

INgezim® Brucella Porcina

R.11.BP.K1

INgezim® Brucella Porcina es un ensayo inmunoenzimático basado en la técnica de ELISA indirecto, que utiliza un anticuerpo monoclonal (AcM) específico de IgGs porcinas, y lipopolisacárido (SLPS) de *Brucella lisa*.

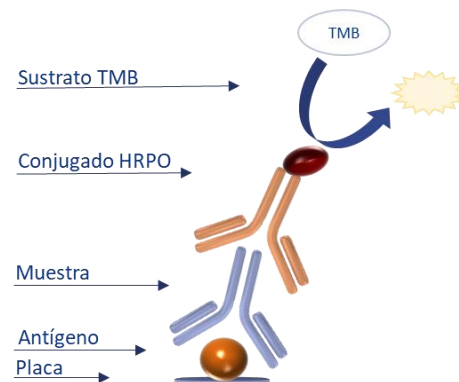
CARACTERÍSTICAS DEL KIT

APLICACIÓN

Detección de anticuerpos específicos de LPS de *Brucella lisa* en muestras de suero de cerdo.

BASE TÉCNICA

- Las placas se suministran tapizadas con antígeno (Lipopolisacárido de *Brucella lisa*). Las muestras se añaden en los pocillos y se incuban.
- Si las muestras contienen anticuerpos de *Brucella*, estos se unirán al antígeno.
- Cuando se añade el conjugado (anticuerpo monoclonal específico de IgGs porcinas, marcado con peroxidasa, AcM-PO), este se unirá a los anticuerpos unidos al antígeno. Esta unión se revela mediante reacción colorimétrica tras adición de sustrato.



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El ensayo establece un cut off, que clasificará las muestras como *Positivas* o *Negativas*, en función del valor de la densidad óptica de la muestra.

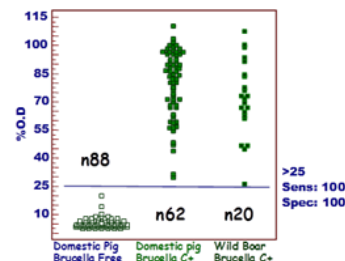
VALIDACIÓN DEL ENSAYO

Uso del Suero de Referencia de la OIE

Con objeto de validar el ensayo respecto a las normas de la OIE, se utilizó el suero de referencia: "Suis International Standard Serum" (ISaBsS). El ensayo es capaz de detectar el suero de referencia como positivo a dilución 1/16 por lo que cumple los requerimientos de la OIE.

Sensibilidad y especificidad diagnóstica

- Estudio 1.** (AFFSA) Se utilizó una colección de 998 sueros positivos y negativos previamente catalogados por Rosa de Bengala (RBT) y el ELISA de Competición INgezim® Brucella Compac 2.0. Los resultados obtenidos indicaron una correspondencia con la técnica de referencia de RBT del 92,38% y del 97,8% con INgezim® Brucella Compac 2.0.
- Estudio 2.** (Unidad de Sanidad Animal. CITA. Zaragoza. España) Se utilizaron sueros "gold estándar" de: 88 cerdos domésticos de granjas libres de brucella, 62 cerdos domésticos de cerdos naturalmente infectados con *B. suis biovar 2*; y 20 jabalíes infectados naturalmente con *B. suis biovar 2* (siendo confirmados por bacteriología los 82 sueros positivos). Los sueros de cerdo fueron analizados por RBT. Además, con los resultados obtenidos con los 3 grupos de animales se realizó un análisis de ROC. El ensayo mostró 100% sensibilidad y especificidad.
- Estudio 3.** (Unidad de Sanidad Animal. CITA. Zaragoza. España). Se utilizaron 555 sueros de 16 granjas porcinas con diferente estatus respecto a *B. suis*. Grupos 1 y 2 con problemas reproductivos, grupos 3 y 4 sin problemas reproductivos.



	Grupo 1 (n=145, positivos por aislamiento)			Grupo 2 (n=134, granjas con alta prevalencia por RBT)			Grupo 3 (n=60, granjas con baja prevalencia por RBT)			Grupo 4 (n=216, granjas negativas por RBT)		
	RBT	CFT	INgezim BP	RBT	CFT	INgezim BP	RBT	CFT	INgezim BP	RBT	CFT	INgezim BP
POSITIVO	132 (91%) ¹	90 (62%)	120 (82,7%)	43 (30.1%)	19 (14.1%)	51 (38%)	3 (5%)	0 (0%)	6 (10%)	0 (0%)	0 (0%)	7 (3.2%)
NEGATIVO	13	48	25	91	89	83	57	60	54	216	205	209
PA ²		7			26			0			11	

¹ % aparentes de prevalencia de cada test. ² sueros con reacción anticomplementaria.

NOTA: Se ha detectado cross-reacción con *Yersinia enterocolitica* en 2 de 66 sueros de animales infectados analizados.

Estandarización del nuevo Suero de Referencia Europeo para la Brucellosis porcina (EUPBSS) utilizando INgezim® Brucella Porcina

El ensayo ha sido utilizado en el Ring Test organizado por ANSES en 2014 (7th workshop of the EU Brucellosis NRLs. 2014) como técnica de referencia para la validación del suero de referencia de la OIE (EUPBsSS).

