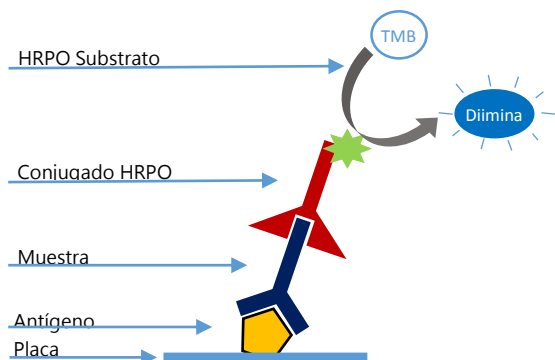


INgezim Brucella Porcina



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



BASE TÉCNICA DEL KIT

1. Las placas se suministran tapizadas con antígeno LPS de *Brucella lisa*. Las muestras se añaden en los pocillos y se incuban.
2. Si la muestra contiene anticuerpos de *Brucella*, éstos se unirán al antígeno.
3. Cuando se añade un AcM-PO específico de IgG de cerdo, éste se unirá a las IgGs de la muestra unidos al antígeno. Esta unión se revela mediante reacción colorimétrica tras adición de sustrato.

APLICACIÓN

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

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El ensayo establece un Cut Off. Las muestras se considerarán **Positivas** cuando su valor de DO sea igual o superior al Cut Off. Las muestras se considerarán **Negativas** cuando su valor de DO sea inferior al Cut Off.

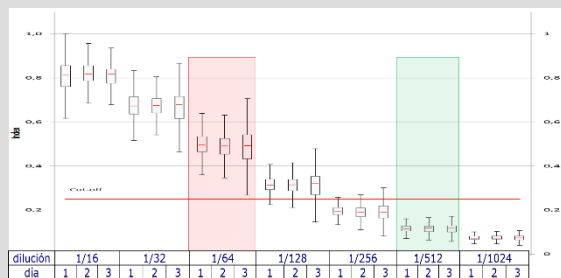
VALIDACIÓN

1. 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" (ISaBS). 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.

2. Estandarización del nuevo Suero de Referencia Europeo para la Brucellosis porcina (EUPBSS) utilizando INgezim® Brucella Porcina (7th workshop of the EU Brucellosis NRLs. 2014)

El ensayo ha sido utilizado en el Ring Test organizado por ANSES en 2014 para la validación del EUPBSS. En el estudio participaron 23 laboratorios de los cuales 9 testaron además el ISaBS. El EUPBSS fue testado a diferentes diluciones seriadas en factor 2 desde la 1/16 hasta la 1/1024. El estudio permitió llegar a las siguientes conclusiones: Establecimiento de los cut off positivo/negativo para el EUPBSS en 1/64 / 1/512 respectivamente, No existe variabilidad inter-día (3 días) ni inter-muestra significativa utilizando el ensayo.



3. 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 y Fijación de Complemento (FC). Además, con los resultados obtenidos con los 3 grupos de animales se realizó un análisis de ROC. **El ensayo mostró 100% sensibilidad y especificidad.**

	RBT	CFT ^a	Ingezim B. PORCINA
Cultivo +	62	59	62
POSITIVO	62 (100%)	28 (47.4%)	62 (100%)
NEGATIVO	0	4	0

	RBT	CFT ^a	Ingezim B. PORCINA
Libres	88	62	88
POSITIVO	0	0	0
NEGATIVO	88 (100%)	6 (9.7%)	88 (100%)

^a 27 sueros cultivo positivos y 56 sueros libres de brucella mostraron actividad anticomplementaria.

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)			
	RBT	CFT	INgezim B.P
POSITIVO	132 (91%) ¹	90 (62%)	120 (82.7%)
NEGATIVO	13	48	25
PA ²		7	

Grupo 2 (n 134 granjas con alta prevalencia por RBT)			
	RBT	CFT	INgezim B. P
	43 (30.1%)	19 (14.1%)	51 (38%)
	91	89	83
		26	

Grupo 3 (n 60 granjas con baja prevalencia por RBT)			
	RBT	CFT	INgezim B. P
	3 (5%)	0 (0%)	6 (10%)
	57	60	54
		0	

Grupo 4 (n 216 granjas negativas por RBT)			
	RBT	CFT	INgezim B. P
	0 (0%)	0 (0%)	7 (3.2%)
	216	205	209
		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.

COMPOSICION DEL KIT

- Placas de microtitulación de 96 pocillos
- Vial con control Positivo.
- Vial con Control Negativo.
- Vial de Conjugado.
- Frascos con solución de Lavado.
- Frascos con Diluyente.
- Frasco con Substrato (TMB) listo para usar.
- Frasco con Solución de Frenado.



PRODUCTO FABRICADO POR INGENASA
Nº REGISTRO: 3462 RD

CADUCIDAD:

15 meses
Conservado a 2°C-8°C



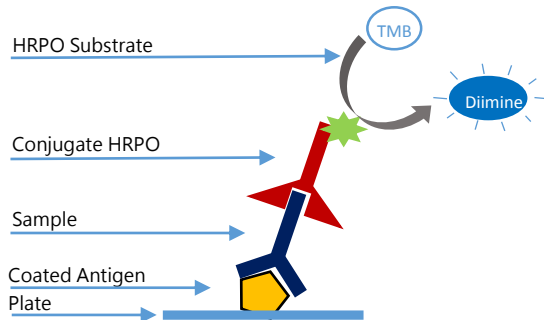
IT-73840 ISO 14001:2015 ISO 9001:2015
IT-73780 9191.INGE 9175.ING2

Ed.020217

INgezim Brucella Porcina



INgezim Brucella porcina is an immunoenzymatic assay based in indirect ELISA technique, which uses a monoclonal antibody (MAb) specific for porcine IgG immunoglobulins and Lipopolisacaride (SLPS) from *smooth brucella*.



