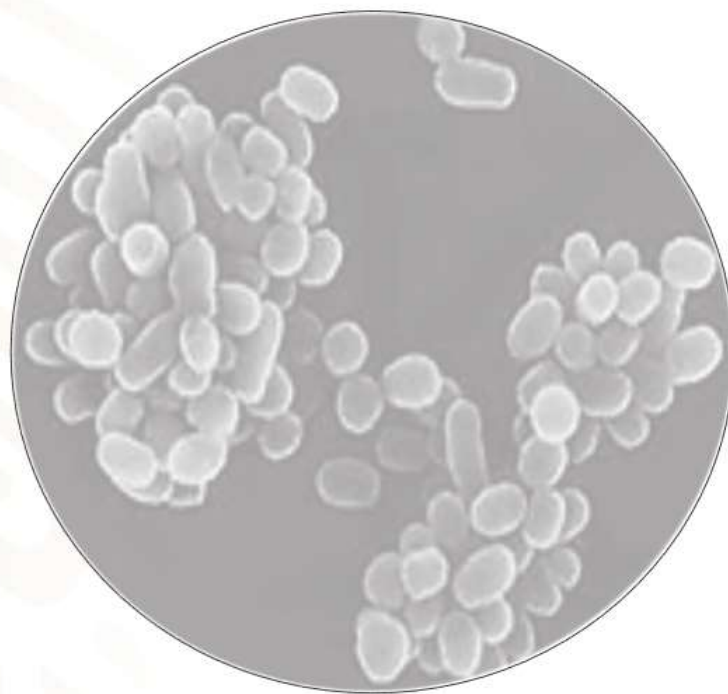




SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud
Dirección General de Epidemiología

Lineamientos para la Vigilancia por Laboratorio de la Brucelosis

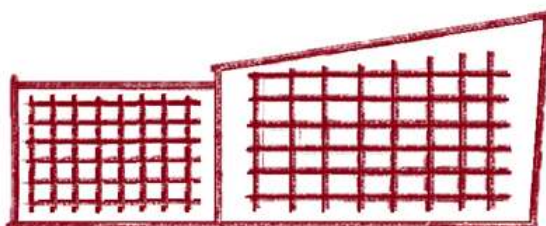


80
AÑOS
1939 - 2019

Siendo Referencia Nacional en Salud Pública

INDRE

InDRE



Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos
"Dr. Manuel Martínez Báez"

LINEAMIENTOS PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DE LA BRUCELOSIS

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos
“Dr. Manuel Martínez Báez”

2016

PRIMERA EDICIÓN. 2016

BRUCELOSIS-INDRE

ESTE DOCUMENTO FUE AVALADO POR LOS REPRESENTANTES DE LAS INSTITUCIONES QUE CONFORMAN EL GRUPO TÉCNICO INTERINSTITUCIONAL DEL COMITÉ NACIONAL PARA LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA (CoNAVE).

TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS CONFORME A LA LEY

© INDRE-SECRETARÍA DE SALUD

SE PERMITE LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL SI SE CITA LA FUENTE: "INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS "DR. MANUEL MARTÍNEZ BÁEZ". LINEAMIENTOS PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DE LA BRUCELOSIS, INDRE. MÉXICO: SECRETARÍA DE SALUD; 2016"

COLECCIÓN PUBLICACIONES TÉCNICAS DEL INDRE

ISBN: EN PROCESO

INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS "DR. MANUEL MARTÍNEZ BÁEZ"
FRANCISCO P MIRANDA 177, COL. LOMAS DE PLATEROS, D. T. ÁLVARO OBREGÓN, C. P. 01480,
CIUDAD DE MÉXICO.

LA EDICIÓN ESTUVO A CARGO DE: DR. JOSÉ ALBERTO DÍAZ QUIÑÓNEZ

EL DISEÑO ESTUVO A CARGO DE: DR. JUAN FRANCISCO ROMÁN PEDROZA.

IMPRESO EN MÉXICO. *PRINTED IN MEXICO*

PARA DUDAS SOBRE EL CONTENIDO DE ESTE LINEAMIENTO PONERSE EN CONTACTO CON LA COORDINACIÓN DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DE LA BRUCELOSIS A TRAVÉS DEL CORREO: liz.beltran@salud.gob.mx CON EL ASUNTO: REVISIÓN DE LINEAMIENTOS

SECRETARÍA DE SALUD

Dr. Jorge Alcocer Varela

SECRETARIO DE SALUD

Dra. Asa Cristina Laurell

SUBSECRETARIA DE INTEGRACIÓN Y DESARROLLO DEL SECTOR SALUD

Dr. Hugo López-Gatell Ramírez

SUBSECRETARIO DE PREVENCIÓN Y PROMOCIÓN DE LA SALUD

Dr. José Luis Alomía Zegarra

DIRECTOR GENERAL DE EPIDEMIOLOGÍA

INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS

“DR. MANUEL MARTÍNEZ BÁEZ”

INDRE

Biól. Irma López Martínez

DIRECTORA DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA

Mtra. Lucía Hernández Rivas

DIRECTORA DE SERVICIOS Y APOYO TÉCNICO

Lic. Adriana Castro Cabrera

SUBDIRECTORA DE OPERACIÓN

Biól. Norma Angélica Montes Colima

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGÍA

Mtra. Dalia Viviana Vallejo Jauffred

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y VALIDACIÓN DE TÉCNICAS

Mtra. Judith Estévez Ramírez

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE MUESTRAS Y SERVICIOS

Mtro. Hiram Olivera Díaz

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ENFERMEDADES EMERGENTES Y URGENCIAS

Dra. Clara Gorodezky Lauferman

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA

Mtra. Mónica Salas García

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE VIROLOGÍA

Dra. Gabriela Meneses Ruiz

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

GRUPO DE TRABAJO

QBP. LIZ GRISEL BELTRÁN PARRA

JEFA DEL LABORATORIO DE BRUCELOSIS

COORDINADORA DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA
VIGILANCIA DE LA BRUCELOSIS

QFB. VIANEY MARGARITA SAAVEDRA ROJAS

QBP. EDUARDO JIMÉNEZ SÁNCHEZ

QFB. MARÍA ASUNCIÓN MORENO PÉREZ

AGRADECIMIENTOS

PERSONAL DEL LABORATORIO DE BRUCELOSIS DEL INDRE

PERSONAL DEL LABORATORIO DE MEDIOS DE CULTIVO DEL INDRE

PERSONAL DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y VALIDACIÓN DE TÉCNICAS
DEL INDRE

