

## INgezim® *Brucella* Small Ruminants

R.13.BM.K1

INgezim® *Brucella* Small Ruminants es un ensayo inmunoenzimático basado en la técnica ELISA indirecto, que utiliza un anticuerpo monoclonal (AcM) específico de inmunoglobulinas de rumiante, y antígeno de *Brucella mellitensis* (LPS).

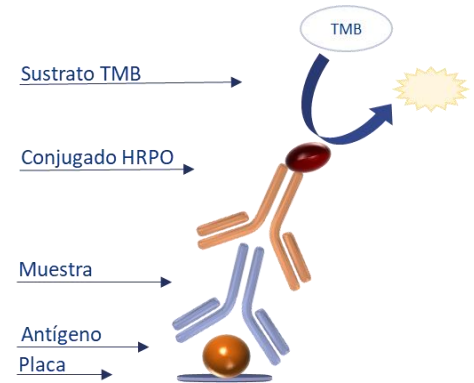
### CARACTERÍSTICAS DEL KIT

#### APLICACIÓN

Detección de anticuerpos específicos de *Brucella* en muestras de suero de pequeños rumiantes.

#### BASE TÉCNICA

1. Las placas se suministran tapizadas con antígeno de *Brucella mellitensis*. Las muestras se añaden en los pocillos y se incuban.
2. Si las muestras contienen anticuerpos específicos frente a *Brucella*, estos se unirán al antígeno.
3. Cuando se añade el conjugado (anticuerpo monoclonal específico de inmunoglobulinas de rumiante, 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 clasificarán las muestras como **Positivas** o **Negativas**, en función del valor de la densidad óptica de la muestra en el ensayo.

### VALIDACIÓN DEL ENSAYO

#### Correspondencia con Rosa de Bengala (RB) y Fijación de Complemento (FC)

Para determinar la correspondencia con ambas técnicas se analizaron 345 sueros de animales (ovejas y cabras) sujetos a programas de erradicación. Los resultados obtenidos indicaron una correspondencia del 96,2% con respecto a FC y del 95% respecto a RB.

#### Correspondencia con aislamiento

- **Estudio 1.** Se analizaron 127 sueros de ovejas no vacunadas pertenecientes a ganaderías infectadas, y catalogadas como positivas por la técnica de aislamiento de antígeno. Los resultados obtenidos indicaron que la sensibilidad del ensayo respecto a aislamiento era del 96,1%, siendo un porcentaje superior al obtenido con RB y FC.
- **Estudio 2.** Se analizaron 275 muestras positivas y negativas por esta técnica. Los resultados obtenidos indicaron una sensibilidad del 98,9% para ovejas y del 97,7% para cabras. La especificidad fue >99%.

#### Sensibilidad y Especificidad analítica. Uso de los sueros de referencia de la OIE

El ensayo ha sido validado con los sueros de Referencia Internacionales EUSBSS y EUGBSS los cuales derivan del suero ISaBmS frente al cual también ha sido chequeado el ensayo.

EUGBSS y EUSBSS deben ser positivos al menos a dilución 1/8 y negativos a dilución 1/256 según indicaciones de la OIE. El ensayo es capaz de detectar ambos sueros como positivos a dilución 1/64 siendo la dilución 1/256 negativa. Respecto al suero Internacional ISaBmS, el ensayo es capaz de detectar como positiva hasta la dilución 1/250 mientras que la dilución 1/500 resultó ser negativa.

#### Especificidad del ensayo

Con objeto de determinar la especificidad del ensayo, se han analizado 480 sueros procedentes de 6 rebaños diferentes calificados como libres de brucelosis. Los resultados obtenidos en granjas negativas indicaron que la especificidad del ensayo en este estudio es mayor del 99,9%.

### 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 3057RD

CADUCIDAD: 24 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](http://www.ingenasa.com)



IT-73840  
IT-73780



9191.INGE 9175.ING2

## INgezim® *Brucella* Small Ruminants

R.13.BM.K1

INgezim® *Brucella* Small Ruminants is an immunoenzymatic assay based on an indirect ELISA technique, which uses a monoclonal antibody (MAb) specific for ruminant immunoglobulins and *Brucella mellitensis* (LPS) antigen.

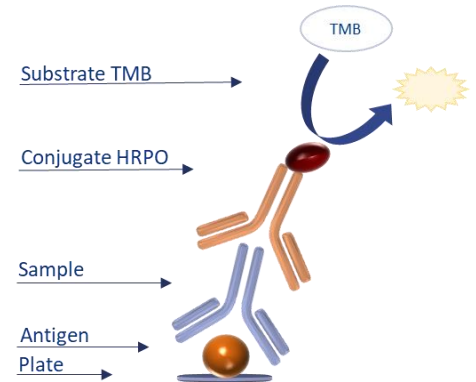
### KIT FEATURES

#### APPLICATION

Detection of specific antibodies to *Brucella* in small ruminants serum samples individually assayed.

#### TECHNICAL BASE

1. Plates are supplied coated with inactivated *Brucella mellitensis* antigen (LPS). Samples are added to the wells and incubated.
2. If the samples contain specific antibodies to *Brucella*, they will bind to the antigen.
3. When the conjugate (monoclonal antibody specific to ruminant immunoglobulins, conjugated with peroxidase, AcM-PO) is added, it will bind to the IgGs bound to the antigen. This binding is detected by the development of a colorimetric reaction after the addition of the substrate.



#### RESULTS INTERPRETATION

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

### ASSAY VALIDATION

#### Correspondence with Rose of Bengal (RB) and Complement Fixation (CF)

In order to determine the correspondence with both reference techniques, a set of 345 sera from animals (goats and sheep) under eradication programmes were analysed. The results obtained indicated 96.2% correspondence with CF and 95% with RB.

#### Correspondence with culture

- **Study 1.** 127 samples from non-vaccinated sheep in infected herds were analysed. These samples were positive by culture. The results obtained indicated that the sensitivity of the assay was 96.1% being this percentage higher than the one obtained by RB and CF.
- **Study 2.** 275 samples from sheep and goats, negative and positive by isolation were analysed. The results obtained indicated 98.9% sensitivity for sheep and 97.7% for goats, and >99% specificity.

#### Analytical sensitivity and specificity. Use of OIE Reference Sera

This assay has been validated with the new International OIE Reference Sera EUSBSS and EUGBSS, which derive from the ISaBmS serum (against which the assay has also been validated).

EUGBSS and EUSBSS must be positive at least at dilution 1/8 and negative at dilution 1/256 as required by the OIE. The assay detects as positive both sera at dilution 1/64, being dilution 1/250 negative. Regarding the International Standard ISaBmS, the assay detects as positive the dilution 1/250 and as negative the dilution 1/500.

#### Specificity of the assay

480 sera from 6 *Brucella* free herds were analysed. The results obtained indicated >99.9% specificity.

### KIT COMPOSITION

- 96 wells 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 3057RD

EXPIRATION: 24 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](http://www.ingenasa.com)



IT-73840  
IT-73780

9191.INGE

9175.ING2