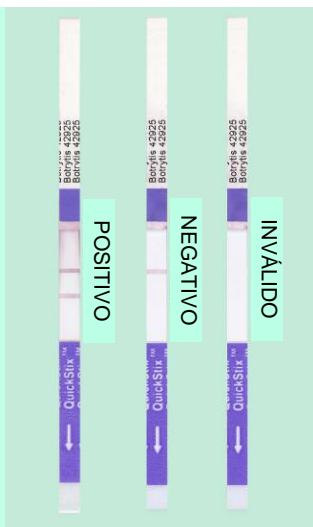
La Tira está diseñada para muestrear extractos de uva para vinos que pudieran estar infectados con *Botrytis*. Para detectar el antígeno de *Botrytis* en el extracto con la Tira QuickStix, el extracto debe diluirse con el tampón incluido con el Kit, siguiendo las instrucciones indicadas más adelante en “Preparación de la Muestra”.

Cada Tira QuickStix tiene unas almohadas absorbentes en los extremos. La cinta protectora marcada con una flecha indica el extremo de la Tira que debe insertarse dentro del microtubo de reacción. La muestra fluye hacia arriba por la membrana de la Tira, siendo finalmente absorbida por la almohada de la parte superior. La parte central de la Tira - ubicada entre la cinta protectora con flecha y la almohada absorbente en la parte superior - es donde se observan las reacciones descritas en la sección “Interpretando los Resultados”.

Preparación de la Muestra

1. Para preparar el extracto jugo de uvas para la prueba, seleccione y macere una muestra representativa de las uvas en cuestión. Para excluir material sólido, filtre el macerado de las uvas a través de un filtro de plástico, nylon u otro tejido no-absorbente (no incluido).
2. Diluya el extracto de uva filtrado en el tampón EB8 que viene incluido en el Kit, a una relación 1:40. Use un recipiente con tapa. Se recomienda diluir 200 µL de la muestra en 7.80 mL de tampón para lograr la dilución apropiada. Para cada nueva dilución, use una nueva punta de pipeta y un nuevo recipiente, así evitará contaminación cruzada.
3. Cierre el frasco, agítelo o inviértalo varias veces para mezclar la muestra.
4. Utilice la pipeta desechable suministrada con el Kit para llenar el microtubo de reacción hasta el área indicada con la flecha blanca en la fotografía, equivalente a unos 500 µL.





Cualquier Línea Test rosada debe considerarse como un resultado positivo

El Estándar Dewey

El Estándar Dewey fue desarrollado por Frances M. Dewey, PhD, como parte de su colaboración con el programa de viticultura en la Universidad de California en Davis. La Dra. Dewey es reconocida por su trabajo relacionado con el *Botrytis*.

El Estándar Dewey fue desarrollado para responder a peticiones de la industria norteamericana para una forma objetiva de medir la infección del *Botrytis* en uva para vino. Las publicaciones técnicas de la Dra. Dewey están disponibles en nuestro sitio web.

- Medición de los niveles de *Botrytis* en uvas para vino en base a incidencia o peso.
- El estándar por incidencia (uva/uva) fue desarrollado combinando 20 uvas Chardonnay infectadas por el *Botrytis* con 80 uvas no-infectadas. El jugo de dicha mezcla fue diluido en jugo de otras uvas no-infectadas para fijar los puntos de referencia.
- El estándar por peso fue desarrollado multiplicando el nivel de incidencia por 0.333 debido al hecho que una uva infectada por el *Botrytis* en promedio pesa la una tercera parte de una uva no-infectada.

Como Correr la Tira QuickStix

1. Permita que los componentes refrigerados del kit alcancen temperatura ambiente antes de abrirlos. Saque solo la cantidad exacta de Tiras que se vaya a utilizar. Evite doblar las Tiras. Cierre el tubo disecante de almacenaje inmediatamente.
2. Coloque la Tira dentro del microtubos de reacción. La muestra fluirá hacia la parte superior de la Tira. Los microtubos de reacción tienen la base plana y pueden colocarse individualmente en cualquier superficie de trabajo, o en la gradilla de cartulina que viene incluida en el Kit.
3. Deje que la tira reaccione por 10 minutos completos antes de hacer interpretaciones visuales del análisis, aún cuando resultados positivos sean evidentes antes de dicho tiempo.
4. La interpretación visual de la Tira reaccionada debe realizarse a los 10 minutos (o lo mas cerca posible a ello) mientras la Tira este todavía en el microtubo de reacción. A los 10 minutos, saque la Tira del microtubo de reacción.
5. La Interpretación de la Tira con uso del el Lector Óptico QuickStix debe realizarse mientras este todavía húmeda, inmediatamente después de retirarla del microtubo de reacción.

