

MONOSCREEN[®] Ab ELISA

Instrucciones de uso
BIOK140-BRUC_NO_(ES)_V02
12/02/2026

Monoscreen AbELISA Brucella

Referencia: BIO K 140

Prueba ELISA para el diagnóstico serológico de la brucelosis

Monocúpula, prueba indirecta

Uso *in vitro* y estrictamente veterinario



Muestra	Especie	Análisis individual	Análisis en mezcla*, posible hasta
Suero	Bovino	✓	10

* Las mezclas se deben hacer volumen a volumen, es decir, utilizando el mismo volumen de cada uno de los sueros que forman la mezcla.

Presentación

Referencia de producto	BIO K 140/2	BIO K 140/5
Formato	2 placas, tiras de 8 pocillos	5 placas, tiras de 8 pocillos
Reacciones	192 pruebas	480 pruebas

Composición del kit

	Material suministrado	Tipo*	Code	BIO K 140/2	Code	BIO K 140/5
Microplate	Microplaca	1	D01425	2	D01425	5
Washing solution	Solución de lavado (20X)	A	D00695	1 x 100 mL	D00696	1 x 250 ml
Dilution solution	Solución de dilución teñida (1X)	A	D01511	3 x 125 mL	D01555	3 x 250 ml
TMB solution	Solución de TMB monocomponente (1X)	A	D01585	1 x 30 mL	D01557	1 x 60 ml
Stop solution	Solución de frenado (1X)	A	D00680	1 x 30 mL	D01556	1 x 60 ml
Conjugate	Conjugado (50X)	1	D01596	1 x 0,6 mL	D01563	1 x 1,5 ml
CTL POS	Control positivo	a	D01396	1 x 0,5 mL	D01396	1 x 0,5 ml
CTL NEG	Control negativo	a	D01564	1 x 0,5 mL	D01564	1 x 0,5 ml

*: (1): dependiente del kit y del lote / (a): dependiente del kit / (A): sustituible con componentes A / (B): sustituible con componentes B.

Historial de revisiones

Fecha	Versión	Modificaciones
23/01/2025	V01	Primera versión
12/02/2026	V02	Adición del formato de 2 placas. Adaptación de los volúmenes de componentes. Modificación de los datos de validación de los resultados.

Nota: Las modificaciones menores de tipografía, gramática y maquetación no aparecen en el historial de revisiones.

A. Introducción

La brucelosis es una enfermedad causada por el agente patógeno *Brucella* sp. Es una bacteria perteneciente al orden de las Rhizobiales. Los casos de brucelosis animal debida a infecciones por *Brucella melitensis* suelen observarse en la cuenca mediterránea y en Oriente Medio. *Brucella abortus* es una bacteria ubicua mientras que los casos debidos a *Brucella suis* se encuentran principalmente en América, Asia y Oceanía.

Los animales se infectan por ingestión de productos contaminados y por aerosoles. También se observan transmisiones verticales durante la lactancia de las crías cuya madre está contaminada. A diferencia de otras bacterias como *Salmonella* o *Listeria*, la infección por *Brucella* suele ser asintomática. No obstante, *Brucella* puede provocar una inflamación crónica y la formación de higromas que causan dolor articular. En los machos, las bacterias se excretan en el esperma, lo cual da lugar a una inflamación del testículo o el epidídimo que a su vez provoca una orquitis o una epididimitis respectivamente. Las complicaciones de la enfermedad pueden provocar la infertilidad de los machos infectados. La principal consecuencia de la infección por *Brucella* en las hembras gestantes es el aborto. En las placentas de los animales gestantes infectados se observan diversas lesiones con tejido necrótico.

Las bacterias se localizan, principalmente, en el aparato reproductor y en los tejidos fetales, lo cual provoca infecciones en los fetos en el interior del útero, además de un nivel elevado de bacterias en las placentas y líquidos fetales que dan lugar a nuevas infecciones durante el parto o el aborto por consumo y por aerosol.

