



VETSTRIP® Brucella Bovinos

Card Test

Test inmunocromatográfico en un solo paso para la detección de anticuerpos anti-Brucella en muestras de suero, plasma, sangre entera y leche de bovinos.

One step immunochromatographic test for the detection of anti-Brucella antibodies in bovine serum, plasma, whole blood and milk.

Uso veterinario

Solo autorizada su venta a laboratorios inscriptos en la Red Nacional del SENASA.

Versión: 15VSC03_v09092022

00

LFA



Bovinos

Chemtest Argentina S.A.

Av. 25 de Mayo 1021, San Martín (C.P. 1650), Buenos Aires, Argentina.

info@chemtest.net - chemtest.net

Nombre y Aplicación

VETSTRIP® Brucella Bovinos es un test inmunocromatográfico en un solo paso para la detección de anticuerpos específicos contra el polisacárido O de Brucella en muestras de suero, plasma, sangre entera y leche de bovinos. Gracias a la incorporación de la exclusiva tecnología GlycoEng que permite diseñar y producir glicoproteínas recombinantes, VETSTRIP® Brucella Bovinos posee un excelente desempeño diagnóstico.

Los anticuerpos anti-polisacárido O constituyen un excelente marcador específico de infección brucélica. La detección exclusiva de esos anticuerpos permite confirmar el diagnóstico de la infección eliminando el riesgo de reacciones falso-positivas debido a reacciones cruzadas por la presencia de anticuerpos dirigidos contra epitopes comunes presentes en el lípido A y el core oligosacárido del LPS de otras bacterias. Además, minimiza las reacciones falso-positivas debido a la presencia de anticuerpos residuales producidos en respuesta a la vacunación con S19. Las muestras obtenidas antes de los 6 meses post-vacunación con S19 podrían resultar reactivas. Por lo tanto, para los animales avanzados de gestación, infertilidad, retención placentaria, nacimientos prematuros y disminución de la producción láctea. En los machos la infección puede producir infertilidad, epididimitis y orquitis. Debido al alto impacto económico de la enfermedad en la producción y sanidad animal y al riesgo de

Introducción

La brucelosis es una zoonosis altamente contagiosa causada por bacterias Gram-negativas del género Brucella. Brucella abortus es el principal agente causal de la brucelosis del ganado bovino. Esta enfermedad produce, en las hembras preñadas, abortos en períodos avanzados de gestación, infertilidad, retención placentaria, nacimientos prematuros y disminución de la producción láctea. En los machos la infección puede producir infertilidad, epididimitis y orquitis.

Debido al alto impacto económico de la enfermedad en la producción y sanidad animal y al riesgo de

transmisión a la población humana, la mayoría de los países han implementado programas para el control y/o erradicación de la brucelosis en el ganado. En particular, el control de la brucelosis bovina depende de la vacunación, principalmente con la cepa vacunal S19, como así también de la detección y sacrificio de los animales infectados.

El diagnóstico confirmatorio de brucelosis se realiza en forma directa mediante el aislamiento del microorganismo a partir de cultivos de sangre, médula ósea u otros tejidos. Sin embargo, debido al crecimiento lento de Brucella a partir de cultivos primarios (hasta 7 días), el riesgo involucrado en su manejo y la baja sensibilidad del aislamiento bacteriológico determinan que el diagnóstico basado exclusivamente en el aislamiento de Brucella no siempre sea factible y eficaz. Por este motivo el diagnóstico de laboratorio de brucelosis bovina se basa principalmente en el diagnóstico serológico mediante la detección de anticuerpos específicos contra el agente infeccioso en muestras de suero, plasma y/o leche. En este sentido, es fundamental que el método serológico utilizado permita discriminar claramente los animales que han sido vacunados de aquellos naturalmente infectados, y de esta manera evitar el sacrificio innecesario de animales vacunados.

Principio de la técnica

VETSTRIP® Brucella Bovinos es un test inmunocromatográfico basado exclusivamente en la detección de anticuerpos del isotipo IgG dirigidos contra el polisacárido O del LPS de Brucella.