Es imprescindible despegar la almohada absorbente de la parte inferior de la Tira (cubierta con la cinta protectora con flechas) ANTES de colocar la Tira en el dispositivo de inserción del lector. *Despegue la almohada. No la desprenda cortando la parte de la Tira que la sostiene* (ver foto, debajo, lado izquierdo)

Coloque la parte superior de la Tira apuntando hacia la manija del dispositivo de inserción. La remoción de la almohada absorbente interrumpe la reacción química, mientras que el material de soporte permite que la Tira encaje correctamente en el dispositivo de inserción del Lector (ver foto, abajo lado derecho).



Nota: Muy importante colocar la parte superior de la Tira apuntando hacia la manija del dispositivo de inserción.

6. Si desea conservar la Tira reaccionada en un cuaderno de laboratorio, utilice una tijera para recortar completamente la sección inferior de la tira que estuvo dentro de la muestra; deseche la parte recortada.

Interpretando los Resultados

Los resultados se interpretan mediante lectura de dos líneas de color rosado que aparecen en la sección central de la Tira, según se observa en la fotografía a mano derecha. La “Línea de Control” es la superior y la “Línea de Resultados” es la inferior. La única función de la “Línea de Control” es indicar que la Tira funcionó correctamente. Por ende la “Línea de Control” *siempre* debe manifestarse en una Tira reaccionada al cabo del tiempo indicado para la reacción (10 minutos); en caso contrario, la Tira debe considerarse inválida y la prueba debe repetirse con otra Tira nueva.

La función de la Línea de Resultado es indicar si una muestra es positiva o negativa para el *Botrytis*. Si la Línea de Resultado se manifiesta al cabo de los 10 minutos

- La curva patrón basada en el Estándar Dewey está programada en el Lector Óptico QuickStix para permitir la cuantificación automática de resultados.

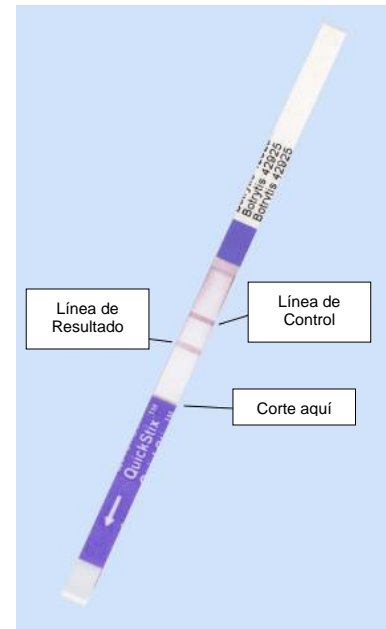
reglamentarios, la muestra debe considerarse positiva. Si la Línea de Resultado no se manifiesta al cabo de dicho plazo, la muestra debe considerarse negativa.

Limite De Detección

El Limite de Detección (LDD) se expresa en “BCAgU” (Unidades de Antígeno de *Botrytis cinerea*). Un (1) BCAgU, equivale a un microgramo (μg) de extracto de micelio liofilizado de *Botrytis cinerea*, en un (1) mililitro (mL) de muestra.

Al aplicar el protocolo de dilución, 1:40, la muestra diluida deberá contener al menos cinco (5) BCAgU (el LDD), para ser detectada. Por consiguiente, antes de diluirse, la muestra debería contener ≥ 200 BCAgU.

El LDD mencionado arriba fué desarrollado para extractos de variedades de uvas de vino de California. Dadas las diferencias que pueden existir entre los extractos de uvas de distintas regiones, estándares alternos podrían necesitarse para alcanzar la sensibilidad deseada en otras regiones. Por favor contacte al Servicio Técnico de EnviroLogix para evaluar protocolos distintos al que se establece en este documento.