CONTENIDO

CONTENIDO	8
INTRODUCCIÓN	9
ANTECEDENTES	11
Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública	11
Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Brucelosis	11
MARCO LEGAL	12
DEFINICIONES OPERACIONALES	14
OBJETIVOS	15
Objetivo General	15
Objetivos Específicos	16
RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DE LA BRUCELOSIS	16
Organización de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Brucelosis	17
FUNCIONES DE LOS INTEGRANTES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DE LA BRUCELOSIS	18
Funciones de los laboratorios a nivel local o jurisdiccional	18
Funciones de los Laboratorios Estatales de Salud Pública	18
Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia	20
TOMA, MANEJO Y ENVÍO DE MUESTRA	21
Toma de muestra	21
Conservación	22
Envío y transporte	22
Criterios de aceptación y rechazo	23

ALGORITMO DE DIAGNÓSTICO	24
CALIDAD EN EL SERVICIO DIAGNÓSTICO	26
PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DEL DESEMPEÑO	27
CRITERIOS PARA LA LIBERACIÓN DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS EN LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS PARA LA VIGILANCIA DE LA BRUCELOSIS	28
BANCO DE MATERIAL BIOLÓGICO EN EL InDRE	29
BIBLIOGRAFÍA	29
ANEXOS	31
Anexo I: Bioseguridad en el Laboratorio de Brucelosis	31
Anexo II: Técnicas de Diagnóstico	32
Anexo III: Imágenes de Portada	38

INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una zoonosis ocasionada por bacterias del género *Brucella*; ha recibido diferentes nombres inspirados en los microbiólogos que aislaron y describieron inicialmente el microorganismo (Sir David Bruce [brucelosis], Bernhard Bang [enfermedad de Bang]), la presentación clínica (fiebre

ondulante), o la localización geográfica de los brotes conocidos (fiebre de Malta, fiebre mediterránea remitente, fiebre de Gibraltar, etc.).

La infección por *Brucella* tiene una distribución universal y es endémica en nuestro país. En el ser humano la brucelosis se adquiere mediante contacto directo con el microorganismo (animales infectados), ingestión (leche o quesos no pasteurizados) o inhalación (infección asociada al laboratorio).

En México la brucelosis es un padecimiento sujeto a vigilancia epidemiológica y de notificación obligatoria en los sistemas de información oficial.

La vigilancia basada en el laboratorio de la brucelosis se facilita al aplicar estos *Lineamientos para la Vigilancia por Laboratorio de la Brucelosis*, que es el documento guía de operación en la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública, como lo indica la Norma Oficial Mexicana 022-SSA2-2012 *para la Prevención y Control de la Brucelosis en el Humano* y la Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012, *Para la vigilancia epidemiológica*.

El presente documento describe de manera secuencial los aspectos considerados en el diagnóstico de la brucelosis iniciando con las definiciones operacionales establecidas en el *Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Brucelosis* (DGAE. México: Secretaría de Salud; 2012); se definen los niveles técnico administrativos que componen la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la vigilancia de la Brucelosis (RNLSP-Bru) y se establecen las funciones de cada nivel, iniciando por el nivel local o jurisdiccional y culminando con el Laboratorio Nacional de Referencia; se dedica un apartado relacionado a la toma, manejo y envío de la muestra en donde se mencionan los criterios de aceptación y rechazo de las mismas.

Se establece el algoritmo de diagnóstico serológico de la enfermedad, los estándares de calidad en el servicio diagnóstico, el programa de evaluación externa del desempeño y los criterios para la liberación de pruebas diagnósticas en la RNLSP.

ANTECEDENTES

Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública

La Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública (RNLSP) es el conjunto de laboratorios con objetivos específicos que permiten unificar métodos de diagnóstico, criterios de interpretación de resultados, transferencia tecnológica, generación de conocimiento y formación de recursos humanos que garanticen procedimientos técnico-administrativos que produzcan información de laboratorio útil para la vigilancia epidemiológica y la operación de los programas preventivos.

Es el soporte técnico-científico útil para la vigilancia epidemiológica, genera información de calidad para la toma oportuna de decisiones, a través de la confirmación mediante estudios de laboratorio en muestras biológicas.

La RNLSP está integrada por el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez” (InDRE) como órgano rector de la red, los Laboratorios Estatales de Salud Pública (LESP) y los Laboratorios de Apoyo a la Vigilancia Epidemiológica (LAVE). Se encuentra estructurada en tres niveles: nacional, estatal y local o sus equivalentes para otras instituciones. El nivel nacional está representado por el InDRE como Laboratorio Nacional de Referencia (LNR).

Tiene fundamento legal en el reglamento Interior de la Secretaría de Salud y la Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012, para la vigilancia epidemiológica y se encuentra definida en los Criterios de Operación para la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública Componente Vigilancia Epidemiológica.

En la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública se cuenta con el diagnóstico serológico de Brucelosis.

Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Brucelosis

El estudio de la brucelosis se inició en el año de 1939 en el laboratorio de bacteriología e inmunología del entonces Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales (ISET). La creación del Laboratorio de Brucelosis tuvo lugar en 1985 dentro del Departamento de Bacteriología bajo la conducción del Dr. Celso Mosqueira.

Después de analizar los resultados de la Encuesta Nacional Seroepidemiológica (ENSE) en que participó el Laboratorio de Brucelosis en 1989, se concluyó que la brucelosis humana en México, como en otros países, tiene características epidemiológicas peculiares, entre las que se pueden mencionar las siguientes: se trata de una enfermedad no ocupacional, que afecta personas de cualquier edad y estrato social y preferentemente mujeres.

La brucelosis humana ha permanecido endémica en varias zonas del país desde que se tiene noticia de ella debido a que el control de la brucelosis animal no ha tenido el impacto esperado, por lo que sigue siendo un problema de salud pública. Esto generó la necesidad de crear la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Brucelosis (RNLSP-Bru) para lo cual, como primer paso, se visitaron algunos laboratorios interesados en participar. En la actualidad la RNLSP-Bru está integrada por 31 Laboratorios Estatales de Salud Pública y constituye una de las redes más importantes de apoyo para la vigilancia de las zoonosis en México.

MARCO LEGAL

Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos

- Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos. Artículo 4. Diario Oficial de la Federación 05/II/1917, Última Reforma D.O.F. 15/II/2012.

Leyes

- Ley General de Salud, México. Nueva Ley publicada en el Diario Oficial de la Federación el 7 de febrero de 1984. Última reforma publicada DOF 07/06/2012.
- Ley Federal de Responsabilidades Administrativas de los Servidores Públicos. D.O.F. 13/III/2012. Última reforma en D.O.F. 28/V/2009

Reglamentos

- Reglamento Interior de la Secretaría de Salud. México. Publicado en el Diario Oficial de la Federación el 19 de enero de 2004. Última reforma publicada en el DOF del 10 de enero de 2011. Reforma aplicable: Decreto que reforma, adiciona y deroga diversas disposiciones del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud. DOF 2 de febrero de 2010.

- Reglamento Sanitario Internacional (2005) 2da edición. Ginebra Suiza 2008. Organización Mundial de la Salud.

