

# VETSTRIP® Brucella Caninos



## Formato dipstick

Test inmunocromatográfico en un solo paso para la detección de anticuerpos anti Brucella canis en muestras de suero de caninos.

*One step immunochromatographic test for the detection of anti Brucella canis antibodies in canine serum.*

00  
LFIA



Canino

Chemtest S.A.  
Av. 25 de Mayo 1021, San Martín (C.P. 1650), Buenos Aires, Argentina.  
info@chemtest.net - chemtest.net

**VETSTRIP® Brucella Caninos**

Formato dipstick

Contenido

Tiras reactivas	En envoltorio trilaminado para protección de la luz y humedad	20 tiras reactivas (5 tiras por envoltorio)
Diluyente de muestra	Listo para usar en gotero plástico descartable	1 x 7 ml
Manual de instrucciones		1

## Nombre y aplicación

### VETSTRIP® Brucella Caninos

#### Formato dipstick

Test inmunocromatográfico en un solo paso para la detección de anticuerpos específicos contra el lipopolisacárido rugoso (LPSr) de *Brucella canis* en muestras de suero de caninos.

#### Introducción

La brucelosis es una zoonosis altamente contagiosa causada por bacterias Gram-negativas del género *Brucella*. *Brucella canis* es el principal agente etiológico de la brucelosis canina. Esta enfermedad constituye una causa importante de fallas reproductivas principalmente en las "perreras" o criaderos de perros. *B. canis* causa abortos y muerte fetal intrauterina (mortinatos) en perras gestantes y epididimitis, orquitis, prostatitis y anomalías de espermáticas en machos. Estas manifestaciones clínicas pueden conducir a la esterilidad, un factor que produce importantes pérdidas económicas en criaderos de perros. Los perros que han sido castrados no tienen signos reproductivos, pero ocasionalmente desarrollan otras afecciones tales como enfermedad ocular y discospondilitis. Entre los perros la infección se transmite a través de fetos abortados contaminados, orina, leche, secreciones vaginales y semen. Además, *B. canis* puede propagarse a través de fómites; se ha demostrado que los perros no infectados que viven con animales infectados del mismo sexo pueden adquirir la infección dentro de los 6 meses. Debido a su potencial zoonótico, *B. canis* también puede transmitirse al hombre produciendo la enfermedad.

El control de la brucelosis canina depende exclusivamente de la detección y separación 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, orina, 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 estos motivos, el diagnóstico de laboratorio de brucelosis canina se basa principalmente en el diagnóstico serológico mediante la detección de anticuerpos específicos contra el agente infeccioso en muestras de suero.

#### Principio de la técnica

VETSTRIP® *Brucella Caninos* es un test inmunocromatográfico basado exclusivamente en la detección de anticuerpos del isotipo IgG dirigidos contra el LPSr de *Brucella canis*.

La prueba se basa en la captura inmuno-lógica de nanopartículas de oro recubiertas con anticuerpos de cabra anti-IgG canina 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 y los complejos formados migran por cromatografía hacia la zona de reacción. En esta zona se ha inmovilizado el antígeno (LPSr) y anticuerpos anti-IgG de cabra en las líneas de ensayo (TL) y control (CL), respectivamente.

Si la muestra contiene anticuerpos IgG dirigidos contra LPSr de *B. canis*, 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 LPSr de *B. canis*, 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**

#### **-Tiras reactivas en formato dipstick**

Tiras reactivas en envoltorio trilaminado sellado con sobres de sílica gel en su interior para protección de la luz y humedad.

-Diluyente de muestra (gotero con 7 ml)  
Listo para usar.

-Manual de instrucciones

### **Almacenamiento y vencimiento**

Conservar a temperatura ambiente entre 15 y 25°C.

Temperatura de transporte: 15 a 25°C.

Mantener las tiras reactivas en su envoltorio original herméticamente cerrado y con desecante para proteger las tiras de la luz y la humedad.

La conservación correcta de todos los componentes del kit permitirá el uso del mismo hasta la fecha de caducidad.

Vencimiento: 12 meses.

No utilizar componentes de diferentes lotes o después de la fecha de vencimiento.

### **Materiales necesarios no incluidos en el kit**

-Cronómetro.

-Tubos de vidrio tipo Khan o placas de 96 pocillos con fondo plano.

-Micropipeta.

-Puntas de micropipeta.

### **Precauciones de uso**

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 tiras reactivas en su envoltorio original con desecante y hermé-

ticamente cerrado para protegerlas de la luz y la humedad.

4. Sacar las tiras 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 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 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.