La prueba se basa en la captura inmunológica de nanopartículas de oro recubiertas con anticuerpos de cabra anti-IgG bovina durante su paso a través de una membrana. Las inmunoglobulinas de isotipo IgG presentes en la muestra de suero reaccionan con las partículas de oro funcionalizadas con los anticuerpos anti-IgG bovina y los complejos formados migran por cromatografía hacia la zona de reacción. En esta zona se ha inmovilizado el antígeno (glicoproteína recombinante producida utilizando la tecnología GlycoEng) y anticuerpos anti-IgG de cabra en las líneas de ensayo (TL) y control (CL), respectivamente.

Si la muestra contiene anticuerpos IgG dirigidos contra el polisacárido O de Brucella, los complejos nanopartícula-anticuerpo son capturados por el antígeno inmovilizado en la membrana lo cual se visualiza

como una banda de color rosa/rojo. Independientemente de la presencia en la muestra de anticuerpos IgG anti-polisacárido O de Brucella, los complejos que no fueron capturados en la TL continúan migrando y son capturados en la CL por los anticuerpos anti-IgG de cabra dando origen también a la formación de una banda de color rosa/rojo. La aparición de la línea de control indica que la cromatografía se ha desarrollado correctamente y en condiciones que aseguran la reacción antígeno-anticuerpo.

Componentes del kit

Componentes	15-VSC01-10C	15-VSC01-20C
Tarjetas de prueba (en envoltorio trilaminado para protección de la luz y humedad)	x 10	x 20
Diluyente de muestra (gotero de plástico)	1 x 2 ml	1 x 4 ml
Capilares graduados y heparinizados	x 10	x 20
Pipetas Pasteur	x 10	x 20
Manual de instrucciones	x 1	x 1

Materiales necesarios no incluidos en el kit

- Cronómetro.
- Micropipeta y puntas descartables (para suero y plasma).
- Lancetas o agujas (para punción venosa).

Almacenamiento y vencimiento

- Almacenamiento: conservar a temperatura ambiente entre 15 y 25°C.
- Temperatura de transporte: 15 a 25°C.
- Período de vida útil: 12 meses.

Precauciones

1. Leer atentamente y seguir todas las instrucciones de uso ajustándose estrictamente al procedimiento detallado en el Manual de instrucciones del kit.
2. Conservar el kit y todos sus componentes a temperatura ambiente (15-25°C).
3. Mantener las tarjetas de prueba en su envoltorio original con desecante y herméticamente cerrado para protegerlas de la luz y la humedad.
4. Sacar las tarjetas de prueba de su envoltorio original solo inmediatamente antes de usarlas.
5. Manipular todos los reactivos y materiales siguiendo la Buenas Prácticas de Laboratorio.
6. Las muestras de suero, plasma, sangre entera y leche deben considerarse potencialmente infecciosas y, por lo tanto, los componentes del kit que las contactan deben manipularse con guantes y descartarse como residuo patológico según la normativa legal vigente. El resto de los componentes del kit no representan ningún daño potencial a la salud o al medio ambiente.
7. No usar el kit pasada la fecha de caducidad o si los componentes no fueron conservados en las condiciones indicadas arriba.
8. No mezclar componentes o manuales de instrucciones de kits de distintos lotes.
9. La conservación correcta de todos los componentes del kit permitirá su uso de este hasta la fecha de caducidad.

Obtención y almacenamiento de las muestras

Las muestras contaminadas, en mal estado y/o mal conservadas pueden producir resultados erróneos.

Sangre entera por punción con lanceta o aguja

1. Limpiar la zona que se va a punzar con un una gasa o algodón con etanol 70%.
2. Perforar con una lanceta o aguja estéril. Utilizar una lanceta/aguja nueva para cada animal.
3. Tocar con la punta del capilar heparinizado la gota de sangre y coleccionar hasta la segunda marca negra (40 µl) indicada en el tubo capilar (ver figura 1). Evitar la formación de burbujas de aire.
4. Analizar inmediatamente después de la recolección.

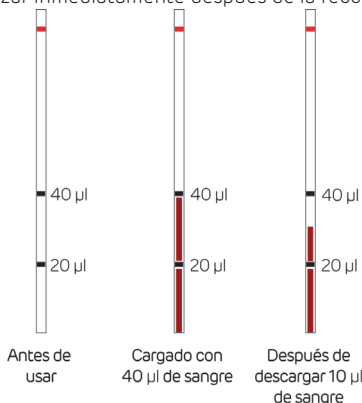


Figura 1: Esquema de los capilares heparinizados y graduados. La marca roja indica que el capilar se encuentra recubierto en su interior con heparina sódica. Las marcas de graduación de color negro indican hasta donde debe cargarse el capilar para coleccionar 20 µl y 40 µl de sangre entera.