Normas Oficiales Mexicanas

- Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012, Para la vigilancia epidemiológica, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 19 de febrero de 2013.
http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5288225&fecha=19/02/2013.
- Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011. Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos. D.O.F. 27/03/2012
- Norma Oficial Mexicana NOM-035-SSA3-2012. En materia de información en salud
- Norma Oficial Mexicana NOM-022-SSA2-2012. Para la prevención y control de la brucelosis en el ser humano. D.O.F. 11/07/2012.
- Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. D.O.F. 26/10/2012.
- Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005, que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos. D.O.F. 22/10/1993; Modificación D.O.F. 23/06/2006.
- Norma Oficial Mexicana NOM-018-STPS-2015, Sistema armonizado para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo. D.O.F. 09/10/2015

Planes y Programas

- Plan Nacional de Desarrollo 2013-2018. Diario Oficial de la Federación, DOF: 20/05/2013, www.dof.gob.mx
- Secretaría de Salud. Programa Sectorial de Salud 2013-2018. Diario Oficial de la Federación DOF: 12/12/2013.
- Secretaría de Salud. Programa de Acción Específico 2013-2018. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, primera edición 2014.
- Centro Nacional para la Prevención y Control de Enfermedades. Programa de Acción Específico: Prevención y Control de la Brucelosis 2013-2018. México: Secretaría de Salud; 2013.

Lineamientos y Manuales

- Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez. Criterios de Operación para la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública Componente Vigilancia Epidemiológica; InDRE. México: Secretaría de Salud; 2015.
- Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez”. Lineamientos para programas de evaluación externa del desempeño de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública; InDRE. México: Secretaría de Salud; 2015.
- Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez”. Lineamientos para la Gestión del Riesgo Biológico; InDRE. México: Secretaría de Salud; 2015.
- Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, “Dr. Manuel Martínez Báez”. Lineamientos para el reconocimiento a la competencia técnica de los laboratorios que apoyan a la vigilancia epidemiológica; InDRE. México: Secretaría de Salud; 2015.
- Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez”. Manual para la toma, envío y recepción de muestras para diagnóstico, InDRE. México: Secretaría de Salud; InDRE. México: Secretaría de Salud; 2015
- Dirección General de Epidemiología. Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Brucelosis; DGAE. México: Secretaría de Salud; 2012.

DEFINICIONES OPERACIONALES

Para realizar las acciones de vigilancia epidemiológica de la Brucelosis se deben considerar las definiciones operacionales establecidas en el *Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Brucelosis* (DGAE. México: Secretaría de Salud; 2012).

- **Caso sospechoso de brucelosis:** A toda persona que presente fiebre y dos o más de los siguientes signos y síntomas: cefalea, diaforesis, dolor abdominal, anorexia, mialgias, artralgias, astenia, adinamia, hiporexia, náuseas, vómito o escalofríos y con factores de riesgo para padecer brucelosis.

- **Caso probable de brucelosis:** Todo caso sospechoso que tenga resultado de laboratorio positivo a la aglutinación con antígeno Rosa de Bengala.
- **Caso confirmado de brucelosis:** Todo caso probable que tenga resultados positivos a pruebas confirmatorias de laboratorio: aglutinación estándar y aglutinación en presencia de 2-mercaptoetanol y que sean o no positivos a hemocultivo.

La Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012. Para la vigilancia epidemiológica, indica en el Anexo B los métodos y procedimientos para las actividades de vigilancia epidemiológica de la brucelosis en México (Cuadro 1.) La Norma Oficial Mexicana NOM-022-SSA2-2012. Para la prevención y control de la brucelosis en el ser humano, establece también, que la notificación de casos de brucelosis es obligatoria, con periodicidad semanal y la ocurrencia de brotes es de notificación inmediata.

Cuadro 1. Metodologías y Procedimientos para la Vigilancia Epidemiológica

Cuadro 1													
Grupo	Subgrupo	Padecimiento	Clave CIE	Metodologías y Procedimientos para la Vigilancia Epidemiológica									
				Vigilancia convencional	Estudio epidemiológico de caso	Estudio de brote	Registros nominales	Búsqueda activa de casos	Red negativa	Vigilancia basada en laboratorio	Vigilancia centinela	Vigilancia sindrómica	Encuestas
Enfermedades transmisibles	Zoonosis	Brucelosis	A23	X		X				X			X
Fuente: Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012. Para la vigilancia epidemiológica. Anexo B. D.O.F. 19/02/2013													

OBJETIVOS

Objetivo General

Establecer y dar a conocer a la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Brucelosis (RNLSP-Bru), los procedimientos estandarizados de diagnóstico, control de calidad y referencia de las muestras, para un diagnóstico oportuno y de calidad, que garantice la confiabilidad diagnóstica.

Objetivos Específicos

- Garantizar la calidad del diagnóstico serológico de la brucelosis.
- Ser el documento guía para el soporte técnico-científico de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Brucelosis.

Ámbito de aplicación

El presente documento aplica a todos los laboratorios que forman parte de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Brucelosis.

RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DE LA BRUCELOSIS

El Laboratorio de Brucelosis del InDRE, como Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) a nivel federal, es responsable de la coordinación de la RNLSP-Bru, siendo el órgano rector de la Red para el diagnóstico, referencia, capacitación, actualización y evaluación de la competencia técnica. El LNR interacciona con los LESP, y éstos a su vez, son los enlaces funcionales entre los laboratorios del nivel jurisdiccional o local y el nivel federal. La figura 1 muestra las entidades federativas que cuentan con laboratorios que conforman la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Brucelosis.



Figura 1. Entidades que cuentan con Laboratorios Estatales de Salud Pública parte de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Brucelosis.

Organización de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Brucelosis

Los laboratorios de la RNLSP-Bru, cuentan con diferentes niveles administrativos y capacidades diagnósticas para el diagnóstico serológico de la brucelosis. La organización general se basa en los siguientes puntos:

- Las técnicas y procedimientos utilizados para el diagnóstico son uniformes en toda la red, siguiendo los *Lineamientos para la Vigilancia por Laboratorio de la Brucelosis* como marco normativo que establece el LNR.
- Existe coordinación entre los laboratorios con diferente capacidad diagnóstica, de tal manera que aquellos que cuentan con menor capacidad técnica, pueden solicitar el servicio en aquellos laboratorios que tienen métodos de mayor complejidad.

La Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública para la Vigilancia de la Brucelosis está constituida por:

- El Laboratorio de Brucelosis como LNR, integrado al Departamento de Bacteriología del InDRE.
- Los 31 Laboratorios Estatales de Salud Pública.
- Los laboratorios jurisdiccionales, locales o sus equivalentes en las distintas instituciones que conforman el Sistema Nacional de Salud que cumplan los *Criterios de Operación de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública*.

