



remel

Apogent

# Suero Es aglutinante Brucella

## UTILIDAD

El suero aglutinante de Brucella (*Brucella abortus* y *Brucella melitensis*) se utiliza en ensayos de aglutinación en tubos cuantitativos para la identificación serológica de cultivos de Brucella<sup>1</sup> con fines epidemiológicos y de diagnóstico. Como antisuero de control de ensayo también se usan suspensiones de Brucella teñidas (si desea más información, consulte el prospecto de los ensayos con el nº de lista SS14/30855501 y SS15/30953501).

El antisuero proporciona sólo una identificación serológica. Una identificación completa de un organismo se debe realizar sólo si se utiliza además un ensayo bioquímico.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

La Brucella cuenta con 2 antígenos de superficie específicos denominados A y M: la mayoría de las cepas de *Brucella abortus* y de *B. suis* presenta una elevada proporción de estos antígenos, mientras que en las cepas de *B. melitensis* ocurre lo contrario<sup>1,2</sup>. El antisuero se prepara usando cepas representativas de *B. abortus* y *B. melitensis* y se absorben de tal manera que la cepa de *B. abortus* reacciona con más fuerza ante cepas con una elevada proporción de antígenos A, mientras que la cepa de *B. melitensis* reacciona con más fuerza ante cepas con una elevada proporción de antígenos M. Con los ensayos de aglutinación en tubos se puede diferenciar la reactividad, usando ambos sueros frente a una suspensión de organismos. Normalmente existe una diferencia de un factor de 4 al menos en los títulos de los 2 antisueros.

## PRINCIPIOS BIOLÓGICOS DEL PROCEDIMIENTO

Los ensayos serológicos se basan en el hecho de que los anticuerpos presentes en suero, que se producen como respuesta a la exposición a los antígenos bacterianos, se aglutinan visiblemente con bacterias que contienen antígenos homólogos.

## REACTIVOS

### CONTENIDO DEL KIT

Suero aglutinante Brucella	1 frasco cuentagotas	(2 ml)
<i>Brucella abortus</i>	ZM01/30164801	
<i>Brucella melitensis</i>	ZM02/30164901	

### DESCRIPCIÓN, PREPARACION PARA EL USO Y ALMACENAMIENTO

Si desea más información, consulte el apartado **Advertencias y precauciones** en este folleto



Si se almacena a una temperatura entre 2° y 8°C, el suero permanece activo al menos hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del frasco.

AGGLUTINATING SERUM

## Suero aglutinante Brucella

Sueros de conejo que contienen anticuerpos frente a *Brucella abortus* (ZM01/30164801) y *Brucella melitensis* (ZM02/30164901). Conservante: fenol al 0,5%. Cada frasco, provisto de dispensador y cuentagotas, contiene 2 ml de solución y se suministra listo para su uso.

Durante el almacenamiento algunos sueros pueden adquirir una ligera turbidez, la cual no interfiere necesariamente en los resultados ni implica su deterioro. Antes del uso clarifique el suero mediante centrifugación o filtración (con un filtro de membrana de 0,45 µm). Por el contrario, un aspecto turbio es señal de contaminación y el suero se debe desechar.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

### IVD

Sólo para uso en diagnóstico *in vitro*.

Sólo para uso profesional.

**Atención: Este producto contiene caucho natural seco.**

Si desea más información sobre los componentes potencialmente peligrosos, consulte la hoja de datos de seguridad del fabricante y el etiquetado de los productos.

### PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

1. Manipule los cultivos de Brucella de acuerdo con las normas de seguridad y las precauciones de manipulación vigentes.
2. Después del uso, los materiales no desechables se deben esterilizar. El método recomendado es la esterilización con autoclave a una temperatura de 121°C durante al menos 15 minutos. Los materiales desechables se deben esterilizar con autoclave o incinerar.
3. Las salpicaduras de los materiales potencialmente infecciosos se deben eliminar inmediatamente con papel absorbente y se debe limpiar la zona contaminada con un desinfectante bactericida adecuado o con alcohol al 70%. Los materiales utilizados para limpiar las salpicaduras, incluidos los guantes, se deben eliminar de igual modo que los desechos potencialmente infecciosos.
4. No pipetee con la boca. Utilice guantes desechables y protección para los ojos cuando manipule las muestras y realice el ensayo. Lávese bien las manos cuando haya terminado el análisis.
5. Estos reactivos contienen fenol. Aunque la concentración es baja, el fenol es tóxico por ingestión y en contacto con la piel. No ingiera los reactivos. Si cualquiera de los reactivos entra en contacto con la piel o los ojos, lávese con agua abundante.
6. De acuerdo con los Procedimientos normalizados de trabajo las muestras y los reactivos se deben tratar como potencialmente infecciosos y manipularse con todo tipo de precauciones.

