

Monoscreen AbELISA Brucellosis

Referencia: BIO K 140

Prueba ELISA para el diagnóstico serológico de *Brucella abortus*

Monocúpula, prueba indirecta

Uso *in vitro* y estrictamente veterinario



| Muestra | Especie | Análisis individual | Análisis en mezcla*, posible hasta |
|--------------|---------|---------------------|------------------------------------|
| Suero/Plasma | 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 (20X) | Solución de lavado (20X) | A | D00695 | 1 x 100 mL | D00696 | 1 x 250 ml |
| Dilution solution (1X) | Solución de dilución teñida (1X) | A | D01511 | 3 x 125 mL | D01555 | 3 x 250 ml |
| TMB solution (1X) | Solución de TMB monocomponente (1X) | A | D01585 | 1 x 30 mL | D01557 | 1 x 60 ml |
| Stop solution (1X) | Solución de parada (1X) | A | D00680 | 1 x 30 mL | D01556 | 1 x 60 ml |
| Conjugate (50X) | 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. |
| 23/04/2026 | V03 | Modificación del nombre del kit e introducción. Adición de la tabla de símbolos. |

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

A. Introducción

Brucella es el agente causante de la brucelosis, una enfermedad infecciosa y contagiosa en los animales, transmisible al ser humano. El género *Brucella* comprende diez especies clasificadas según su poder patógeno y sus huéspedes; siete especies pueden aislarse de mamíferos terrestres: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae* y *B. microti*.

Los principales reservorios animales de *Brucella* son el ganado vacuno (*B. abortus*), el ovino y caprino (*B. melitensis*) y el porcino doméstico (*B. suis*). En los animales, la brucelosis se manifiesta en forma de abortos, disminución de la fertilidad y pérdidas de producción lechera, lo que puede acarrear importantes pérdidas económicas. La enfermedad se transmite principalmente por contacto directo con animales infectados o por el consumo de productos lácteos no pasteurizados procedentes de animales infectados. Las bacterias pueden sobrevivir durante varios meses fuera del organismo del animal, en el medio exterior, especialmente en condiciones de frío y humedad. Estas bacterias presentes en el medio ambiente siguen siendo una fuente de infección para otros animales, que se contagian por contacto cercano (vía respiratoria o conjuntival, o incluso por ingestión). El diagnóstico de la brucelosis puede resultar difícil, ya que los síntomas suelen ser similares a los de otras enfermedades. Para diagnosticar la brucelosis es necesario realizar pruebas específicas.

B. Principio de la prueba

Este test ELISA se ha desarrollado y validado para la detección de *Brucella abortus* en el ganado vacuno.

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 parada 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 parada 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 parada** 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 parada.

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

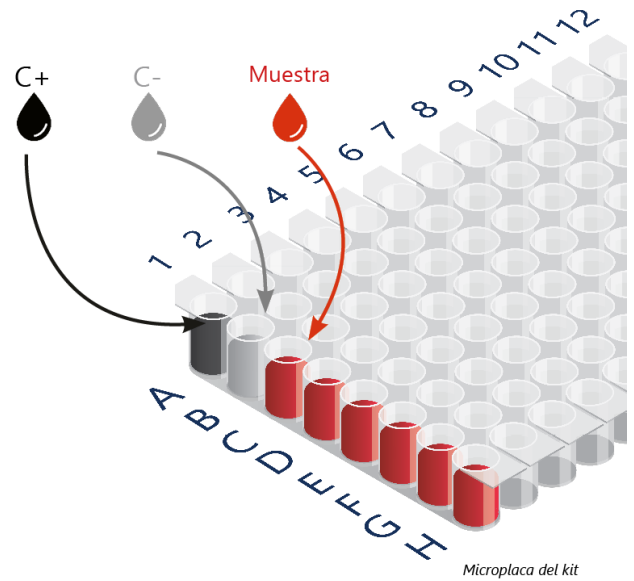


SCAN ME

Tabla de símbolos

| Símbolo | Significado |
|---------|-------------------------------------|
| | Referencia en el catálogo |
| | Fabricante |
| | Límite de temperatura |
| | Utilizar hasta |
| | Código del lote |
| | Consultar las instrucciones de uso |
| | Contenido suficiente para «n» tests |
| | Conservar protegido de la luz |
| | Conservar en un lugar seco |
| | Sustancia corrosiva |
| | Producto peligroso/irritante |

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



- 2 | Añadir 100 μ L de conjugado diluido (1/50)

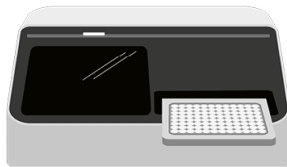


- 3 | Añadir 100 μ L de TMB



- 4 | Añadir 100 μ L de solución de parada

- 5 | Registrar las densidades ópticas



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