FUNCIONES DE LOS INTEGRANTES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA PARA LA VIGILANCIA DE LA BRUCELOSIS

Funciones de los laboratorios a nivel local o jurisdiccional

- Recibir e identificar las muestras que ingresan.
- Realizar los estudios analíticos para el diagnóstico de la brucelosis de acuerdo con los lineamientos preestablecidos.
- Emitir en tiempo y forma los resultados de los exámenes de laboratorio a quien solicita el estudio.
- Aplicar las recomendaciones del nivel estatal.
- Cumplir con el programa de control de calidad indirecto que establece el nivel estatal.
- Participar en la evaluación del desempeño que organice el nivel estatal.
- Recibir capacitación y asesoría del nivel estatal.

Funciones de los Laboratorios Estatales de Salud Pública

Para el diagnóstico

- Realizar los estudios analíticos básicos para el diagnóstico de brucelosis en seres humanos con base en estos lineamientos.
- Emitir en tiempo y forma los resultados de los exámenes de laboratorio a quien solicita el estudio.
- Notificar al órgano normativo estatal que aplique los casos confirmados de brucelosis.

- Asegurar la calidad del diagnóstico de brucelosis: de acuerdo al *Manual para la Evaluación del Desempeño Caminando a la Excelencia*.
- Proporcionar, como mecanismo de apoyo técnico, la información relacionada y requerida por el programa sustantivo del área de su competencia.

Para la evaluación del desempeño

- Coordinar a los laboratorios jurisdiccionales o locales que realicen el análisis de muestras para la vigilancia epidemiológica de la brucelosis.
- Asegurar que se lleven a cabo los procedimientos, métodos y técnicas estandarizadas.
- Compilar las muestras de los laboratorios jurisdiccionales o locales y realizar el control de calidad indirecto de los mismos.
- Informar inmediatamente las inconsistencias encontradas.
- Realizar el análisis de la información generada.
- Recabar y analizar la información de los laboratorios jurisdiccionales o locales para el aseguramiento de la calidad de la red.

Para el Programa de Evaluación Externa del Desempeño (PEED)

- Participar en la evaluación del desempeño del InDRE, a través de los programas oficiales correspondientes.
- Realizar la evaluación del desempeño en los componentes de Brucelosis a los laboratorios locales.
- Generar la evidencia de la evaluación para la red y enviar copia de los resultados al laboratorio evaluado y al InDRE.
- Organizar la información de estas actividades y proporcionarla cuando sea requerida por las instancias evaluadoras.

Para la capacitación

- Capacitar al personal de los laboratorios jurisdiccionales o locales del Sector Salud que lo soliciten en su entidad de acuerdo con las necesidades detectadas en la técnica de diagnóstico de la brucelosis.

Para el apoyo técnico

- Colaborar o elaborar trabajos de investigación operativa que proporcione información prioritaria estatal, una vez que los protocolos sean aceptados por los comités de investigación.

Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia

El Laboratorio de Brucelosis del InDRE, como el LNR, es el órgano normativo para el diagnóstico de la brucelosis en México y tiene las siguientes funciones:

- Coordinar las actividades de la RNLSP-Bru.
- Establecer la normatividad referente a las técnicas de diagnóstico de la brucelosis en México.
- Realizar el análisis de muestras que otros laboratorios de la RNLSP-Bru no puedan realizar de manera permanente o transitoria.
- Capacitar al personal de la RNLSP-Bru en las técnicas de diagnóstico para la brucelosis que requieran.
- Realizar el control de calidad de la RNLSP-Bru mediante la ejecución del Programa de Evaluación Externa del Desempeño y la supervisión directa o indirecta de los servicios.
- Mantener los cultivos viables de *Brucella spp* bajo medidas de biocustodia estricta
- Funcionar como laboratorio de referencia en la producción de antisueros y antígenos específicos para el diagnóstico de brucelosis.
- Revisar el desempeño de los reactivos comerciales que se utilizan para el diagnóstico serológico de la brucelosis.
- Recopilar, analizar y evaluar la información de las actividades realizadas por la RNLSP-Bru.
- Realizar y coordinar investigaciones técnicas operacionales y epidemiológicas relacionadas con la brucelosis.
- Contribuir con el *Programa de Acción Específico para la Prevención y Control de la Brucelosis* para que la RNLSP-Bru trabaje en forma conjunta de acuerdo con las necesidades de diagnóstico.
- Efectuar las pruebas de laboratorio para el diagnóstico serológico y bacteriológico de la brucelosis.

TOMA, MANEJO Y ENVÍO DE MUESTRA

La muestra de elección para el diagnóstico serológico de la brucelosis es el suero, el cual se obtiene al permitir la coagulación de la sangre total. La coagulación normal y espontánea de la sangre ocurre entre 30 y 60 minutos a temperatura ambiente (22 a 25°C) y es más rápida cuando se obtiene en tubos de extracción que contienen un activador (5 a 15 minutos); puede ser más lenta en el caso de pacientes que reciben terapia con anticoagulantes (heparina o warfarina) Se debe permitir la coagulación completa de la sangre antes de la centrifugación; si no se hace de esta forma, la fibrina puede ocasionar interferencias en algunos instrumentos (lectura, aspiración o pipeteo de muestras).

Adicionalmente, se recomienda que el tubo esté en posición vertical y bien tapado, para evitar la contaminación externa y prevenir la evaporación o la posibilidad de producir derrames.

Precauciones universales

Todas las muestras para diagnóstico, confirmación o investigación en eventos de interés en salud pública serán consideradas potencialmente infecciosas, por lo que siempre se deben seguir las medidas de prevención de riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos, así como las recomendaciones del Manual de bioseguridad en el laboratorio de la Organización Mundial de la Salud (Ginebra, 2005).

Una muestra biológicamente adecuada se define como la muestra representativa del sitio de la lesión a investigar, en cantidad suficiente, colocada en un envase adecuado y limpio, identificada, conservada y transportada correctamente.

Toma de muestra

El procedimiento para la toma de muestra sanguínea está descrito en la OMS/SIGN: Carpeta de material sobre seguridad de las inyecciones y los procedimientos conexos. Organización Mundial de la Salud, 2011; así como en las directrices de la OMS sobre la extracción de sangre: las mejores prácticas

en la flebotomía (WHO *guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy*. Organización Mundial de la Salud, 2010).

Conservación

Una vez que el suero ha sido obtenido, la muestra es estable a temperatura ambiente (20 a 25 °C) durante cuatro horas y hasta 72 horas a 4 a 8°C. Después de 72 horas la muestra de suero debe ser congelada a -20° o a -70°C. En caso necesario realice alícuotas a partir de la muestra primaria para evitar ciclos de congelación y descongelación debido a que afecta el título de anticuerpos. (Cuadro 2)

Cuadro 2. Características de las muestras para el diagnóstico de la brucelosis.