Sangre entera por venopunción

1. Colectar las muestras por venopunción en tubos con anticoagulante (heparina o citrato de sodio) y homogeneizar bien para evitar la coagulación de la sangre. No usar EDTA como anticoagulante.
2. Si las muestras no se analizan de forma inmediata se pueden conservar en heladera (2-8°C) durante 1 ó 2 días. En estos casos dejar que las muestras alcancen la temperatura ambiente y homogeneizar bien antes de realizar el análisis. No congelar las muestras de sangre entera.

Plasma

1. Colectar las muestras de sangre por venopunción en tubos con anticoagulante (heparina o citrato de sodio). No usar EDTA como anticoagulante.
2. Obtener el plasma mediante centrifugación de la sangre a 3000 rpm durante 10 min.
3. Si las muestras no se analizan de forma inmediata se pueden conservar en heladera (2 a 8°C) durante 1 o 2 días. Para una conservación más prolongada se deben conservar en el freezer (-15 a -22°C). En estos casos dejar que las muestras alcancen la temperatura ambiente y homogeneizar bien antes de realizar el análisis.

Suero

1. Colectar las muestras por venopunción en tubos SIN anticoagulante.
2. Luego de la coagulación de la sangre (incubar 15 min a 37°C) obtener el suero mediante centrifugación a 3000 rpm durante 10 min.
3. Si las muestras no se analizan de forma inmediata se pueden conservar en heladera (2 a 8°C) durante 1 o 2 días. Para una conservación más prolongada se deben conservar en el freezer (-15 a -22°C). En estos casos dejar que las muestras alcancen la temperatura ambiente y homogeneizar bien antes de realizar el análisis.

Leche

1. Colectar la leche en un recipiente limpio.
2. Se debe usar siempre leche fresca recién obtenida o conservada en refrigerador por un período no mayor a 3 días. Si se utilizan muestras que fueron almacenadas en el refrigerador durante el período establecido, previo al análisis llevar las muestras a temperatura ambiente y homogeneizar suavemente. No congelar las muestras de leche.

Procedimiento (ver figura 2)

1. Retirar la tarjeta de prueba de su envoltorio original y colocarla sobre una superficie limpia y plana.
2. Agregar la muestra y el diluyente de muestra en el pad indicado con la letra S.

Para sangre entera por punción con lanceta o aguja

-Descargar en la tira reactiva 10 µl de sangre entera tocando el pad (S) con la punta del capilar precargado.

Nota: se recomienda cargar el capilar hasta la marca de 40 µl y luego descargar hasta la zona media entre las marcas de 40 y 20 µl (ver figura 1).

-Agregar sobre el pad (S) de la tira reactiva 4 gotas del Diluyente de muestra. Siempre esperar que se absorba el volumen de diluyente añadido entre gota y gota.

Para sangre entera por venopunción, suero y plasma

-Agregar con micropipeta 10 µl de la muestra sobre el pad (S). Esperar que la muestra se absorba completamente.

-Agregar sobre el pad (S) de la tira reactiva 4 gotas del Diluyente de muestra. Siempre esperar que se absorba el volumen de diluyente añadido entre gota y gota.

Para leche

-Agregar con la pipeta Pasteur una gota o con micropipeta 35 µl de leche sobre el pad (S) y esperar

que se absorba totalmente.

-Agregar sobre el pad de la tira reactiva 4 gotas del Diluyente de muestra. Siempre esperar que se absorba el volumen de diluyente añadido entre gota y gota.