### **Reactivos y muestras**

#### **Diluyente de Muestra**

Listo para usar en gotero de plástico descartable.

#### **Muestras de suero**

Pueden analizarse sueros refrigerados o congelados, libres de turbidez. Las muestras se pueden guardar en heladera durante 1 ó 2 días. Para una conservación más prolongada se deben conservar a -20°C y, en estos casos, las muestras se deben descongelar totalmente, llevar a temperatura ambiente y homogeneizar antes de realizar el análisis. Las muestras contaminadas y/o en mal estado pueden producir resultados erróneos.

### **Instrucciones de uso (ver Figura 1)**

1. En un tubo de vidrio tipo Khan o una placa de 96 pocillos agregar 4 gotas de Diluyente de muestra (aproximadamente 100 µl).

2. Agregar al tubo o placa 5 µl de suero (previamente dejar que las muestras alcancen la temperatura ambiente). Ho-

mogeneizar.

3. Tomar una tira reactiva por la parte superior (color violeta) y colocarla en forma vertical en el tubo o la placa siguiendo la orientación de las flechas impresas sobre la tira reactiva. Cerrar con cinta adhesiva el sobre conteniendo el resto de las tiras.

4. Esperar 10 minutos, leer e interpretar el resultado de la prueba.

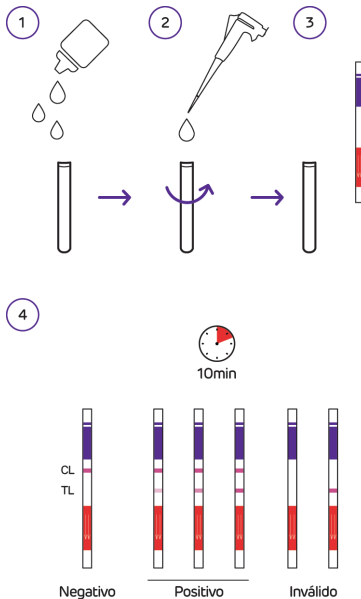


Figura 1: Instrucciones de uso e interpretación de los resultados.

### Interpretación de los resultados y criterios de validez (ver Figura 1)

**Resultado positivo del ensayo:** cuando se observan dos bandas de color rosa/rojo. Una correspondiente a la línea de ensayo (TL) y la otra a la línea de control (CL).

Nota: independientemente de la intensidad de color de la TL el resultado debe considerarse positivo.

**Resultado negativo del ensayo:** cuando sólo se observa una banda de color rosa/

rojo correspondiente a la línea de control (CL).

**Resultado inválido:** cuando no se observan bandas o cuando solo 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.

Toda línea que pueda aparecer pasados los 10 minutos no tendrá valor diagnóstico.

### Sensibilidad y especificidad diagnóstica

Para validar el test inmunocromatográfico VETSTRIP® *Brucella Caninos* se analizaron dos paneles de muestras diferentes.

**Panel I.** Muestras utilizadas para determinar la sensibilidad y especificidad diagnóstica. En este panel se incluyeron 71 muestras de suero obtenidas de perros con aislamiento positivo para *B. canis* y serológicamente positivos (RSAT\* e IDGA\* positivos) (n = 38 de Argentina y n = 33 de Colombia) y 213 muestras obtenidas de perros sanos de Argentina con resultados negativos por RSAT e IDGA.

**Panel II.** 203 muestras de suero codificadas proporcionadas por el Programa Nacional de Tenencia Responsable y Sanidad de Perros y Gatos (Presidencia de la Nación). Todas las muestras fueron analizadas en paralelo por RSAT y el kit VETSTRIP® *Brucella Caninos*. Las muestras que fueron positivas por RSAT y/o VETSTRIP® *Brucella Caninos* fueron analizadas adicionalmente por IDGA.

A partir de los resultados obtenidos se determinó la Se (98,6%) y Sp (100%) diagnóstica. Además, se observó una correlación casi perfecta del kit VETSTRIP® *Brucella Caninos* con el RSAT (estadístico de Cohen,  $\kappa = 0.831$ ).

\* RSAT, prueba rápida de aglutinación en placa; IDGA, inmunodifusión en gel de agarosa.

## Referencias

-Development of Improved Enzyme-based and Lateral Flow Immunoassays for Rapid and Accurate Serodiagnosis of Canine Brucellosis. M. E. Cortina, A. Novak, L. J. Melli, S. Elena, N. Corbera, J. E. Romero, A. M. Nicola, J. E. Ugalde D. J. Comerchi and A. E. Ciocchini. *Veterinary Microbiology* 2017 Sep;208:174-180.