Tipo de muestra	Número de muestra	Volumen de la muestra	Obtención	Envase	Conservación	Aditivos
Suero	1ª, 2ª, 3ª o 4ª muestra ^a	1.5 mililitros	La muestra es obtenida por personal calificado.	Tubo de ensaye que no sea de vidrio.	4 horas a 20-25°C	Ninguno
				Tubo eppendorf	72 horas a 4-8 °C Después de 72 h congelar a -20°C	
Líquido cefalorraquídeo ^b	Una	1 mililitro	La muestra es obtenida por personal médico especialista	Tubo de ensaye que no sea de vidrio.	5 horas a 20-25°C	Ninguno
				Tubo eppendorf	48 horas a 4-8 °C Después de 48 h congelar a -20°C	

^a: Para confirmar el diagnóstico a los pacientes con resultado indeterminado se les solicitará por única vez una segunda muestra 15 días después de la primera toma. Se debe realizar el seguimiento de los pacientes con diagnóstico positivo, por lo que se realiza una segunda, tercera y cuarta toma a los 30, 90 y 180 días respectivamente una vez concluido el tratamiento.

^b: Indicada para pacientes con caso sospechoso de neurobrucelosis.

Envío y transporte

Para transportar la muestra de suero se empaca mediante el sistema básico de triple embalaje asegurando la red fría durante el traslado¹.

- La muestra debe estar acompañada de la documentación correspondiente (historia clínica o estudio epidemiológico de caso, oficio de solicitud e informe del resultado del examen serológico, toda la

¹ Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos “Dr. Manuel Martínez Báez”. Manual para la toma, envío y recepción de muestras para diagnóstico, InDRE. México: Secretaría de Salud; InDRE. México: Secretaría de Salud; 2015

información escrita con letra legible). La documentación no debe estar en contacto con las muestras biológicas.

Criterios de aceptación y rechazo

Los criterios de aceptación de muestras biológicas son:

- Estar colocada en el envase adecuado.
- Correctamente identificada en el cuerpo del envase.
- Acompañada con el oficio de solicitud de estudio correspondiente con la justificación de envío:
 - Diagnóstico: cuando la muestra no tiene resultados de la prueba de Rosa de Bengala (RB) ni de las pruebas de aglutinación estándar (SAT) y aglutinación en presencia de 2-mercaptoetanol (2-ME).
 - Control de calidad: cuando se especifican los resultados de las pruebas RB, SAT y 2-ME.
- Traer el estudio epidemiológico de caso (SUIVE 2)² o historia clínica que contenga al menos la siguiente información:
 - Identificación del médico tratante.
 - Identificación del caso (nombre del paciente, edad, sexo, lugar de residencia, ocupación)
 - Datos clínicos (fecha de inicio de signos y síntomas, y descripción de los mismos).
 - Datos epidemiológicos que permitan identificar factores de riesgo.
 - Fecha de toma de la muestra.
 - Tratamiento.
 - Especificar el número de muestra (1ª muestra, 2ª, 3ª, o 4ª muestra).
 - Cumplir con los requisitos que se mencionan en el cuadro 2.

Los criterios de rechazo de muestras biológicas son:

- Si no se cumple con las características de aceptación mencionadas.
- Muestra está derramada.

2 http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/vig_epid_manuales/anexos_suive.zip

- Contenedor primario no identificado.
- Contenedor vacío.
- Muestra hemolizada, ictérica, lipémica o contaminada, debido a que se presentan interferencias en las pruebas.

Muestras de alto valor

Es aquella que se recibe en el laboratorio y que no cumple con alguno de los criterios de aceptación pero que por las características de evolución del paciente se considera una muestra de alto valor epidemiológico.

Cuando el laboratorio opta por procesar la muestra de alto valor se debe asegurar que en el informe de resultados se indique la naturaleza del problema y se especifique que se requiere precaución cuando se interprete el resultado.

ALGORITMO DE DIAGNÓSTICO

Para el diagnóstico por laboratorio de la brucelosis se establece el algoritmo del análisis serológico de esta enfermedad, el cual queda sujeto a actualizaciones cuando se realicen modificaciones al Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Brucelosis o cualquier otro documento normativo. La figura 3 muestra el algoritmo para el diagnóstico de brucelosis mediante la prueba presuntiva con Rosa de Bengala y las pruebas confirmatorias de SAT y 2-ME.

