

Brucella-BPA IVD

Prueba de aglutinación para la detección de aglutininas anti-Brucella. Prueba rápida en porta.

INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una zoonosis directa de carácter infeccioso ocasionada por bacterias Gram-negativas del género *Brucella* spp; las vías más comunes de infección en el hombre son aparato digestivo, mucosas y piel con manifestaciones clínicas diversas como malestar general, fiebre de hasta 40 °C, debilidad, artralgias, mialgias y sudoración. Las recaídas de la enfermedad son comunes. Una vez que la fase aguda de la infección ha finalizado, se puede desarrollar una etapa crónica.

USO AL QUE ESTA DESTINADO

Brucella-BPA es una técnica de aglutinación rápida en porta, recomendada por la WHO como prueba tamiz en bancos de sangre y está destinada a la detección cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos IgG o IgM anti-Brucella, (*B. melitensis*, *B. abortus* y *B. suis*) presente en el suero del paciente.

FUNDAMENTO

Método en porta que detecta anticuerpos aglutinantes, empleando células de *Brucella* inactivadas y teñidas con Verde Brillante y Cristal Violeta y resuspendidas en un buffer ácido. El pH ácido de la suspensión (pH 3,65 ± 0,02) evita la aglutinación inespecífica de las bacterias, confiriéndole una mayor especificidad a la prueba.

ELEMENTOS DEL SISTEMA

Provisto

- **Antígeno Brucella-BPA:** suspensión de *Brucella abortus* biovar 1 cepa 1119-3 en fase líquida, inactivada y teñidas con Verde Brillante y Cristal Violeta, en medio ácido. El volumen celular está regulado al 11% ± 2. La sensibilidad del antígeno (25 UI/ml) está estandarizada frente al Patrón Nacional SENASA /OIE.
- **Control Positivo:** Suero control positivo conteniendo una concentración de fenol < 1%. (Sólo en equipos con controles).
- **Control Negativo:** Suero control negativo conteniendo una concentración de fenol < 1%. (Sólo en equipos con controles).

MATERIAL REQUERIDO

No provisto

- Portaobjetos.
- Palillos.
- Micro pipeta o Pipeta automática.
- Pipetas de vidrio.
- Gradilla.
- Cronómetro.
- Agitador rotatorio (100 r.p.m.) opcional.

ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Todos los reactivos del kit están listos para usar. El producto es estable conservado entre 2-10°C, hasta la fecha indicada en el envase. No congelar: la congelación de los reactivos altera irreversiblemente la funcionalidad de los mismos.

MUESTRA

Utilizar suero fresco. Si la prueba no se realiza en el día, el suero puede conservarse a 2-10°C durante 7 días o 3 meses a -20°C. No utilizar sueros hiperlipémicos o muy hemolizados.

PROCEDIMIENTO

Método Cualitativo

Dejar que los reactivos tomen temperatura. Agitar suavemente la suspensión antigénica. Sobre una placa de vidrio colocar 80 ul de suero problema en un círculo de aproximadamente 2 cm.

Repetir el paso 3 con los controles positivo y negativo (Sólo en equipos con controles)

Agregar una gota (30 ul) de la suspensión antigénica a cada círculo teniendo la precaución de colocar el gotero en posición vertical. Mezclar con palillos diferentes cada una de las reacciones de manera tal que abarque la totalidad de la superficie del círculo.

Balancear la placa de vidrio durante 1 minuto, tapar y dejar en reposo 4 minutos.

Repetir nuevamente el paso anterior y a los 8 minutos observar la presencia o ausencia de aglutinación.

Método semicuantitativo

Si la prueba fuera positiva por el método cualitativo la muestra se puede titular de la siguiente manera:

Realizar diluciones al doble de la muestra con solución salina 9 g/L, por ejemplo: 1/2, 1/4, 1/8, etc.

Proceder para cada dilución como para la prueba cualitativa.

Cálculos

La concentración aproximada de anticuerpos anti-Brucella, en la muestra del paciente se calcula de la siguiente manera, por ejemplo: Si la reacción fuera positiva hasta la dilución 1/8, la concentración de anticuerpos anti-Brucella sería igual a: $25 \times 8 = 200$ UI/ml.