**VETSTRIP® Brucella Canine**

Dipstick format

Kit components

<i>Strips</i>	In sealed tri-laminated pouch to protect the strips from light and moisture	20 strips (5 strips per pouch)
<i>Sample diluent</i>	Ready to use in plastic dropper bottle	1 x 7 ml
<i>Instruction manual</i>		1

## Name and application

### VETSTRIP® Brucella Canine

Dipstick format

One step immunochromatographic test for the detection of specific antibodies against the rough lipopolysaccharide (rLPS) of *Brucella canis* in canine serum samples.

### Introduction

Brucellosis is a highly contagious zoonosis disease caused by Gram-negative bacteria of the genus *Brucella*. The species *Brucella canis* is the causative agent of brucellosis in dogs and also a human pathogen. *B. canis* causes abortions and stillbirths in pregnant bitches and epididymitis, orchitis and prostatitis in males. These clinical manifestations can lead to sterility, a factor that produces important economic losses in dog breeding kennels. Dogs that have been neutered do not have reproductive signs, but they occasionally develop other conditions such as ocular disease and discospondylitis. Among dogs the infection is transmitted through contaminated aborted fetuses, urine, milk, vaginal secretions and semen. Additionally, *B. canis* can spread through fomites. It has been demonstrated that uninfected dogs living with infected animals of the same sex can acquire the infection within 6 months. Because of its zoonotic potential, *B. canis* can also be transmitted to humans causing the disease.

The control of canine brucellosis depends primarily on the detection and separation of infected animals. The confirmatory diagnosis of brucellosis is performed directly by isolating the organism from blood and/or semen/vaginal swab culture. However, due to the slow growth of *Brucella* in primary cultures (up to 7 days), the risk involved in manipulating the bacteria and low sensitivity of its isolation, determined that the isolation of

*Brucella* for diagnosis is not always feasible and effective. For this reason, the laboratory diagnosis of canine brucellosis is mainly based on the detection of specific antibodies against the infectious agent in serum samples.

### Principle of the technique

The VETSTRIP® *Brucella Canine* is an immunochromatographic test based on the detection of IgG antibodies directed against the *Brucella canis* rough lipopolysaccharide (rLPS).

The test is based on the immunological capture of gold nanoparticles coated with goat anti-canine IgG antibodies during its passage through a membrane. The IgG isotype immunoglobulins present in the serum sample react with gold particles functionalized with anti-canine IgG antibodies and the formed complexes migrate by chromatography to the reaction zone. In this area, the antigen (LPS<sub>r</sub>) and donkey anti-goat IgG antibodies were immobilized in the test (TL) and control lines (CL), respectively.

If the sample contains canine IgG antibodies directed against *B. canis* LPS<sub>r</sub>, the nanoparticle-antibody complexes are captured by the antigen immobilized on the membrane (TL) which is visualized as a pink/red band. Regardless of the presence in the sample of IgG antibodies anti-*B. canis* LPS<sub>r</sub>, the complexes that were not captured in the TL continue to migrate and are captured in CL by the anti-goat IgG antibodies, leading also to the formation of a pink/red band. The appearance of the control line indicates that the chromatography has been developed correctly and under conditions that ensure the antigen-antibody reaction.

### Kit components

#### -Strips in dipstick format

Reactive strips in sealed tri-laminated pouch with silica gel packets inside to



protect them from light and moisture.

-Sample diluent (dropper bottle with 7 ml)

Ready to use.

-Instruction manual

### **Storage and expiration**

Store at room temperature between 15 and 25°C.

Transport temperature: 15 to 25°C.

Keep the strips in their original packaging with the silica packets and hermetically sealed to protect them from light and moisture.

Proper storage of the kit and all reagents will allow the use until the expiration date.

Expiration: 12 months.

Do not use reagents from different lots or after the expiration date.

### **Materials needed but not provided**

-Timer.

-Khan test tubes or flat bottom 96-well microtitre plates.

-Micropipette.

-Micropipette tips.

### **Precautions**

1- Carefully read and strictly follow all instructions detailed in the manual included in the kit.

2- Store the kit and all reagents at room temperature (15-25°C).

3- Keep the strips in their original packaging with the silica packets and hermetically sealed to protect them from light and moisture.

4- Remove the strips from its pouch only immediately before using it.

5- Handle all materials and reagents according to the Good Laboratory Practices.

6- Serum samples should be considered potentially infectious and, therefore, the kit components that contact them

should be handled with gloves and disposed as pathological waste according to legal regulations. The rest of the kit components does not represent any potential risk for health and the environment.