3. Esperar 15 minutos y leer el resultado.

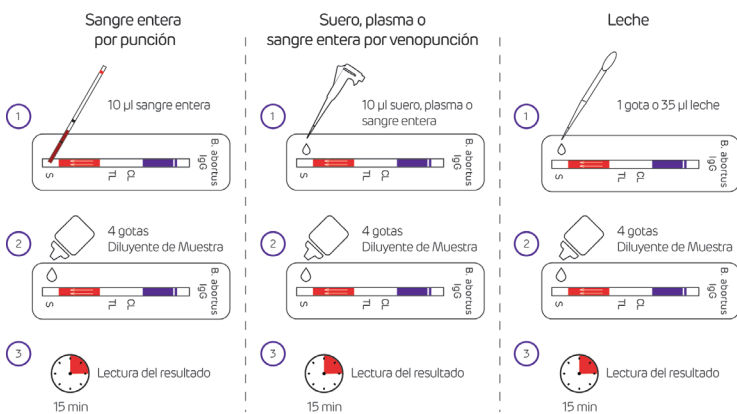


Figura 2: Procedimiento de la prueba para los distintos tipos de muestra.

Interpretación de los resultados (ver figura 3)

Positivo: cuando se observan dos bandas de color rojo púrpura, una correspondiente a la línea de ensayo (TL) y la otra a la línea de control (CL). Independientemente de la intensidad de color de la TL el resultado debe considerarse positivo.

Negativo: cuando sólo se observa una banda de color rojo púrpura correspondiente a la línea de control (CL).

Inválido: cuando no se observan bandas o sólo se observa una banda correspondiente a la línea de ensayo (TL). En este caso la prueba debe repetirse ajustándose estrictamente al procedimiento detallado en el Manual de instrucciones del kit.

Importante: toda banda que aparezca pasado el tiempo de lectura indicado no tiene valor diagnóstico.

Evaluación de desempeño

Evaluación de la sensibilidad y especificidad diagnóstica

Para determinar la sensibilidad y especificidad diagnóstica del ensayo, se analizaron muestras obtenidas de animales vacunados con la cepa S19 y provenientes de establecimientos libres de brucelosis (muestras negativas) y de animales serológicamente positivos por BPA, FPA y CFT* (muestras positivas).

El grupo de muestras negativas incluyó muestras serológicamente negativas para todas las pruebas (BPA, FPA y CFT) como así también muestras positivas por BPA pero negativas para el resto de las pruebas (FPA y CFT). A partir de los resultados obtenidos se calculó la sensibilidad y especificidad diagnóstica del ensayo: Sensibilidad = 98 % y Especificidad = 100 %

*BPA, ensayo de aglutinación en placa; FPA, ensayo de polarización de fluorescencia; CFT, ensayo de fijación de complemento.

Evaluación del efecto de la matriz

Los diferentes tipos de matriz (sangre entera, plasma y leche) y anticoagulantes (heparina y citrato de sodio) no afectan el resultado de la prueba con respecto a las muestras de suero. No utilizar EDTA como anticoagulante.

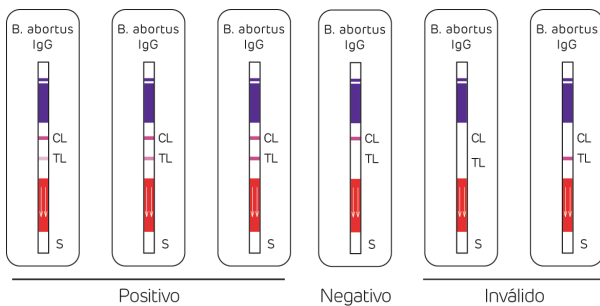


Figura 3: Interpretación de los resultados.

Advertencias

-Mantener fuera del alcance de los niños y animales domésticos.
Centro Nacional de Intoxicaciones: Tel. 0800-333-0160.

SENASA

-Certificado de uso y comercialización N° 20-010
-Estab. Elaborador N° 8675

Para asistencia técnica

Ante cualquier consulta por favor contactar al tel (+54 11) 5353 6066 o a través de info@chemtest.net / chemtest.net

Referencias

- Development of a novel glycoprotein-based immunochromatographic test for the rapid serodiagnosis of bovine brucellosis. J Appl Microbiol 2022 Mar 31. doi: 10.1111/jam.15556.
- A bacterial engineered glycoprotein as a novel antigen for diagnosis of bovine brucellosis. Veterinary Microbiology, Aug. 2014, 27; 172(3-4):455-65.
- Exploiting the Campylobacter jejuni protein glycosylation system for glycoengineering vaccines and diagnostic tools directed against brucellosis. Microbial Cell Factories 2012 Jan 25;11-13.