COMPOSICION DEL KIT

- Placas de microtitulación de 96 pocillos
- Viales con Control Positivo
- Viales con Control Negativo
- Viales con Conjugado
- Frasco con Solución de Lavado
- Frasco con Diluyente
- Frasco con Sustrato (TMB)
- Frasco con Solución de Frenado



Registro nº 3462RD

CADUCIDAD: 15 MESES. Conservado a 2°C-8°C

Eurofins-INGENASA, S.A.
 Avda. de la Institución Libre de Enseñanza 39, 8º
 28037 MADRID (SPAIN)
 Tel: (+34)91 3680501
www.ingenasa.com



IT-73840
IT-73780

9191.INGE

9175.ING2

INgezim® Brucella Porcina

R.11.BP.K1

INgezim® Brucella Porcina is an immunoenzymatic assay based on indirect ELISA technique, which uses a monoclonal antibody (Mab) specific to porcine IgG immunoglobulins, and lipopolysaccharide (SLPS) from *smooth brucella*.

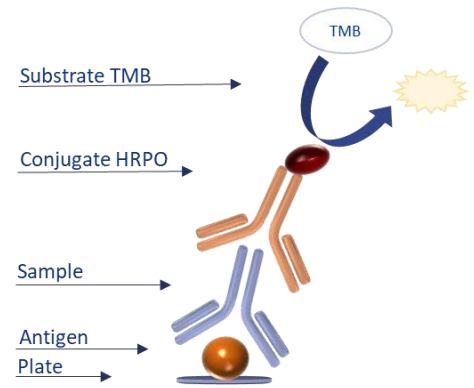
KIT FEATURES

APPLICATION

Detection of specific antibodies to LPS of smooth *Brucella* in porcine serum samples.

TECHNICAL BASE

- Plates are supplied coated with antigen (inactivated smooth *Brucella* antigen, LPS). Samples are added to the wells and incubated.
- If the samples contain specific antibodies to *Brucella*, they will bind to the antigen.
- When the conjugate (monoclonal antibody specific to porcine IgG, conjugated with peroxidase, AcM-PO) is added, it will bind to the antibodies bound to the antigen. This binding is revealed by colorimetric reaction after addition of the substrate.



RESULTS INTERPRETATION

The assay establishes a cut off, which will classify the samples as **Positive** or **Negative**, depending on the value of the optical density of the sample.

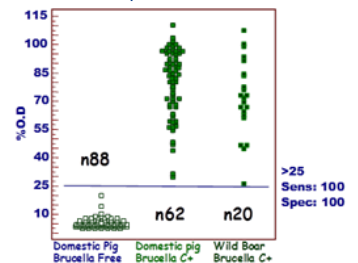
ASSAY VALIDATION

Use of OIE Reference Serum

In order to validate the assay respect to OIE regulation, the Reference Serum: "Suis International Standard Serum" (ISaBS) was used. The assay is able to detect it as positive at 1/16 dilution fulfilling the OIE requirements.

Diagnostic sensitivity and specificity

- Study 1.** (AFFSA) A panel of 998 positive and negative sera previously classified by Rose of Bengale (RBT) and the competition ELISA INgezim® Brucella Compac 2.0 was analysed. Results obtained indicated 92.38% correspondence with RBT and 97.8% with INgezim® Brucella Compac 2.0.
- Study 2.** (Unidad de Sanidad Animal. CITA. Zaragoza. España) The following gold standard sera were used: 88 domestic pigs from Brucella free herds, 62 domestic pigs naturally infected with *B. suis biovar 2*, and 20 wild boars naturally infected with *B. suis biovar 2* (these 82 positive sera were confirmed by individual bacteriology). The pig sera were analysed by RBT. Moreover, with the obtained results with these 3 groups, a ROC analysis was performed. **The assay showed 100% sensitivity and specificity.**
- Study 3.** (Unidad de Sanidad Animal. CITA. Zaragoza. España). 555 sera from herds showing different status concerning *B. suis* were analysed. Groups 1 and 2 suffered from reproductive problems, groups 3 and 4 did not suffer from reproductive problems.



	Group 1 (n=145, isolation positive)			Group 2 (n=134, farms showing many RBT reactors)			Group 3 (n=60, farms showing very few RBT reactors)			Group 4 (n=216, farms without RBT reactor)		
	RBT	CFT	INgezim BP	RBT	CFT	INgezim BP	RBT	CFT	INgezim BP	RBT	CFT	INgezim BP
POSITIVE	132 (91%) ¹	90 (62%)	120 (82,7%)	43 (30.1%)	19 (14.1%)	51 (38%)	3 (5%)	0 (0%)	6 (10%)	0 (0%)	0 (0%)	7 (3.2%)
NEGATIVE	13	48	25	91	89	83	57	60	54	216	205	209
PA ²		7			26			0			11	

¹ Apparent prevalence percentage in each test. ² number of sera showing anticomplementary reactions.

ATTENTION: cross-reaction in 2 of 66 sera of *Yersinia enterocolitica* infected animals has been detected.

Standardization of the new European Reference Serum for porcine Brucellosis (EUPBSS) using INgezim® Brucella Porcina

The assay has been used in a Ring Test organised by ANSES in 2014 (7th workshop of the EU Brucellosis NRLs. 2014) as a reference technique for the validation of the EUPBsSS OIE reference serum.

KIT COMPOSITION

- 96 well microtitration plates
- Vials with Positive Control
- Vials with Negative Control
- Vials with Conjugate
- Bottles with Washing Solution
- Bottles with Diluent
- Bottles with substrate (TMB)
- Bottles with Stop Solution



Spanish registration nº 3462RD

EXPIRATION: 15 MONTHS. Stored at 2°C-8°C

Eurofins-INGENASA, S.A.
 Avda. de la Institución Libre de Enseñanza 39, 8º
 28037 MADRID (SPAIN)
 Phone: (+34)91 3680501
www.ingenasa.com