7- Do not use the kit beyond expiration date or if the kit components were not kept in the conditions indicated above.

8- Do not mix components or instruction manuals from different test kits batches.

### **Reagents and samples**

-Sample diluent

Ready to use in plastic dropper bottle.

-Serum samples

Fresh, chilled or frozen serum samples, free of turbidity, can be analyzed. Samples can be stored in refrigerator for 1 or 2 days. For longer periods store at -20°C and, in these cases, the samples should be completely thawed, bring to room temperature and homogenize before performing the analysis. Samples contaminated and/or not well conserved may produce erroneous results.

### **Instructions for the analysis (see Figure 1)**

1. Dispense 4 drops of Sample diluent (approximately 100 µl).

2. Add to the tube or plate 5 µl of serum sample (previously allow the samples equilibrate to room temperature). Homogenize.

3. Take one test strip from the top (violet color) and place it vertically on the tube or plate following the orientation of the arrows printed on the test strip. Close the envelope containing the remaining strips with adhesive tape.

4. Wait 10 minutes, read and interpret the test result.

### **Interpretation of results and validity criteria of the test (see Figure 1)**

**Positive test result:** when two pink/red bands are observed. One corresponding

to the test line (TL) and the other corresponding to the control line (CL).

Note: regardless of the color intensity of the TL the result should be considered positive.

**Negative test result:** when only one pink/red band corresponding to the control line (CL) is observed.

**Invalid result:** when no bands are observed or when only one band corresponding to the test line (TL) is observed. In this case, the test must be repeated in strict accordance with the procedure detailed in the kit's Instruction manual.

Any line that may appear after the 10 minutes will not have diagnostic value.

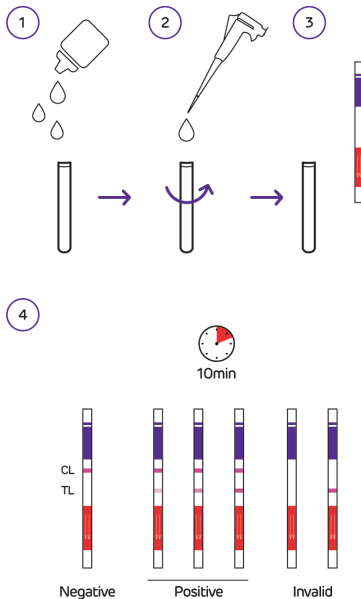


Figure 1: Instructions for the analysis and interpretation of results.

## Sensitivity and specificity

To validate the immunochromatographic assay VETSTRIP® Brucella Canine two different sample panels were analyzed.

**Panel I.** Samples used to determine the diagnostic sensitivity and specificity of the tests. This panel included 71 serum

samples obtained from culture-positive and serologically positive (RSAT\* and AGID\* positive) dogs ( $n = 38$  from Argentina and  $n = 33$  from Colombia), and 213 samples obtained from healthy dogs from Argentina with negative results by RSAT and AGID. The serum samples from Argentina were provided by the DILAB-SENASA and the sera from Colombia were provided by the Biogénesis group-Universidad de Antioquia.

**Panel II.** 203 encoded serum samples provided by the Programa Nacional de Tenencia Responsable y Sanidad de Perros y Gatos (ProTenencia, Ministerio de Salud de Nación, Argentina). All the samples were analyzed in parallel by RSAT (at SENASA) and the kit VETSTRIP® Brucella Canine. Samples that resulted positive by RSAT and/or the kit were additionally analyzed by AGID.

Based on the obtained results, the diagnostic sensitivity (Se) was 98.6% and the diagnostic specificity (Sp) 100%. In addition, an almost perfect correlation of VETSTRIP® Brucella Canine with RSAT (Cohen statistic,  $\kappa = 0.831$ ) was observed.

\* RSAT, rapid slide agglutination test; AGID, agar gel immunodiffusion test.


## References

-Development of Improved Enzyme-based and Lateral Flow Immunoassays for Rapid and Accurate Serodiagnosis of Canine Brucellosis. M. E. Cortina, A. Novak, L. J. Melli, S. Elena, N. Corbera, J. E. Romero, A. M. Nicola, J. E. Ugalde D. J. Comerchi and A. E. Ciochini. *Veterinary Microbiology* 2017 Sep;208:174-180.



00  
LFIA



 Chemtest S.A.  
Av. 25 de Mayo 1021, San Martín (C.P. 1650), Buenos Aires, Argentina.  
[info@chemtest.net](mailto:info@chemtest.net) - [chemtest.net](http://chemtest.net)