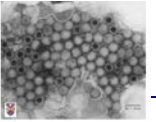
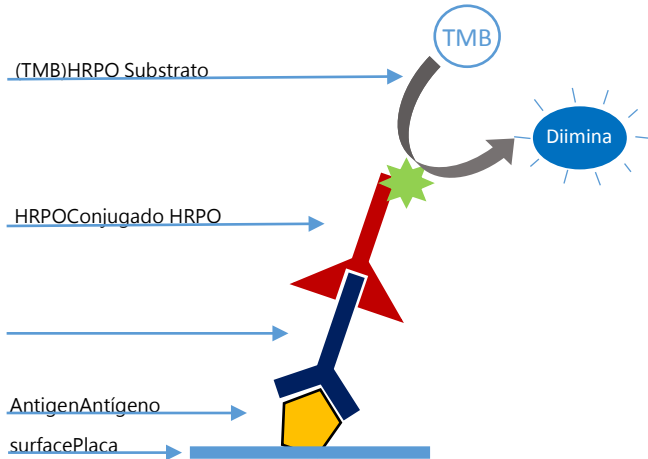


## INgezim BTV-MILK

R.12.BTV.K1



**INgezim BTV-MILK** es un ensayo enzimático basado en la técnica de ELISA indirecto que utiliza un anticuerpo monoclonal específico frente a IgG bovina, ovina y caprina, y antígeno recombinante.



### BASE TÉCNICA DEL KIT

1. Placas tapizadas con antígeno de BTV (proteína VP7 recombinante). Las muestras de leche se añaden en los pocillos y se incuban.
2. Si la muestra contiene anticuerpos frente a BTV, éstos se unen al antígeno tapizado.
3. Al añadir el anticuerpo monoclonal específico conjugado con Peroxidasa, éste se unirá a las inmunoglobulinas presentes en la muestra en el caso de que sea positiva. Si no hay anticuerpos en la muestra específicos de BTV, el conjugado quedará libre. Esta unión se revela mediante reacción colorimétrica tras la adición del sustrato.

### APLICACIÓN

1. Detección de anticuerpos específicos de la proteína VP7 de BTV en **muestras de leche**.
2. Uso de muestras individuales y en tanque (20-200).

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El ensayo establece un cut off. Las muestras se considerarán **Positivas**, cuando su valor de DO a 450 nm sea igual o superior al cut off. Las muestras se considerarán **Negativas**, cuando su valor de DO a 450 nm sea inferior al cut off. Las muestras que presenten valores de DO de  $\pm 10\%$  del cut off se considerarán **sospechosas**.

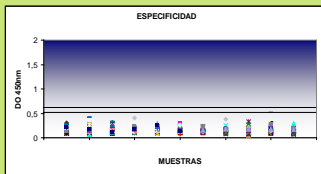
### VALIDACIÓN

#### 1. Especificidad en ensayos de campo

Se han analizado 1043 muestras individuales de leche de granjas libres de BTV.

- 1030 muestras negativas procedentes de España.
- 13 muestras negativas procedentes de Alemania

Los resultados indican una sola muestra con resultado dudoso por lo que la **especificidad** del ensayo en este estudio es 99,9%.

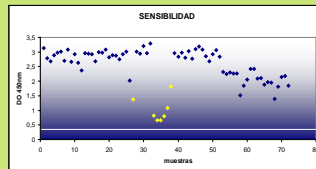


#### 2. Sensibilidad en ensayos de campo.

Se analizaron un total de 72 muestras previamente caracterizadas como positivas.

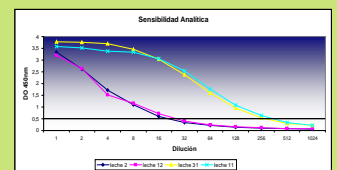
- 19 muestras positivas individuales de granjas alemanas.
- 46 muestras positivas individuales de granjas españolas.
- 7 muestras positivas en tanque de granjas españolas (☼).

Todas ellas dieron resultado positivo. La sensibilidad del ensayo con muestras de campo en este estudio fue 100%



#### 3. Sensibilidad y Especificidad analítica.

Se titularon 14 muestras positivas con diferentes grados de positividad en diluciones seriadas en leche negativa. Los resultados obtenidos indican que el ensayo es capaz de detectar una muestra positiva a diluciones entre 20 y 200 dependiendo de su grado de positividad. Un ejemplo de estos resultados se muestra en la figura



### COMPOSICION DEL KIT

- Placas de microtitulación de 96 pocillos.
- Vial con Control Positivo para BTV.
- Vial con Control Negativo para BTV.
- Vial de Conjugado específico de IgG de rumiantes
- Frascos con Solución de lavado concentrada.
- Frascos con diluyente.
- Frasco con sustrato (TMB) listo para usar.
- Frasco conteniendo solución de frenado.