Lector Óptico QuickStix: Resultados Semi-Cuantitativos

1. Siga el manual del lector óptico para asegurar la inserción correcta de las Tiras en el instrumento.
2. Si no existe un código de barras impreso en la Tira, la lectura inicial de la misma causará el mensaje “error” en la pantalla del aparato. Elija manualmente uno de los dos protocolos indicados en la pantalla (lectura basada en infección/incidencia o basada en infección/peso). Cuando el lector se lo solicite, digite manualmente el número de lote de la Tira en el teclado del mismo.
3. El cuadro a continuación ilustra el rango de posibles resultados. La Señal de Intensidad (SI) generada por el Lector corresponderá a un % determinado de infección por incidencia y por peso.

Señal de Intensidad (SI)	% Infección por Incidencia	% Infección por Peso
<10	< 1.25	< 0.42
10 - 23.5	≥ 1.25 to < 2.50	≥ 0.42 to < 0.83
23.5 - 31.0	≥ 2.50 to < 5.00	≥ 0.83 to < 1.67
31.0 - 42.5	≥ 5.00 to < 10.00	≥ 1.67 to < 3.33
>42.5	≥ 10.00	≥ 3.33

4. Para obtener instrucciones detalladas, consulte el manual del Lector.

Nota: En el caso donde la muestra genera un SI mayor que 42.5, es posible incrementar la dilución de la muestra (con el tampón EB8). Repita la prueba con una



Coloque la Tira QuickStix en el dispositivo, luego insértelo en el Lector Óptico QuickStix



nueva Tira, y realice una segunda lectura. Asumiendo que la segunda lectura genera un SI igual o mayor que 10 y menor que 42.5, el cálculo de semi-cuantificación de la infección tendrá que ajustarse en función de la dilución adicional realizada. Llame al Servicio Técnico de EnviroLogix para solicitar mayores detalles acerca de ese procedimiento.

Almacenaje del Kit

Este Kit debe almacenarse bajo refrigeración entre 4°C y 8°C. Evite exponerlo a temperaturas mayores de 37°C o menores de 2°C. Tenga en cuenta la vida útil del Kit (indicada en su caja). Cuando se use en condiciones de campo, téngalo en una hielera para evitar su exposición prolongada a temperaturas altas, ya que estas pueden afectar el resultado de la prueba. No saque las Tiras hasta que vaya a correr la prueba.

Reacciones Cruzadas

El anticuerpo utilizado en este Kit reacciona con lo siguientes organismos:

- *Botrytis cinerea*
- *B. byssoidea*
- *B. allii* (various isolates)
- *B. fabae*
- *B. squamosa*
- *B. stokesii* (*tulipae*; various isolates)
- *B. streptothrix*
- *B. tulipae*
- *B. aclada*
- *B. elliptica*
- *Monilinia fructicola*
- *M. laxa*
- *M. lambertella*
- *Sclerotinia* spp.

El anticuerpo utilizado en este Kit no reacciona con lo siguientes organismos:

- *Alternaria infectoria*
- *Alternaria alternata*
- *Aspergillus niger*
- *Aureobasidium pullulans*
- *Cladosporium macrocarpum*
- *Cladosporium herbarum*
- *Cladosporium paeoniae*
- *Coniella fragaria*
- *M. hiemalis*
- *Rhizopus* spp.
- *Stemphyllium* spp.
- *Trichoderma harzianum*
- *T. viride*
- *Ulocladium* spp.



Precauciones

- Las Tiras están diseñadas únicamente para detectar la presencia o ausencia del *Botrytis* y no pretenden ser cuantitativas. Resultados semi-cuantitativos pueden obtenerse utilizando las Tiras conjuntamente con el Lector Óptico QuickStix.
- Nota Importante: El Kit detectará el patógeno sin considerar la viabilidad del mismo. El Kit no debe usarse para determinar la eficacia de tratamientos de control porque aún cuando dichos tratamientos sean exitosos, antígenos del hongo pueden seguir presentes y darán un resultado positivo.
- Tal como se acostumbra con otras pruebas, es recomendable que los resultados sean confirmados por un método alterno, cada vez que sea necesario.
- Este diagnóstico ha sido diseñado para ser utilizado exclusivamente con el protocolo proporcionado con el Kit. Desviaciones del protocolo indicado en este documento puede invalidar los resultados de la prueba.
- Un resultado negativo no elimina la posibilidad de que exista infección de *Botrytis* en otras áreas y/o en el mismo lugar en otros momentos.
- Una muestra altamente contaminada es capaz de generar un resultado positivo en la Tira en tan sólo 5 minutos después de iniciarse la reacción. Sin embargo, no es prudente concluir que una muestra es negativa antes que los 10 minutos completos hayan transcurrido. Una muestra ligeramente contaminada requiere los 10 minutos completos para que se manifieste la “Línea de Resultado” visible.