### PRECAUCIONES DE MANIPULACIÓN

1. No utilice los antisueros transcurrida la fecha de caducidad. Se debe evitar la contaminación microbiológica de los antisueros, ya que puede provocar resultados erróneos y afectar a la caducidad de los reactivos.
2. No modifique el procedimiento del ensayo ni la temperatura ni el tiempo de incubación.
3. Los sueros se deben almacenar a la temperatura recomendada después de su uso.

### RECOGIDA, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Si utiliza cultivos de Brucella, asegúrese de que sean cultivos frescos y de medios no selectivos. Si utiliza sueros como control para las suspensiones de Brucella teñida, éstas se deben almacenar entre 2 y 8°C.

## PROCEDIMIENTO

### MATERIALES SUMINISTRADOS

Consulte el apartado **Contenido del kit** en este folleto.

### MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Las suspensiones teñidas de Brucella se suministran en frascos de 5 ml:

*Brucella abortus* número de lista SS14/30855501  
*Brucella melitensis* número de lista SS15/30953501

- Solución salina al 0,85%.
- Asa de recogida de muestras y mechero de Bunsen.
- Superficie oscura con luz indirecta.
- Tubos de ensayo y gradillas.
- Baño termostático programado a 37°C.
- Cronómetro.
- Pipetas para dispensar entre 100 µl y 1000 µl.
- Solución salina con fenol al 0,5%.

### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

#### Aglutinación con tubos<sup>3</sup> – Cultivo desconocido

**Paso 1** Resuspenda el crecimiento de un cultivo puro con solución salina con fenol al 0,5% con 5 ml por pendiente. Caliente la suspensión a una temperatura de 60°C durante 1 hora para matar los organismos y, tras dejarla enfriar, ajuste la opacidad con solución salina con fenol hasta obtener una concentración aproximada de  $2 \times 10^9$  organismos/ml.

**Paso 2** Prepare una fila de diluciones de suero por cada ensayo usando un 0,85% de solución salina como diluyente, por ejemplo, una fila de suero de *B. abortus* y otra fila de suero de *B. melitensis* por cada organismo, tal y como se muestra en la tabla 1. Mezcle el contenido del tubo nº 1 y transfiera 0,5 ml al tubo nº 2, mezcle y transfiera 0,5 ml al tubo nº 3. Repita este procedimiento con cada tubo, menos con el tubo nº 8. Deseche 0,5 ml del tubo nº 7.

Tabla 1

Tubo nº	1	2	3	4	5	6	7	8
Solución salina (ml)	0,9	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Suero (ml)	0,1	Transfiera 0,5 ml en cada tubo →						0
Dilución final	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	Control

**Paso 3** Añada en cada tubo 0,5 ml de suspensión.

**Paso 4** Mezcle bien el contenido de los tubos y, antes de la lectura, incúbelos a una temperatura de 37°C durante 24 horas.

**Paso 5** Compruebe que se haya producido aglutinación y lea la muestra sobre un fondo oscuro.

#### Aglutinación con tubos – Suspensión teñida

Se debe llevar a cabo un ensayo de aglutinación con tubos bien como control de la actividad de los antisueros, o bien como control del ensayo de Widal de la actividad de las suspensiones.

**Paso 1** Prepare por cada ensayo, tal y como se muestra en la tabla 2, una fila de diluciones de suero usando un 0,85% de solución salina como diluyente. Mezcle el contenido del tubo nº 1 y transfiera 1 ml al tubo nº 2, mezcle y transfiera 1 ml al tubo nº 3. Repita este procedimiento con cada tubo, menos con el tubo nº 8. Deseche 1 ml del tubo nº 7.

Tabla 2

Tubo nº	1	2	3	4	5	6	7	8
Solución salina (ml)	1,9	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Suero (ml)	0,1	Transfiera 1 ml en cada tubo →						0
Dilución final	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	Control

**Paso 2** Agite la suspensión, incluyendo el contenido de la pipeta. Dispense una gota de la suspensión en cada tubo.

**Paso 3** Mezcle bien el contenido de los tubos y, antes de la lectura, incúbelos a una temperatura de 37°C durante 24 horas.

