



Laboratorio MICSA S.A. de C.V.

MERCAPTÍN

Antígeno Brucelar de Wright

Auxiliar en el diagnóstico de brucelosis en las pruebas

AGLUTINACIÓN LENTA ESTÁNDAR (SAT)

y

AGLUTINACIÓN LENTA EN PRESENCIA DE 2-MERCAPTOETANOL (2-ME)

CONTENIDO

Se describen los componentes de cada presentación que corresponde al No. de Catálogo que haya adquirido.

No. Catálogo	Descripción	Contenido
3-ME01	Antígeno Brucella (10 X)	5,0 mL.
6-ME02	- Antígeno Brucella (10 X)	5,0 mL.
	- Diluyente para Suero (2-Mercaptoetanol, 10 X)	5,5 mL.
	- Control Positivo	1,0 mL.
	- Control Negativo	1,0 mL.
	- Placa de 96 pozos	1 pza
25-ME03	- Antígeno Brucella (Listo para emplearse)	25,0 mL.
	- Diluyente para Suero (2-Mercaptoetanol)	25,0 mL.
	- Control Positivo	1,0 mL.
	- Control Negativo	1,0 mL.
	- Placa de 96 pozos	1 pza

PRECAUCIONES

- Agitar perfectamente el Antígeno antes de emplear para tener una suspensión homogénea.
- Los reactivos deben alcanzar la temperatura ambiente.
- Los controles positivo y negativo se deben ensayar en cada corrida.

MATERIAL NO INCLUIDO

- Solución Salina Fisiológica (SSI). También puede emplearse Solución Salina Isotónica más fenol al 0.5%.
- Pipetas automáticas y puntas
- Tubos para realizar la dilución 1:10 de los reactivos (Cat. 3-ME01 y 6-ME02), por ser presentación de concentración 10X
- Placa de 96 pozos y Diluyente para suero 2-Mercaptoetanol (Cat. 3-ME01).
- Incubador a temperatura al rededor de 37°C.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Mantener los componentes del Kit de 2 a 8°C (275 a 281°K)
- Evitar la congelación
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad

PREPARACION DE REACTIVOS

- Kits 3-ME01 o 6-ME02, cuyas presentaciones son concentradas 10 X, deberá realizarse dilución 1:10 con SSI de los reactivos antes de iniciar la prueba.
- Ej. Para preparar 10 mL de Antígeno, agregar 1 mL de Antígeno concentrado 10X a 9 mL de SSI y mezclar perfectamente.

--25-ME03 no requiere dilución, presentación lista para emplearse.

TIPO DE MUESTRAS

La muestra a emplear debe ser suero. Se deben tomar precauciones en la interpretación de resultados de muestras turbias, hemolizadas y lipémicas.

AGLUTINACIÓN LENTA ESTÁNDAR (SAT)

Cat. 3-ME01, 6-ME02 y 25-ME03.

IMPORTANTE : NO emplear diluyente para suero 2-mercaptoetanol

Esta es una técnica cuantitativa para la determinación de anticuerpos totales anti-*Brucella* (IgG, IgA e IgM).

FUNDAMENTO

El antígeno está constituido por células de *B. abortus* 99S a una concentración de trabajo de aproximadamente 0.2%, ajustado a la dilución 1/650 del suero de referencia internacional que contiene 1000UI (Unidades Internacionales). Al ponerse en contacto con los anticuerpos, estos van uniéndose entre sí a las bacterias suspendidas desarrollando la reacción de aglutinación, de esta manera se depositan en el fondo formando una malla visible.

PROCEDIMIENTO

Emplear una línea de 8 pozos para cada muestra.

Paso No.1

Colocar 180 µl de SSI en el primer pozo y 100 µl en cada uno de los pozos restantes.

Paso No. 2

Agregar 20 µl de la muestra en el primer pozo.

Paso No.3

Realizar diluciones de la siguiente forma:

- Mezclar el suero (Aspirar y expeler 3 veces con la pipeta).
- Tomar 100 µl del primer pozo y transferirlos al segundo pozo.
- Mezclar y transferir 100 µl al tercer pozo.

Se continúa de la misma forma hasta llegar al octavo pozo. Después de mezclar este último, se descartan 100 µl para igualar el volumen al resto de los pozos.

IMPORTANTE: Utilizar una pipeta o punta diferente para cada muestra o reactivo para evitar contaminación cruzada.

Paso No.4

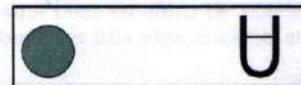
Colocar 100 µl del Antígeno a todos los pozos.

* Cubrir las placas para evitar la desecación e incubar a 37°C durante 20 - 24hrs.

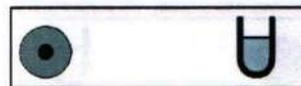
LECTURA DE LAS PLACAS

La lectura se realiza frente a una fuente de luz para facilitar la observación de la reacción. El título de cada muestra se determina tomando en cuenta la dilución más alta en donde se observa una reacción positiva.