**Para Soporte Técnico
Contáctenos en:**

EnviroLogix
500 Riverside Industrial
Parkway
Portland, ME 04103-1486
USA

Tel: (207) 797-0300
Fax: (207) 797-7533

e-mail:
info@envirologix.com

Página web:
www.envirologix.com



GARANTIA LIMITADA

EnviroLogix Inc. (“EnviroLogix”) garantiza los productos vendidos conjuntamente con este instructivo (“los Productos”) contra defectos en los materiales y en cuanto a la calidad de mano de obra cuando estén utilizados antes de la fecha de vencimiento indicada en su empaque y de acuerdo a las instrucciones aplicables. En el caso de que los Productos no estén conformes a esta Garantía Limitada y el cliente notifica EnviroLogix por escrito de dichos defectos durante el plazo de la garantía, incluyendo una oferta por el cliente de devolver los Productos a EnviroLogix para su evaluación, EnviroLogix a su opción reparará o reemplazará cualquier producto o parte del mismo que demuestra tener defectos en los materiales o en la calidad de mano de obra dentro del plazo de la garantía.

ENVIROLOGIX OTORGA NINGUNA OTRA GARANTIA, SEA EXPLICITA O IMPLICITA, INCLUYENDO SIN LIMITACION CUALESQUIERA GARANTIAS IMPLICITAS DE INDOLE COMERCIAL O DE USO.

La garantía otorgada mediante este instrumento y los datos, especificaciones y descripciones de los productos de EnviroLogix que aparecen publicados en sus catálogos y demás literatura oficial son las únicas representaciones realizadas con respecto a los Productos y la Garantía. Con la salvedad de declaraciones escritas firmadas por un funcionario debidamente autorizado por EnviroLogix Inc., ningunas otras declaraciones o representaciones, escritas u orales, realizadas por empleados, agentes o representantes de EnviroLogix son válidas, no constituyen parte de la garantía otorgada mediante este instrumento, no constituyen una parte del convenio de compra-venta y no deben considerarse fiables.

EnviroLogix no garantiza contra daños o defectos causados por el mal manejo, transporte, accidentes o el uso indebido o anormal de los Productos, contra defectos en productos o componentes no fabricados por EnviroLogix, ni contra daños causados por dichos componentes no fabricados por EnviroLogix. EnviroLogix le cede al cliente la garantía recibida (si existe) del fabricante de dichos productos o componentes. Esta garantía tampoco aplica a los Productos que hayan sufrido cambios o modificaciones realizadas o intentadas por personas que no estuviesen expresamente autorizadas por EnviroLogix.

ESTA GARANTIA ES EXCLUSIVA. La única y exclusiva obligación de EnviroLogix será de reparar o reemplazar los productos defectivos en la manera y el plazo antes mencionado. Con respecto a los Productos o cualquier parte de los mismos EnviroLogix no asume ni asumirá ninguna otra obligación, independientemente de que sea derivada del mismo convenio de compra-venta, agravio (“tort”), responsabilidad estricta (“strict liability”) o cualquier otra base.

Bajo ninguna circunstancia EnviroLogix se responsabilizará por daños consecuentes, especiales o incidentales independientemente de que sean basados en esta Garantía Limitada o no.

Esta Garantía Limitada expresa la totalidad de la obligación de EnviroLogix con respecto a los Productos. Si se determina que cualquier parte de esta Garantía Limitada es inaplicable o ilegal, el resto de la misma permanecerá en plena vigencia.

Licencia

EnviroLogix ha desarrollado este kit utilizando reactivos propios y bajo licencia.

EnviroLogix, QuickStix y el logo de EnviroLogix son marcas registradas de EnviroLogix Inc.

© EnviroLogix 2008