B. Principio de la prueba

Se utiliza un antígeno sintético de *Brucella* para sensibilizar microplacas de 96 pocillos. Los sueros y los controles se diluyen en la solución de dilución. Tras 60 minutos de incubación y una etapa de lavado, el operador añade el conjugado de la proteína G unido a la peroxidasa. Tras una segunda incubación de 60 minutos y un segundo lavado, se añade el cromógeno tetrametilbenzidina (TMB). Este cromógeno tiene la doble ventaja de ser más sensible que otros cromógenos de peroxidasa y de no ser cancerígeno.

En caso de presencia de inmunoglobulinas específicas de *Brucella* en el suero, el conjugado permanece fijado en la cúpula que contiene el antígeno *Brucella* y la enzima cataliza la transformación del cromógeno incoloro en un producto azul. La intensidad de la coloración es proporcional al contenido en anticuerpos específicos presentes en la muestra.

C. Material y equipamiento necesarios, pero no suministrados

- Agua destilada/desmineralizada.
- Pipeta mono o multicanal de precisión (gama 2-20 µl, 20-200 µl y 100-1000 µl), conectores de un solo uso y reservorios para reactivos.
- Lector de microplaca (filtro 450 nm).
- Limpiador de microplacas (opcional).
- Microplacas de dilución.
- Incubadora a 21 ± 3 °C.
- Material de laboratorio estándar: probeta graduada, gradilla, tapa, ...

Kit complementario

- **Tracer Brucella (Ref.: BDE K 140):** Material de referencia interno para la serología de la brucelosis con ELISA.

D. Precauciones de uso

- Almacenar estos reactivos entre +2 y +8 °C.
- Las tiras no utilizadas se conservan en el sobre de aluminio cerrado herméticamente con su desecante.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad.
- Utilizar siempre agua destilada / desmineralizada.
- La solución de frenado está hecha con ácido fosfórico 1 M. Manipular este producto con cuidado.
- Eliminar el material utilizado respetando la legislación en vigor en materia de protección del medio ambiente y de gestión de residuos biológicos.
- Conservar la solución de TMB protegida de la luz.

E. Preparación de las soluciones

- Las soluciones se deben preparar antes de la utilización.
- La solución de lavado se debe diluir en agua destilada / desmineralizada **en una proporción de 1:20**. La solución cristaliza de forma espontánea en frío. Llevar el frasco a 21 ± 3 °C para que desaparezcan todos los cristales; mezclar bien la solución y extraer el volumen necesario.
- La solución de dilución está lista para ser utilizada. La solución de dilución es de color amarillo. Se utiliza para la dilución de las muestras, los controles positivo y negativo, y el conjugado.
- El conjugado se debe diluir en la solución de dilución **en una proporción de 1:50**.
- La solución de frenado está lista para ser utilizada.
- La solución de TMB está lista para ser utilizada. La solución debe ser completamente incolora.

F. Preparación de las muestras

- Las muestras de sueros, así como los controles del kit (positivo y negativo) se deben diluir en la solución en una proporción 1:100 y homogeneizar a continuación. Se debe evitar el uso de muestras hemolizadas o coaguladas.

Se recomienda la dilución en dos etapas:

- 1) 10 µl de muestra + 90 µl de solución de dilución en microplaca de dilución.
- 2) 10 µl de la primera etapa + 90 µl de solución de dilución en la placa de la prueba.

G. Procedimiento

- Todos los componentes deben llevarse a 21 ± 3 °C antes de su utilización.
 - Leer atentamente los puntos anteriores.
1. Distribuir las muestras de suero **diluidas** y los controles del kit **diluidos** a razón de **100 µl** por pocillo. Cubrir e incubar la placa a **21 ± 3 °C** durante **60 ± 5 min**.
 2. Eliminar el contenido de la microplaca. **Lavar 3 veces** la microplaca con **300 µl** de solución de lavado por pocillo. Evitar la formación de burbujas en las cúpulas y que la microplaca se seque entre los lavados.
 3. Añadir **100 µl** de **conjugado diluido** por pocillo. Cubrir e incubar la placa a **21 ± 3 °C** durante **60 ± 5 min**.
 4. Eliminar el contenido de la microplaca. **Lavar 3 veces** la microplaca con **300 µl** de solución de lavado por pocillo. Evitar la formación de burbujas en las cúpulas y que la microplaca se seque entre los lavados.
 5. Dispensar **100 µl** de la solución TMB por pocillo. Incubar a **21 ± 3 °C** durante **10 ± 1 min**, protegida de la luz, y sin cubrir.
 6. Dispensar la **solución de frenado** a razón de **100 µl** por pocillo. El color cambia de azul a amarillo.
 7. Registrar las densidades ópticas con un espectrofotómetro de placa mediante un filtro de **450 nm** durante los **5 minutos** siguientes a la incorporación de la solución de frenado.