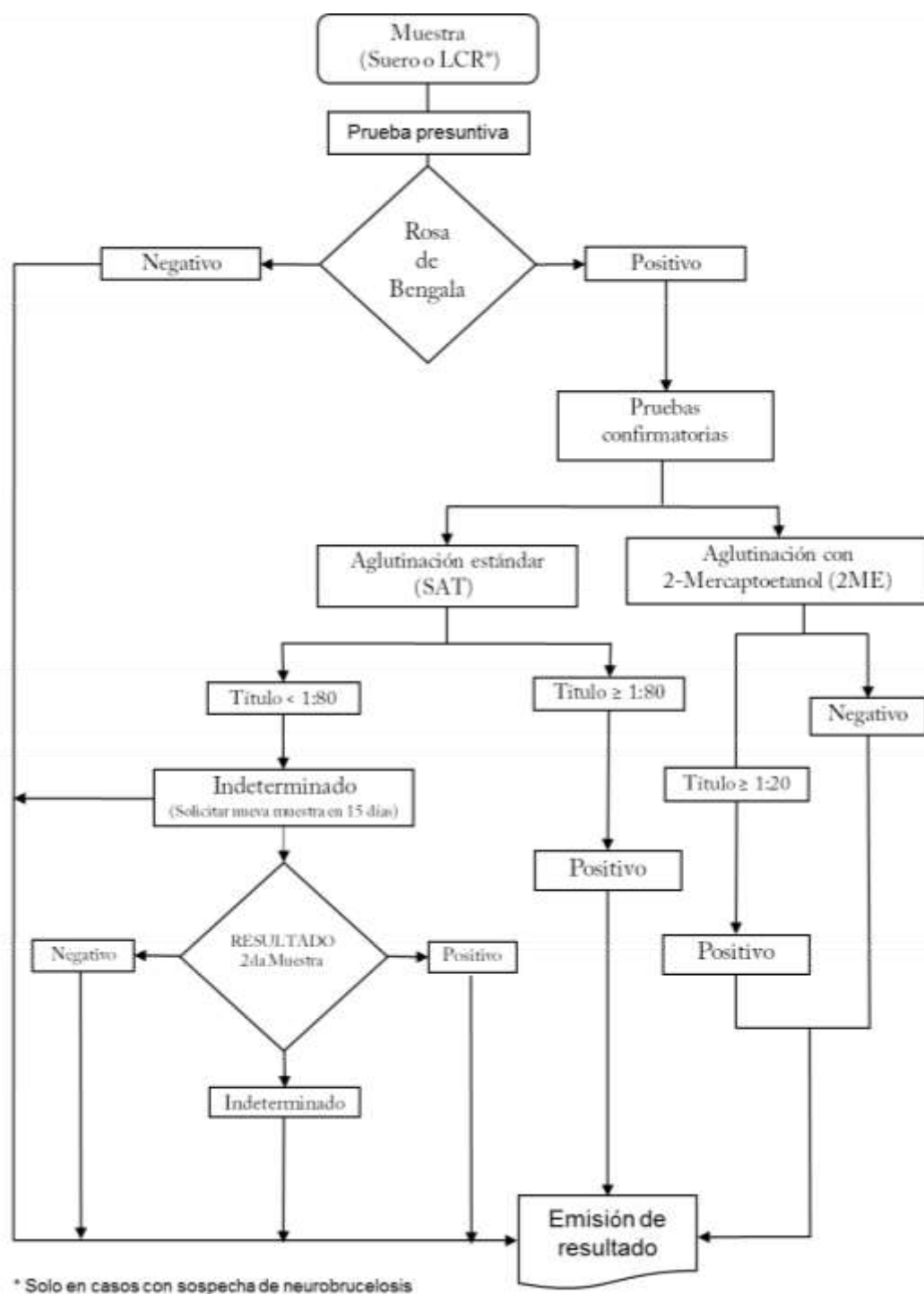


Figura 3. Algoritmo para el diagnóstico serológico de la brucelosis
Clave de tabulador: 1B5563007

CALIDAD EN EL SERVICIO DIAGNÓSTICO

De acuerdo con la *NOM-035-SSA3-2012, En materia de información en salud*, el contar con información oportuna y de calidad permite coadyuvar a la planeación del Sistema Nacional de Salud para reforzar las acciones de atención a los problemas sanitarios y factores que condicionen y causen daño a la salud.

Para cumplir con los estándares de calidad en la RNLSP-Bru es indispensable apegarse a los *Criterios de Operación para la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública Componente Vigilancia Epidemiológica*, implementar y mantener un Sistema de Gestión de la Calidad en apego a los requisitos de las normas ISO (*International Organization for Standardization*) 9001:2015 *Sistemas de Gestión de la Calidad* e ISO 15189:2015 *Requisitos de la calidad y competencia*.

Además, alinearse a los requisitos establecidos en el *Manual Caminando a la Excelencia*, los criterios de liberación de pruebas diagnósticas y cumplir con los indicadores de calidad en el servicio diagnóstico establecidos para la RNLSP-Bru.

Fase pre-analítica: Estos indicadores (Oportunidad en la toma, el envío y porcentaje de rechazo) comprenden actividades propias del área de vigilancia epidemiológica que inciden en la calidad de la muestra.

- **Oportunidad en la Toma:** Si el resultado es indeterminado se solicita por única vez una segunda muestra 15 días después de la 1ª toma o si la muestra es de seguimiento de pacientes con diagnóstico confirmado se debe realizar una 2ª, 3ª y 4ª toma de muestra a los 30, 90 y 180 días respectivamente después de haber concluido el tratamiento.
- **Oportunidad en el envío:** Una vez tomada la muestra debe ser recibida en el laboratorio para su procesamiento de manera inmediata y hasta 72 horas posteriores a la toma si se conserva a 4°-8°C.
- **Porcentaje de rechazo:** La proporción de rechazos permitida es del $\leq 5\%$. Cuando se registre mayor al 5% del rechazo, el laboratorio debe comunicar al área de vigilancia epidemiológica las oportunidades de mejora con la finalidad de que realicen las acciones conducentes.

Los indicadores de la fase analítica (estándar del servicio) competen a la RNLSP-Bru e inciden en la obtención de un resultado confiable y oportuno.

- **Estándar del Servicio:** El estándar de servicio para el diagnóstico serológico de la brucelosis es de 5 días hábiles.

PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DEL DESEMPEÑO

Los laboratorios integrantes de la RNLSP-Bru deben participar en el programa de evaluación externa del desempeño organizado por el LNR, con base al cronograma que se muestra en el cuadro 3.

Los LESP son responsables de conducir programas de evaluación del desempeño dirigidos a los laboratorios que integran su red estatal para el diagnóstico serológico de brucelosis.

Objetivo: Evaluar el desempeño diagnóstico de los laboratorios de la red e identificar a aquellos con áreas de oportunidad por fallas técnicas u operativas para colaborar en su mejora continua.

Procedimiento:

- El LNR envía a los laboratorios integrantes de la RNLSP-Bru una serie de muestras en los meses de abril y octubre.
- Las muestras serán procesadas con base al instructivo que se adjunta en el envío.
- El LESP envía los resultados obtenidos al LNR en las fechas y formatos establecidos en el oficio del panel.
- El LNR analiza los informes de resultados de la RNLSP-Bru y elabora un informe con el resultado global y particular de los participantes de la red.
- El LNR envía a la RNLSP-Bru el informe del análisis de los resultados vía correo electrónico.
- Con base en los resultados obtenidos, el LESP establecerá un plan de acciones correctivas.

Cuadro 3. Cronograma anual de actividades del PEED

ACTIVIDAD	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEPT	OCT	NOV	DIC
Envío del primer panel ala RNLSP-Bru				X								
Recepción de resultados del Panel en el InDRE				X								
Envío de resultados a la RNLSP-Bru					X							
Envío del segundo panel ala RNLSP-Bru										X		
Recepción de resultados del Panel en el InDRE										X		
Envío de resultados a la RNLSP-Bru											X	

CRITERIOS PARA LA LIBERACIÓN DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS EN LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS PARA LA VIGILANCIA DE LA BRUCELOSIS

Generalidades

Para la liberación del diagnóstico serológico de la brucelosis de un laboratorio, se requiere:

- Contar con los Reactivos, Equipos e Infraestructura (evaluadas durante las visitas de reconocimiento a la competencia técnica).
 - Espejo con aumento del 4x o 5x con diámetro aproximado de 20 centímetros
 - Pipeta monocanal de 10 a 100 microlitros
 - Pipeta de 8 a 10 canales de 30 a 300 microlitros
 - Lámpara de luz blanca
- Contar con personal capacitado y aprobado en el InDRE en curso o capacitación en servicio durante el año 2016 y subsecuentes.
- Cumplimiento mayor o igual al 90% en dos paneles de evaluación consecutivos a partir de enero de 2016 (indicador de evaluación del desempeño).
- Cumplimiento mayor o igual a 90% en el indicador de concordancia analítica del control de calidad indirecto a partir de enero de 2016.

Nota aclaratoria: El porcentaje de muestras a enviar al InDRE se establece en el Manual del *Boletín Caminando a la Excelencia*.

Con la finalidad de verificar el cumplimiento de los objetivos de la liberación de las pruebas diagnósticas se definen los estándares en el cuadro 4.