PRODUCTO FABRICADO POR INGENASA

NÚMERO DE REGISTRO 1287 RD

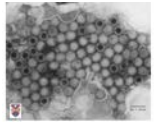


CADUCIDAD: **12 meses**  
Conservado a 2°C-8°C

Ed.020217

## INgezim BTV-MILK

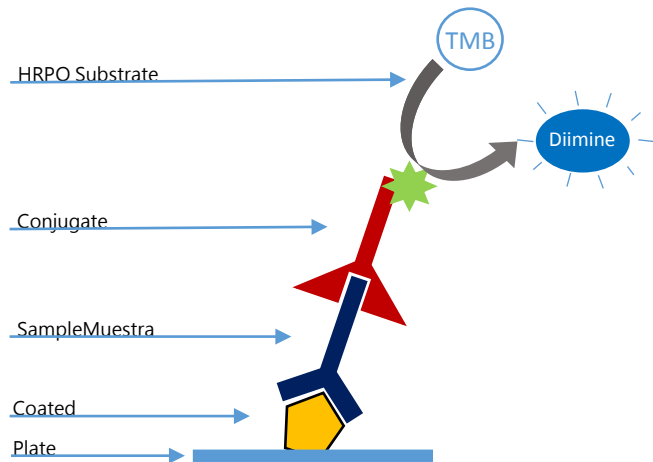
R.12.BTV.K1



**INgezim BTV-MILK** is an enzymatic assay based on an indirect ELISA technique, which uses a monoclonal antibody (Mab) specific for IgG of cattle, sheep and goats; and a recombinant antigen.

### TECHNICAL BASIS OF THE KIT

- Plates are supplied coated with BTV antigen (recombinant VP7 protein). Milk samples are added and incubated.
- If the samples contain specific antibodies to BTV, they will bind to the antigen.
- Once the conjugate is added, it will bind to the protein only if there are antibodies of the sample bound to the antigen (positive animals). In case there are no antibodies bound to the antigen (negative animals), the conjugate will not be able to bind to it. The binding is detected by the development of a colorimetric reaction after the addition of the substrate.



### APPLICATION

- Detection of specific antibodies to BTV VP7 protein in milk samples.
- Use of tank and individual milk samples

### INTERPRETATION OF THE RESULTS

One cut off is used for the results interpretation. Samples will be considered **Positive** if the OD value is higher than the cut off. Samples will be considered **Negative**, if the OD value is equal to or lower than the negative cut off. Samples with OD values between the cut off value  $\pm 10\%$  will be considered **Doubtful**.

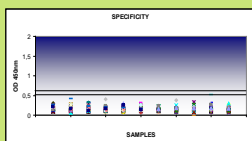
### VALIDATION

#### 1. Specificity in field trials

1043 milk samples were analysed from BTV free herds.

- 1030 negative milks from Spain.
- 13 negative milks from Germany.

The results indicate just one suspicious sample; hence, **specificity in this study is near 100%**.

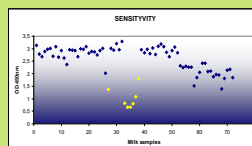


#### 2. Sensitivity in field trials

72 previously classified positive samples were analysed.

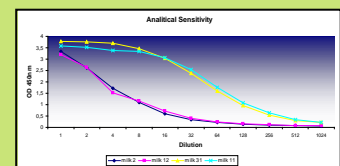
- 19 individual positive milk samples from Germany.
- 46 individual positive milk samples from Spain.
- 7 positive milk tanks from Spain ( )

All samples assayed were detected. Hence, in this study, the assay showed 100% sensitivity.



#### 3. Analytical sensitivity.

14 positive samples with different grades of positivity were serially diluted in negative milk. The results obtained indicate that the assay is able to detect positive samples in tanks of 20-200 dilutions depending on the positivity of the sample (the figure represents four examples).



### COMPOSITION OF THE KIT

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



PRODUCT MANUFACTURED BY INGENASA

SPANISH REGISTRATION No 1287-RD



Shelf life: **12 months**  
Store at 2°C-8°C

Ed.020217