H. Validación de los resultados

La prueba solo se considerará **válida** si:

- la diferencia entre las lecturas de densidad óptica (DO) del control positivo y del control negativo es superior a 0,800.

$$DO \text{ control positivo} - DO \text{ control negativo} > 0,800$$

- la densidad óptica del control negativo es inferior a 0,300.

I. Interpretación de los resultados

Calcular el coeficiente (M/P %) para cada muestra mediante la siguiente fórmula:

$$\%E/P = \frac{DO \text{ échantillon} - DO \text{ contrôle négatif}}{DO \text{ contrôle positif} - DO \text{ contrôle négatif}} * 100$$

	Resultados	Estatus
Muestra individual	% M/P < 40 %	Negativo
	% M/P ≥ 40 %	Positivo
Mezcla de 10	% M/P < 15 %	Negativo
	% M/P ≥ 15 %	Positivo

Obtenga rápida y fácilmente la interpretación de sus resultados gracias a nuestra plataforma en línea gratuita **AnalysiScreen**, disponible en nuestro sitio web: <https://www.biox.com>



AnalysiScreen™ es el nuevo módulo de lectura e interpretación de todos los tipos de placas ELISA Monoscreen™ y Multiscreen™. AnalysiScreen™ es:

- Gratuito
- Accesible en línea a través de nuestro sitio web: <https://www.biox.com>
- Actualizado en tiempo real
- Compatible con todos los diseños de placas Bio-X Diagnostics
- Muy fácil de usar

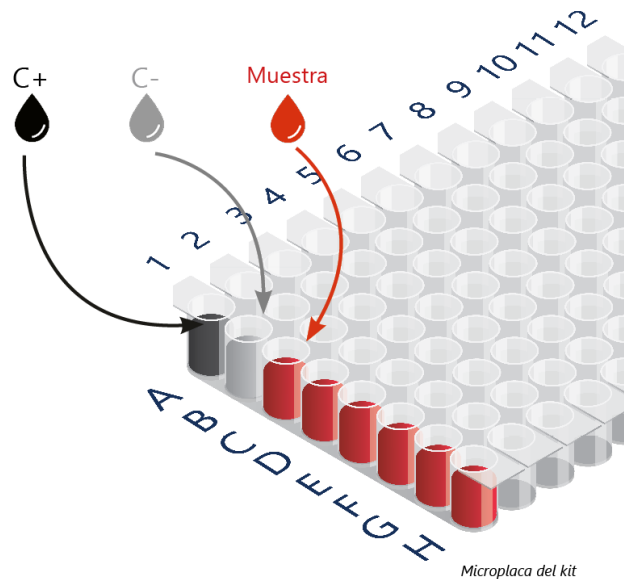


SCAN ME

Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Referencia del catálogo
	Fabricante
	Límite superior de temperatura
	Utilizar hasta
	Código del lote
	Consultar las instrucciones de uso
	Contenido suficiente para «n» tests
	Para uso veterinario <i>in vitro</i> únicamente – Para uso animal únicamente
	Conservar protegido de la luz
	Conservar en seco

1 | Dispensar 100 µL de muestras diluidas (1/100) y de los controles del kit diluidos (control positivo y negativo) (1/100)



2 | Añadir 100 µL de conjugado diluido (1/50)

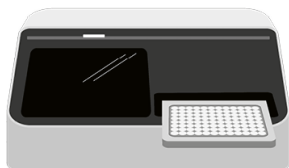


3 | Añadir 100 µL de TMB



4 | Añadir 100 µL de solución de frenado

5 | Registrar las densidades ópticas



*Las notas no sustituyen al modo de empleo, ya que son únicamente un resumen del mismo.