Cuadro 4. Estándares de calidad de la prueba para la liberación de las pruebas diagnósticas

Indicador Trimestral	Tipo de Indicador	Porcentaje Máximo	Valor del Indicador	Fuente de Información
Concordancia	Proceso	100	30 de la calificación final	InDRE-SIS
Cumplimiento	Proceso	100	30 de la calificación final	InDRE-SIS
Evaluación del Desempeño	Desempeño	100	40 de la calificación final	InDRE-SIS
Reconocimiento a la competencia Técnica	Desempeño	100	40% de la calificación final	Supervisiones a los LESP

BANCO DE MATERIAL BIOLÓGICO EN EL InDRE

Las muestras que se reciben para diagnóstico serológico se conservan 8 días y las muestras enviadas por los LESP al InDRE para control de calidad 15 días posteriores a la emisión del informe de resultado. La disposición final de las muestras se realiza con base en los procedimientos establecidos en el Instituto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alton GG, Jones LM, Pietz DE. Las técnicas de laboratorios en la brucelosis, 2ª ed. OMS, Ginebra, Suiza, 1976.
2. Hernández MI, Peña FG y Betancourt MX. Brucelosis 19. en Manual de procedimientos de laboratorio, Alejandro Escobar Gutiérrez, editor. INDRE/SAGAR. INDRE-SSA, México, 1996.
3. López MA, Contreras RA. *Brucella*, cap. III. en Agentes Patógenos Transmitidos por Alimentos, Ma. Refugio Torres Vitela y Alejandro Castillo Ayala. Editores. Vol. II. 2ªed. México, Universidad de Guadalajara; 2009. p. 89-124. ISBN: 978-970-764-859-3.
4. López SR, Antonio OD, Hernández MI, González DF. Brucelosis: avances y perspectivas. Secretaría de Salud, Publicación Técnica del InDRE, 6 (México). 1991.

5. Miller MJ, et al. Guidelines for safe work practices in human and animal medical diagnostic laboratories. MMWR Surveill Summ. 6; 61:1-102; 2012.
6. Delany JR, Pentella MA, Rodríguez JA, Shah KJ, Baaxley KP, Holmes DE; Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for biosafety laboratory competency: CDC and the association of Public Health Laboratories, MMWR. Supplement / Vol. 60; 2011.
7. World Health Organization. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2015-2016. Applicable as from 1 January 2015. World Health Organization 2015.
8. Chosewood C & Wilson DE. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories–5th ed. CDC-NIH; 2009.
9. European Committee for Standardization. CWA 15793:2011 Laboratory biorisk management standard. Brussels: CEN; 2011.
10. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual–3rd ed. Geneva: WHO; 2005.
11. World Health Organization, Et Al. Who Guidelines on Drawing Blood: Best Practices In Phlebotomy. 2010.

ANEXOS

Anexo I: Bioseguridad en el Laboratorio de Brucelosis

Una vez que la muestra se ha recibido en el laboratorio, es responsabilidad del personal asegurar que las actividades se realicen en un ambiente seguro y ordenado, lo cual se logra con recurso humano calificado y entrenado técnicamente en prácticas de bioseguridad que generan seguridad para su bienestar, el de sus colegas, la comunidad, el ambiente y los bienes.

Todas las muestras para el diagnóstico serológico de brucelosis deben ser consideradas como potencialmente infecciosas y ser manipuladas de manera apropiada siguiendo las prácticas estandarizadas para laboratorios de nivel de bioseguridad 2 establecidas en los *Lineamientos para la gestión del riesgo biológico*.

1. Lavado frecuente de manos, especialmente después de quitarse los guantes y antes de salir del laboratorio.
2. No fumar, comer, beber, o almacenar alimentos en el laboratorio.
3. Cuidado para minimizar salpicaduras y acciones que pudieran crear aerosoles (gotas minúsculas).
4. Descontaminación de superficies de trabajo después de cada uso y ante algún derrame.
5. No usar la pipeta por medio de succión oral.
6. Tener precauciones al usar objetos punzocortantes, lo que incluye el uso de contenedores especiales para desecho de agujas y otros objetos punzocortantes.
7. Uso de equipo de protección personal (bata de laboratorio de manga larga y cerrada, guantes de látex o nitrilo y cubreboca)
8. Protección para los ojos, según sea necesario dependiendo del tipo de trabajo que se realice.
9. Tener políticas y procedimientos para restringir el acceso al laboratorio.
10. Colocar señales de advertencia de peligro biológico fuera del laboratorio.
11. Contar con manual de bioseguridad.
12. Contar con personal de supervisión con experiencia en el trabajo con agentes infecciosos y entrenamiento específico para personal que maneja estos agentes.
13. Realizar la disposición final de material contaminado con base la NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002

Anexo II: Técnicas de Diagnóstico

El diagnóstico serológico de la brucelosis se realiza mediante la detección de anticuerpos anti-*Brucella* por medio de reacciones de aglutinación antígeno-anticuerpo. Se emplea una suspensión de bacterias de *Brucella abortus* 99S o 1119 -3 de baja virulencia inactivada que actúan como antígeno que reacciona con los anticuerpos específicos anti-*Brucella* presentes en el suero del paciente, estos se ponen de manifiesto al formar una malla de aglutinación. En la prueba tamiz se detectan anticuerpos totales y se ponen de manifiesto por la formación de grumos.

Los anticuerpos detectados en la prueba de Aglutinación Estándar en Microplaca principalmente son de la clase IgM e IgG y cuando se realiza la prueba en presencia de 2-mercaptoetanol éste rompe los puentes disulfuro lo que inactiva las inmunoglobulinas IgM por lo que básicamente se detectan las inmunoglobulinas IgG.

Procedimiento

1. **Preparación de antígeno y sueros control**
 - a. Los antígenos y los sueros control se preparan como lo indican las etiquetas de los viales y se conservan en refrigeración (2 a 8°C).
 - b. Los antígenos y los controles deben estar a temperatura ambiente antes de su uso para el análisis de muestras.
 - c. Homogenice perfectamente la suspensión de antígeno antes de utilizarla para el análisis de muestras.
 - d. Los controles positivo y negativo se deben ensayar en cada corrida.
2. **Prueba tamiz (Aglutinación con Antígeno Rosa de Bengala)**
 - a. Se realiza en placa de vidrio.
 - b. El Antígeno Rosa de Bengala debe estar a temperatura ambiente.
 - c. Coloque en la placa de vidrio 30 µL de la muestra.
 - d. Adicione en la muestra 30 µL del Antígeno Rosa de Bengala, mezcle con un aplicador (use un aplicador diferente para cada muestra).
 - e. Mezcle moviendo la placa en forma rotatoria por 4 minutos.