**Paso 4** Examine la aglutinación (no es necesario que tenga iluminación de fondo).

## RESULTADOS

### Aglutinación con tubos – Cultivo desconocido

En una reacción positiva, se debe observar claramente una aglutinación granulada. Es posible que el líquido se haya aclarado y que se haya formado un sedimento con el aspecto de una masa granular que se eleva y, a continuación, desciende hasta el fondo del tubo cuando se golpea el tubo con un dedo. En una reacción negativa y en el control de solución salina la suspensión no debe cambiar de aspecto y el sedimento se debe resuspender cuando se golpee el tubo. La presencia de aglutinación en el tubo de control implica una suspensión poco homogénea, la cual no es adecuada para el ensayo.

### Aglutinación con tubos – Suspensión teñida

Si se ha producido aglutinación en el tubo de control, se debe desechar la suspensión. El antisuero no es exactamente un suero estándar y, aunque los títulos pueden ser similares a aquellos impresos en las etiquetas de los frascos, no siempre se obtienen los mismos títulos.

### CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda analizar los antisueros según las instrucciones descritas utilizando cultivos positivos y negativos ya analizados bien suspensiones de Brucella teñidas o bien suspensiones preparadas a partir de cultivos Brucella identificados en su totalidad.

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El título del suero es la última dilución en la que se observa una aglutinación positiva. Un título igual o próximo al que figura impreso en la etiqueta del frasco indica homología.

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Se ha descrito<sup>4,5</sup> que *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae* y especies de Salmonella comparten los antígenos con la Brucella. El uso exclusivo de ensayos serológicos no proporciona identificaciones definitivas, por lo que se deben realizar ensayos bioquímicos confirmatorios adicionales.

Las cepas de Brucella muestran reactividad cruzada en este ensayo, aunque también se puede observar reactividad diferencial.

### RESULTADOS PREVISTOS

Aglutinación visible en presencia de antígenos homólogos.

### CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL FUNCIONAMIENTO

Los cultivos de *Brucella abortus* (ZM01/30164801) y de *Brucella melitensis* (ZM02/30164901) muestran una aglutinación visible en el ensayo de aglutinación en tubos con suspensiones teñidas de *Brucella abortus* (SS14/30855501) y de *Brucella melitensis* (SS15/30953501) respectivamente.



**SISTEMAS AVANZADOS DE ANÁLISIS, S.L.**

**CIF: B-47700026**

**C/. Cardenal Torquemada, 24**

**Tel. 983 251 143 • 637 596 017**

**47010 VALLADOLID**

**www.analisisavanzados.com**




## BIBLIOGRAFÍA

- <sup>1</sup> **Corbel, M.J. and Brinley Morgan, W.J.** (1975). Proposal for minimal standards for descriptions of new species and biotypes of the genus *Brucella*. *Int. J. Syst. Bact.*, **25**, 83.
- <sup>2</sup> **Wilson, G.S. and Miles, A.A.** (1975). Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity, 6th ed., London, E. Arnold. Pages 1063-1065.
- <sup>3</sup> **Alton, G.G., Jones, L.M. et al.** (1975). Laboratory Techniques in Brucellosis. 2nd ed., W.H.O. Monograph Series, No. 55.
- <sup>4</sup> **Corbel, M.J.** (1975). The serological relationship between *Brucella* spp., *Yersinia enterocolitica* serotype IX and *Salmonella* serotypes of Kauffmann-White group N. *J. Hyg. (Camb.)*, **75**, 151.
- <sup>5</sup> **Feeley, J.C.** (1969). Somatic O antigen relationship of *Brucella* and *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.*, **99**, 645.

## ENVASE

**REF** ZM01/30164801.....2 ml  
ZM02/30164901.....2 ml

## Leyenda de los símbolos

<b>REF</b>	Nº del catálogo
<b>IVD</b>	Dispositivos médicos de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Consultar instrucciones de uso (IFU)
	Límites de temperatura (Temp. de almacenamiento)
<b>LOT</b>	Código del lote (nº de lote)
	Utilizar antes de (fecha de caducidad)
<b>TITRE</b>	La última dilución presenta aglutinaciones positivas



IFU C07ZM01ES,  
revisado el 22 de abril de 2004

Impreso en el Reino Unido

## Fabricante:

Remel Europe Ltd.  
Clipper Boulevard West, Crossways  
Dartford, Kent, DA2 6PT  
UK

Para obtener asistencia técnica póngase en contacto con su distribuidor local.