



VETSTRIP® Brucella Caninos

Card Test

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

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

Uso veterinario

15VSC03_v06042022

00

LFIA



Caninos

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 Caninos es un test inmunocromatográfico en un solo paso para la detección de anticuerpos específicos contra el lipopolisacárido rugoso (LPSr) de Brucella canis en muestras de suero, plasma y sangre entera de caninos.

Gracias a la incorporación del exclusivo sistema de purificación Pure-R que permite obtener antígenos altamente purificados y homogéneos, el kit posee un excelente desempeño diagnóstico.

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 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. 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, el 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, plasma o sangre entera.

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 inmunológica 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 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 (purificado mediante la exclusiva tecnología Pure-R) 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 (TL) lo cual se visualiza como una banda de color rojo púrpura. 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 rojo púrpura. La aparición de la línea de control indica que la cromatografía se ha desarrollado correctamente y en condiciones que aseguran la reacción antígeno-anticuerpo.

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.

Componentes del kit

Componentes	15-VSC03-10C	15-VSC03-20C
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
Manual de instrucciones	x 1	x 1

Materiales necesarios no incluidos en el kit

-Cronómetro.

-Micropipeta y puntas descartables (para suero, plasma y sangre).

-Lancetas o agujas (para punción venosa).

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 y sangre entera 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 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.

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.

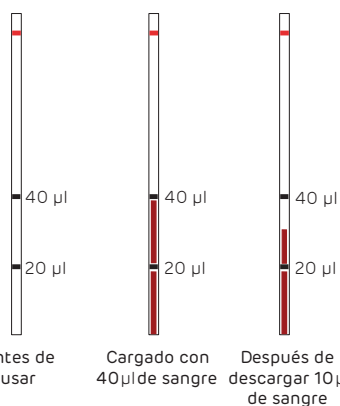


Figura 1: Esquema de los capilares heparinizados y graduados. La marca roja indica que el capilar se encuentra recubierto en su interior con heparina sódica. Las marcas de graduación de color negro indican hasta donde debe cargarse el capilar para coleccionar 20 µl y 40 µl de sangre entera.

Plasma

1. Colectar las muestras de sangre por venopunción en tubos con anticoagulante (heparina o citrato de sodio).

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.

Procedimiento (ver figura 2)

- Retirar la tarjeta de prueba de su envoltorio original y colocarla sobre una superficie limpia y plana.
- 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.

3. Esperar 15 minutos y leer el resultado.

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.

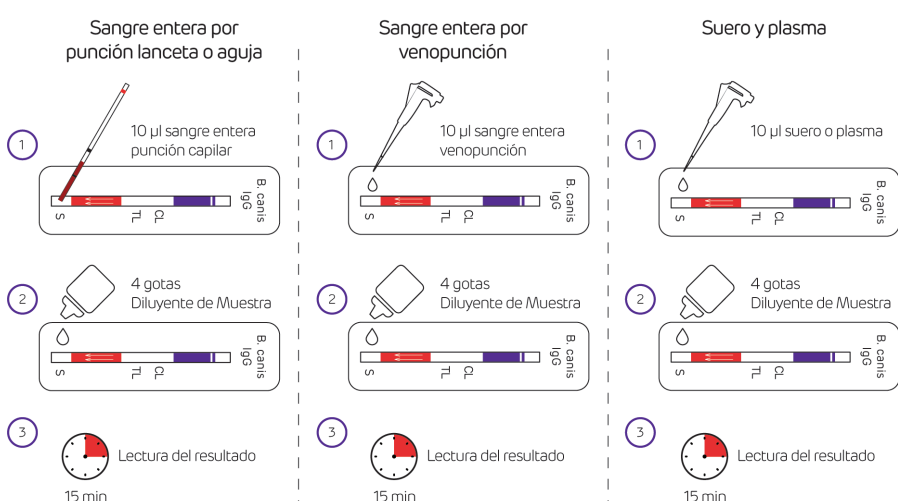


Figura 2: Procedimiento de la prueba para los distintos tipos de muestra.

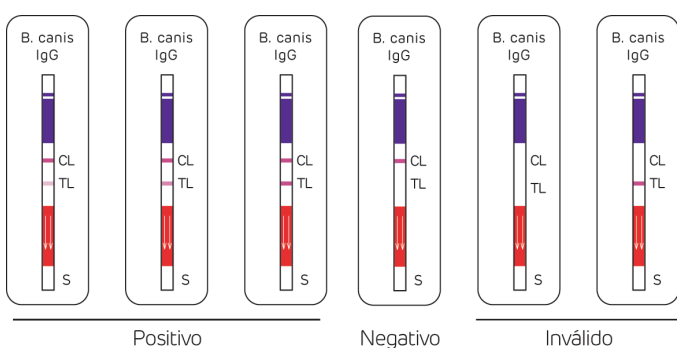


Figura 3: Interpretación de los resultados.

Evaluación de desempeño

Evaluación de la 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 muestras de suero obtenidas de perros con aislamiento positivo para B. canis y serológicamente

positivos (RSAT* e IDGA* positivos) y muestras obtenidas de perros sanos con resultados negativos por RSAT e IDGA.

Panel II. muestras de suero codificados 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 sensibilidad (97%) y especificidad (98%) diagnóstica del test. Además, se observó una correlación casi perfecta del kit VETSTRIP® Brucella Caninos con RSAT (estadístico de Cohen, $k = 0.831$).

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

Evaluación del efecto de la matriz

Los diferentes tipos de matriz (sangre entera y plasma) 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.

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° 20-084

-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 Improved Enzyme-based and Lateral Flow Immunoassays for Rapid and Accurate Serodiagnosis of Canine Brucellosis. Veterinary Microbiology 2017 Sep;208:174-180. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.08.005.