Donde 25 es la sensibilidad analítica de la prueba y 8 es la inversa de la dilución a la cual la reacción es positiva.

Valores de Referencia: no se encuentran bien definidos los valores de referencia y hay discrepancias entre distintos autores debido a los distintos valores encontrados de acuerdo a la región geográfica y por lo tanto es muy importante que cada laboratorio establezca sus propios valores. Pero una Reacción Positiva en el Método Cualitativo es indicativo de enfermedad pero deberá ser confirmado por otros métodos.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

La presencia de aglutinación macroscópica implica reacción positiva e indica la existencia de anticuerpos anti-Brucella igual o superior a 25 UI/ml. La ausencia de aglutinación macroscópica implica reacción negativa e indica la ausencia de anticuerpos anti-Brucella o su presencia es menor a 25 UI/ml, que es la sensibilidad analítica del equipo.

LIMITACIONES Y CUIDADOS

- Este producto es sólo para diagnóstico in vitro y está destinado al uso por personal calificado. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.
- Se pueden obtener falsos positivos o reacciones cruzadas con algunas bacterias de importancia clínica como *Francisella tularensis*, *E. coli* O 157:H7, *Salmonella* grupo N y *Pseudomonas maltophilia*.
- Un resultado positivo deberá ser confirmado por técnicas de aislamiento.
- No utilizar el kit cuando haya expirado la fecha de vencimiento.
- Mantener el producto a la temperatura indicada en el envase. No congelar.
- Es importante mezclar la suspensión antigénica antes de su uso.
- El kit contiene elementos de vidrio que en caso de rotura podrían provocar lesiones físicas. Manipular con cuidado.
- Utilizar puntas de pipetas diferentes para cada muestra.
- Al realizar la prueba deben observarse las medidas de bioseguridad.
- No cambiar los goteros del kit, pues están diseñados para dosificar la cantidad requerida.
- Por contener fenol (< al 1%) evitar el contacto, de todos los componentes del kit, con la piel, mucosas u ojos.

PERFORMANCE

Sensibilidad diagnóstica del método: 100%(1)

Especificidad diagnóstica del método: 99,67%(1)

En pacientes con brucelosis que han recibido tratamiento pueden encontrarse resultados falsos negativos, debido a la disminución de



anticuerpos aglutinantes. En estos casos se deben emplear técnicas que detecten anticuerpos totales (Aglutinantes y no aglutinantes)

Sensibilidad analítica: 25 UI/ml.

La sensibilidad analítica está estandarizada frente al suero Patrón Nacional SENASA/OIE de 1000 UI/ml.

Efecto prozona: no se observa efecto prozona hasta valores de 1000 UI/ml.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar el control positivo y negativo para controlar la funcionalidad del reactivo, como así también utilizarlo como modelo para la interpretación de los resultados (únicamente en equipos con controles).

BIBLIOGRAFIA

- Buffered Plate Antigen Test as a Screening Test for Diagnosis of Human Brucellosis. Nidia E. Lucero and Jorge E. Bolpe Journal of Clinical Microbiology, May 1998, Vol. 36 Nº 5 (1425-1427)

- Techniques for Brucellosis Laboratory Alton G. C. INRA Paris, 1988.
- Manual de Normas para pruebas de diagnóstico y vacunas. OIE 4ª Edición, 2000.
- Manual de Procedimientos – Técnicas para el diagnóstico de Brucellosis Humana. WHO Global Salm Surv 2008.
- Evaluation of Seven Tests for Diagnosis of Human brucellosis in an Area Where the Disease Is Endemic. Gómez M. C.; Nieto J. A.; and et. Clinical And Vaccine Immunology, June 2008, p. 1031-1033.

PRESENTACION

Brucella-BPA antígeno de 5 ml con Controles. COD B02104
Brucella-BPA antígeno de 5 ml sin Controles. COD B02105

Producto elaborado por
Laboratorios W. Brizuela S.A.
Av. Figueroa Alcorta 123/139- 5000 Córdoba (Argentina)
info@brizuela-lab.com.ar
Director Técnico: Bioq. Marcelo Brizuela
Producto Autorizado ANMAT Nº 008124