TECHNICAL BASIS OF THE KIT

- Plates are coated with inactivated smooth *Brucella* antigen (LPS). Samples are added to the wells and incubated.
- If the sample contains antibodies to *Brucella*, they will bind to the antigen.
- To detect this reaction a MAb-PO specific of porcine IgG is added. This binding is detected by colorimetric reaction after the addition of the substrate.

APPLICATION

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

INTERPRETATION OF THE RESULTS

For results interpretation, one cut off is used: Samples will be considered **Positive** if their OD values are equal or higher than the cut off. Samples will be considered **Negative** if their OD values are lower than the negative cut off.

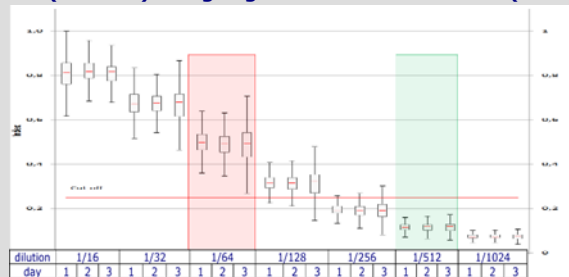
VALIDATION

1. Use of OIE Reference Serum.

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

2. Standardization of the new European Reference Serum for porcine Brucellosis (EUPBSS) using Ingezim® Brucella Porcina (7th workshop of the EU Brucellosis NRLs. 2014)

This assay has been used in 2014 in the Ring Test organized by ANSES for validation of the EUPBsS. In this study participated 23 laboratories; 9 of them tested also the serum ISaBsS. Serum EUPBsS was tested at dilutions in fold of 2, starting at 1/16 to 1/1024. The study allow to reach the following conclusions: Setting of the cut off positive/ negative for EUBsS in 1/64 / 1/512 respectively, There Is not significant variability inter day (3 days), neither inter sample using Ingezim® Brucella porcina.



3. Sensitivity and specificity.

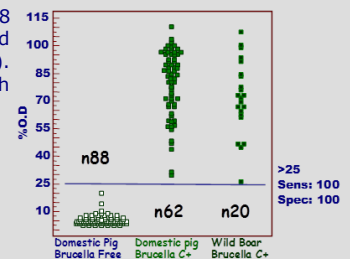
Study 1. (AFFSA) A panel of 998 positive and negative sera previously classified by Rose of Bengale (RBT) and the competition ELISA Ingezim Brucella Compac 2.0 was analysed. Results obtained indicated 92.38% correspondance with RBT and 97.8% with Ingezim Brucella Compac. 2.0.

Study 2. (Unidad de Sanidad Animal. CITA. Zaragoza. Spain) 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. (these 82 positive será were confirmed by individual bacteriology). The pig será were analysed by RBT and Complement Fixation (CF). Moreover, with the results obtained with these 3 groups, a ROC analysis was performed. **The assay showed 100% sensitivity and specificity.**

	RBT	CFT ^a	Ingezim B. PORCINA
Culture +	62	59	62
POSITIVE	62 (100%)	28 (47.4%)	62 (100%)
NEGATIVE	0	4	0

	RBT	CFT ^a	Ingezim B. PORCINA
Free	88	62	88
POSITIVE	0	0	0
NEGATIVE	88 (100%)	6 (9.7%)	88 (100%)

^a A total of 27 sera from culture positive animals and 56 sera from *Brucella* free animals were showing anticomplementary activity.



Study 3. (Unidad de Sanidad Animal. CITA. Zaragoza. Spain). 555 sera from herds showing different status concerning *B. suis* were analysed. Groups 1 and 2 suffering reproductive problems, groups 3 and 4 not suffering reproductive problems.

Group 1 (n 145. Isolation positive)			
	RBT	CFT	Ingezim B. P
POSITIVE	132 (91%) ¹	90 (62%)	120 (82.7%)
NEGATIVE	13	48	25
PA ²		7	

Group 2 (n 134. Farms showing many RBT reactors)			
	RBT	CFT	Ingezim B. P.
	43 (30.1%)	19 (14.1%)	51 (38%)
	91	89	83
		26	

Group 3 (n 60. Farms showing very few RBT reactors)			
	RBT	CFT	Ingezim B. P.
	3 (5%)	0 (0%)	6 (10%)
	57	60	54
		0	

Group 4 (n 216. Farms without RBT reactors)			
	RBT	CFT	Ingezim B. P.
	0 (0%)	0 (0%)	7 (3.2%)
	216	205	209
		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.

COMPOSITION OF THE KIT

- Microtitration plates of 96 wells
- Vial with Positive Control.
- Vial with Negative Control.
- Vial with Conjugate.
- Bottles with Washing Solution.
- Bottles with diluent.
- Bottle with substrate (TMB) ready to use.
- Bottle with Stop Solution



SHELF LIFE:
15 months
Store at 2°C-8°C

PRODUCT MANUFACTURED BY INGENASA
REGISTRATION NUMBER: 3462 RD