Reacción positiva: Formación de una malla de aglutinación en el fondo del pozo con clarificación del medio



Reacción negativa: Permanece la turbidez del medio y en el fondo se aprecia un acúmulo de células sedimentadas en forma de botón.



INTERPRETACIÓN

La prueba de SAT se considera positiva a partir de la dilución 1/80. Títulos menores en esta prueba no son significativos, ya que solo representan un contacto en alguna etapa de la vida del individuo; sin embargo no se descartan por completo por lo que es importante complementar el diagnóstico con la prueba de Aglutinación Lenta en Presencia de 2-Mercaptoetanol.

AGLUTINACIÓN LENTA EN PRESENCIA DE 2-MERCAPTOETANOL (2-ME)

Cat. 3-ME01, 6-ME02 y 25-ME03

Esta es una técnica cuantitativa para la determinación de anticuerpos anti-*Brucella* de las clases IgG e IgA (Marcadores de infección activa).

FUNDAMENTO

El antígeno está constituido por células de *B. abortus* 99S a una concentración de trabajo de aproximadamente 0.2%, ajustado a la dilución 1/650 del suero de referencia internacional que contiene 1000UI (Unidades Internacionales). Al ponerse en contacto con los anticuerpos, estos van uniéndose entre sí a las bacterias suspendidas desarrollando la reacción de aglutinación, de esta manera se depositan en el fondo formando una malla visible.

La molécula de 2-Mercaptoetanol actúa sobre la cadena J de la Inmunoglobulina IgM liberando las subunidades que la forman, mismas que pierden la capacidad de aglutinar, por lo que la reacción visible se debe fundamentalmente a la presencia de IgG e IgA.

PROCEDIMIENTO

Emplear una línea de 8 pozos para cada muestra.

Paso No.1

Colocar 180 µl del Diluyente para suero (2-Mercaptoetanol) en el primer pozo y 100 µl en cada uno de los pozos restantes.

Paso No. 2

Agregar 20 µl de la muestra en el primer pozo.

Paso No.3

Realizar diluciones de la siguiente forma:

- Mezclar el suero (Aspirar y expeler 3 veces con la pipeta).
- Tomar 100 µl del primer pozo y transferirlos al segundo pozo.
- Mezclar y transferir 100 µl al tercer pozo.

Se continúa de la misma forma hasta llegar al octavo pozo. Después de mezclar este último, se descartan 100 µl para igualar el volumen al resto de los pozos.

IMPORTANTE: Utilizar una pipeta o punta diferente para cada muestra o reactivo para evitar contaminación cruzada.

Paso No.4

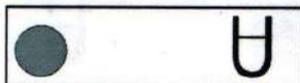
Colocar 100 µl del Antígeno a todos los pozos.

* Cubrir las placas para evitar la desecación e incubar a 37°C durante 20 - 24hrs.

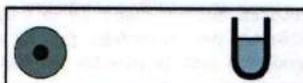
LECTURA DE LAS PLACAS

La lectura se realiza frente a una fuente de luz para facilitar la observación de la reacción. El título de cada muestra se determina tomando en cuenta la dilución más alta en donde se observa una reacción positiva.

Reacción positiva: Formación de una malla de aglutinación en el fondo del pozo con clarificación del medio



Reacción negativa: Permanece la turbidez del medio y en el fondo se aprecia un acúmulo de células sedimentadas en forma de botón.



INTERPRETACIÓN

Los resultados en la prueba 2-ME se consideran significativos desde títulos de 1/20, reflejando una etapa activa de la infección.

LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE AMBAS PRUEBAS (SAT Y 2-ME) PARA EL DIAGNÓSTICO POR EL LABORATORIO ES COMO SIGUE:

POSIBLES RESULTADOS				
PRUEBA	a	b	c	d
SAT	+	+	-	-
2-ME	-	+	+	-
	Infección en etapa inicial *	Infección de curso prolongado	Revisar técnica. Repetir estudio	Repetir el estudio, si se mantiene (-) se descarta brucelosis

LIMITACIONES

En la interpretación de estos resultados, se deben tomar en consideración los aspectos clínico-epidemiológicos de cada caso.

BIBLIOGRAFÍA

- 1)Hernández Monroy I, G. Peña Flores, X. Betancourt Morillo. "Manual de procedimientos de laboratorio INDRE/SAGAR BRUCELOSIS 19 " SSA, SAGAR, OPS. México D.F. 1996
- 2)Join FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis 6^o Report, Ginebra 1986.
- 3)S.S. Eldberg (Ed) "A guide to the diagnosis treatment and prevention of human brucellosis" WHO.VPH/81.31Rev.1.
- 4)Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-022-SSA2-1994, Para la prevención y control de la brucelosis en el hombre. Diario Oficial de la Federación, 2 de febrero de 2001

Hecho en México por :

Laboratorio MICSА S.A. de C.V.



Estudios Clase No. 9

Jardines Tecma

México, D.F. 08920

Tel y Fax : 52(55)5633 6509,

3095 6314, 8590 1312

www.laboratoriomicsa.com

ventas@laboratoriomicsa.com