ES

MONOSCREEN AbELISA - *Besnoitia besnoiti*

Referencia: BIO K 466

BIOK466-*Besnoitia besnoiti*_PP01_(ES)_V02
23/01/2024

VALIDADOS POR EL ANSES** en individual y en mezcla

**Instituto nacional de referencia Francès

INFORMACIÓN SOBRE LA ENFERMEDAD

Besnoitia besnoiti es un protozoo intracelular estricto responsable de la besnoitiosis bovina, denominada también «anasarca bovina».
La enfermedad afecta principalmente a los animales jóvenes. La besnoitiosis es epizoótica en el sur de Francia, no obstante, actualmente está ampliamente extendida en África, Asia y en el suroeste de Europa. Teniendo en cuenta el calentamiento global y el transporte de animales, la enfermedad está avanzando progresivamente hacia el norte (primer caso en Bélgica en 2021, por ejemplo). La vía de transmisión preferente es transcutánea, a través de insectos picadores (tabánidos, moscas picadoras (género *Stomoxys*).

Durante la infección, a la fase de incubación de 3 a 6 días le siguen 3 estadios clínicos sucesivos:

- Un **estadio febril** de 3 a 7 días; la multiplicación de los taquizoitos en las células endoteliales de los vasos sanguíneos provoca una hipertermia en el animal.
- Una **segunda fase** de 1 a 2 semanas; los quistes de bradizoitos generan un edema subcutáneo.
- Una **fase crónica** de varios meses, caracterizada por alopecia y esclerodermia. Después, la piel se engrosa y se arruga notablemente, y se observan quistes parasitarios en la conjuntiva y la esclerótica. Esta fase última da lugar generalmente a la muerte del animal o a su eutanasia.

Bio-X Diagnostics ha sido pionero en el desarrollo de un método PCR que tiene la ventaja de detectar los animales infectados de forma muy precoz, en fase febril, mediante la detección de los taquizoitos en los monocitos de la sangre. Actualmente, está permitida una nueva fase diagnóstica para la detección de anticuerpos específicos de *Besnoitia besnoiti* en individual y mezcla mediante la prueba ELISA de bloqueo desarrollada según las especificaciones del ANSES.

«Un enfoque serológico específico y sensible»

OBJETIVO DE LA PRUEBA

- Detección rápida y eficaz de los anticuerpos específicos de *Besnoitia besnoiti* (IgM, IgG)
- Seguimiento de las estrategias de control y de tratamiento de la besnoitiosis bovina.
- Valores límite idénticos para los análises en mezcla y los análisis individuales que demuestran las **elevadas sensibilidad y especificidad de la prueba.**

ESPECIFICIDADES DE LA PRUEBA

BIO K 466 - MonoScreen AbELISA - *Besnoitia besnoiti*

Prueba ELISA monocúpula de bloqueo

Recubrimiento: lisado de cultivo de *Besnoitia besnoiti*

Para sueros

Dilución 1:2

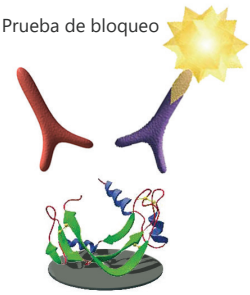
Utilización de un conjugado de proteína G

Lectura a 450 nm

Duración de la incubación 2h30 + 10 min

Sustrato: TMB monocomponente

Prueba de bloqueo



BIO K 466: MonoScreen AbELISA - *Besnoitia besnoiti*
Protocolo simplificado

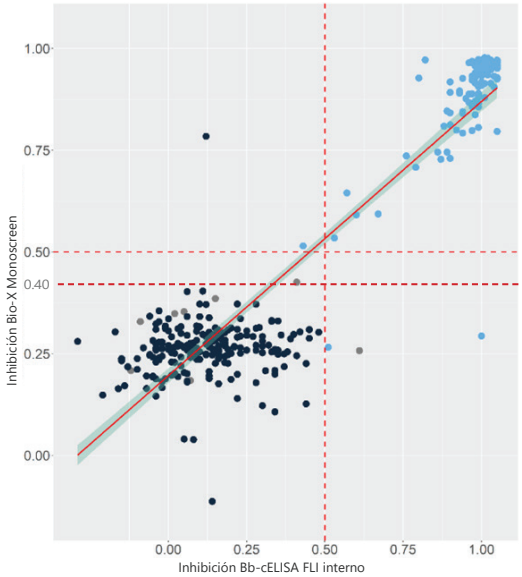
1. **Adición de las muestras**
2. 120 min — **Lavado**
3. **Adición del conjugado**
4. 30 min — **Lavado**
5. **Adición del TMB**
6. 10 min — **Adición de la solución de frenado**
7. **Registro de las densidades ópticas**
8. **Interpretación con AnalysiScreen en Biox**

EVALUACIÓN EXTERNA DE LA PRUEBA

"Validation of a commercial version of a competitive enzyme linked immunosorbent assay for the detection of antobodies to *Besnoitia besnoiti*."