- f. Realice la lectura con la ayuda de una fuente de luz directa (se puede dar un resultado positivo en cuanto se formen grumos de aglutinación pero NUNCA se da un resultado negativo antes de los cuatro minutos).
- g. **Reacción positiva:** Formación de grumos de aglutinación.
- h. **Reacción negativa:** La ausencia de grumos de aglutinación.
- i. Registre los resultados

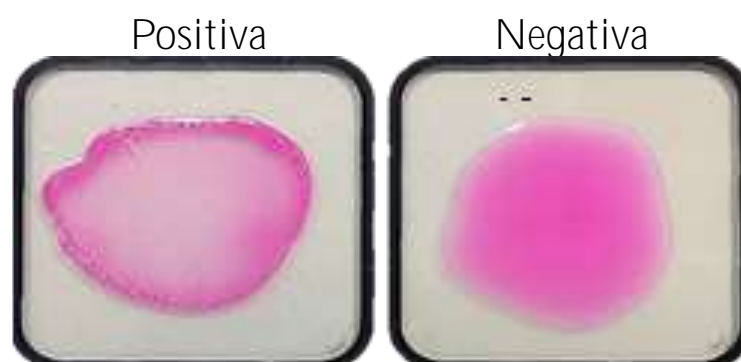


Figura A.1. Prueba aglutinación con Rosa de Bengala. En la figura se observan resultados de aglutinación positiva a la izquierda y reacción negativa a la derecha.
Foto del Laboratorio de Brucelosis del InDRE, 2016.

3. Pruebas confirmatorias

3.1 Aglutinación estándar en microplaca (SAT)

- a. Marque con "SAT" una placa de poliestireno 96 pozos fondo en "U".
- b. En el primer pozo coloque 180 μ L de solución salina al 0.85% (SS) o solución salina fenolada al 0.5% (SSF) más 20 μ L de la muestra.
- c. En los siguientes pozos coloque 100 μ L de SS o SSF.
Nota: por el fenómeno de prozona se recomienda usar de 8 a 10 pozos.
- d. Mezcle el suero (primer pozo): Aspire y expela tres a cuatro veces con la pipeta.
- e. Tome 100 μ L del primer pozo y transfiera al segundo pozo.
- f. Mezcle y transfiera 100 μ L al siguiente pozo.
- g. Continúe de la misma forma hasta llegar al último pozo.
- h. Después de mezclar éste último, descarte 100 μ L para igualar el volumen al resto de los pozos.

Importante: Utilice una punta diferente para cada muestra para evitar contaminación cruzada.

- i. Una vez que se hicieron las diluciones, coloque 100 μL de antígeno blanco diluido a la concentración indicada a todos los pozos.
- j. Cubra las placas para evitar la desecación e incube la placa a $37^{\circ}\text{C}\pm 1$ durante 20 a 24 horas.
- k. Lea las placas con ayuda del espejo de aumento y 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 cúmulo de células sedimentadas en forma de botón.

3.2 Aglutinación con 2-mercaptoetanol (2-ME)

- a. Marque con “2ME” una placa de poliestireno 96 pozos fondo en “U”.
- b. En el primer pozo coloque 180 μL de solución con 2-mercaptoetanol al 0.71% más 20 μL de la muestra.
- c. En los siguientes pozos coloque 100 μL de solución con 2-mercaptoetanol al 0.71% **Nota:** por el fenómeno de prozona se recomienda usar de 8 a 10 pozos
- d. Mezcle el suero (primer pozo): Aspire y expela tres a cuatro veces con la pipeta.
- e. Tome 100 μL del primer pozo y transfiera al segundo pozo.
- f. Mezcle y transfiera 100 μL al siguiente pozo.
- g. Continúe de la misma forma hasta llegar al último pozo. Después de mezclar éste último, descarte 100 μL para igualar el volumen al resto de los pozos. **Importante:** Utilice una punta diferente para cada muestra para evitar contaminación cruzada.
- h. Una vez que se hicieron las diluciones, coloque 100 μL de antígeno blanco diluido a la concentración indicada a todos los pozos.
- i. Cubra las placas para evitar la desecación e incube la placa a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 20 a 24 horas.

- j. Lea las placas con ayuda del espejo de aumento y 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 cúmulo de células sedimentadas en forma de botón.



Figura A.2. Prueba de aglutinación estándar en microplaca. En la placa se observan muestras con diferentes títulos; A: 1:1280, B: 1:320, C: 1:20, D: 1:2560, E: 1:640 y F: Negativo. Foto del Laboratorio de Brucelosis del InDRE, 2016.

4. Interpretación por el laboratorio.

4.1 Prueba tamiz

Aglutinación con Antígeno Rosa de Bengala

Reacción positiva: Formación de grumos de aglutinación.

Reacción negativa: Ausencia de grumos de aglutinación.

Cualquier resultado positivo en la prueba tamiz debe ser analizado con las pruebas confirmatorias que determinen el tipo de anticuerpos presentes, así como el título.

4.2. Pruebas confirmatorias.

4.2.1. Aglutinación estándar en microplaca (SAT)

La prueba se considera positiva a partir de la dilución 1:80.

Títulos menores que 1:80 en esta prueba no son significativos ya que sólo representan un contacto con *Brucella spp* en alguna etapa de la vida del individuo; sin embargo, la enfermedad no se descarta por completo por lo que es importante complementar el diagnóstico con la prueba de Aglutinación con 2-mercaptoetanol.

4.2.2. Aglutinación con 2-mercaptoetanol (2-ME)

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

4.3 Indeterminados

Se considera un resultado indeterminado cuando:

1. Prueba tamiz positiva y las pruebas confirmatorias son negativas.
2. Prueba tamiz positiva, aglutinación estándar es $\leq 1:40$ y la aglutinación 2-ME es negativa.

Para confirmar el resultado indeterminado se solicitara por única vez una segunda muestra 15 días después de la primera toma.

4.2 Interpretación de los resultados de las pruebas confirmatorias para el diagnóstico de la brucelosis, con base a la NOM-022-SSA2-2012. (cuadro A.1)

Cuadro A.1. Interpretación de los resultados de las pruebas confirmatorias

Cuadro A1				
Posibles resultados				
Prueba	a	b	c	d
Aglutinación estándar en microplaca	+	+	-	-
Aglutinación con 2-mercaptoetanol	-	+	+	-
	Infección en etapa inicial	Infección de curso prolongado	Revisar técnica. Repetir estudio	Repetir el estudio, si se mantiene negativo (-) se descarta brucelosis.

Norma Oficial Mexicana NOM-022-SSA2-2012. Para la prevención y control de la brucelosis en el ser humano.



1939 · 2019

AÑOS

Siendo Referencia Nacional en Salud Pública

INDRE

SALUD

SECRETARÍA DE SALUD



Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud
Dirección General de Epidemiología

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos
"Dr. Manuel Martínez Báez"