Gereon Schares (FLI), Andrea Barwald, Marie-Astrid Vernet, Frédéric Bernard, Béatrice Blanchard, Philippe Coppe.

Se recogieron 305 sueros bovinos de rebaños alemanes infectados por *B. besnoiti*, *Neospora caninum* o *Sarcocystis* spp. Los sueros fueron clasificados mediante pruebas serológicas de referencia (es decir, inmunoblot, prueba de inmunofluorescencia y un ELISA indirecto interno)



Correlación de los valores de inhibición obtenidos en el Monoscreen AbELISA Besnoitia besnoiti *(BIO K 466) y el Bb-cELISA (FLI interno) que incluyen muestras de referencia* Besnoitia besnoiti *positivas (azul), muestras de referencia negativas (negro) y muestras de referencia negativas pero con un título de prueba de inmunofluorescencia positivo (gris).*

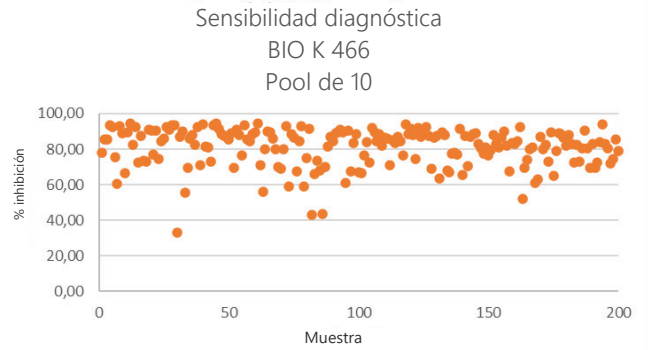
Sobre un panel cualificado de 305 sueros, el BIO K 466 presenta una **sensibilidad diagnóstica estimada del 97,9 %** y una **especificidad diagnóstica del 99,5 %** respecto a la referencia (tabla). Una comparación directa de los resultados reveló una concordancia casi perfecta entre los resultados del Bb-cELISA interno y la versión comercializada (Kappa 0,98; IC 95 %: 0,95 - 1). Los resultados positivos-negativos de ambas pruebas son ampliamente concordantes, solo cinco sueros de un total de 305 presentaron resultados divergentes (**véase gráfico al lado**)

Rebaño (número de rebaños)	Estatus	Cantidad (información complementaria)	Sensibilidad	Especificidad
Rebaños **Besnoitiosis** (n = 2)	Positivo *Besnoitia*	95 (título IFAT* positivo)	**97,9 %** [91,9 % - 99,6 %]	**99,5 %** [96,9 % - 100 %]
	Negativo *Besnoitia*	9 (título IFAT positivo)		
Rebaños Neosporosis (n = 1)	Positivo *Neospora*	97 (de los cuales 6 con aborto)		
	Negativo *Neospora*	4		
Rebaños Sarcocistis (n = 1)	NA**	100		

**IFAT, prueba de inmunofluorescencia, ** Sarcocystis spp. estatus desconocido, en el sacrificio de este rebaño se registraron casos frecuentes de miositis eosinófila*

VALIDACIÓN EN MEZCLA SEGÚN LAS ESPECIFICACIONES DEL ANSES

Sensibilidad diagnóstica en pool de 10



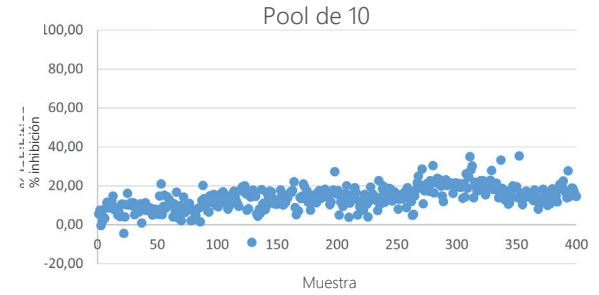
99,5 % de mezclas positivas con un cut-off de 40%

Sueros clasificados analítica y epidemiológicamente de animales infestados procedentes de 12 explotaciones geográficamente representativas del territorio nacional se analizaron **en 201 mezclas de 10**.

Validación en el NED en 10 réplicas y 1:10

En dos placas diferentes, todas las muestras resultaron positivas con un CV del 5,61%.

Especificidad diagnóstica en pool de 10



100 % de mezclas negativas sobre 400 pool de 10 con un cut-off de 40%

(**Sueros** procedentes de varias explotaciones de países europeos que no han registrado un brote de besnoitiosis)

«MONOSCREEN™ AbELISA *Besnoitia besnoiti* presenta una destacada sensibilidad y especificidad, con los mismos valores de corte en el análisis individual y pool.»

PARA REALIZAR EL PEDIDO:

Referencia	Descripción	N.º de reacciones
BIO K 466/2	Monoscreen™ AbELISA *Besnoitia besnoiti*	2 placas / 192 tests
ADI451-100	ADIAVET™ Besnoitia Real Time	100 R

Contacto
jc.cabrera@biox.com
+32 (0) 84 32 23 77
www.biox.com