

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA E SAÚDE
ANIMAL - VPS -**

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA BRUCELOSE

Prova de Soro Aglutinação Lenta em Tubos - SAL - (WRIGHT, 1897)

MATERIAL:

- Tubos de ensaio 10,0 cm x 14,0 mm (quatro tubos para cada soro).
- Estante para os tubos de ensaio.
- Pipetas centesimais com graduação específica (pipetas de Bang).
- Antígeno para Prova de Soro Aglutinação Lenta (*B. abortus* amostra 1119/3, concentração celular de 4,5% para ser diluído 1/100, no momento de uso, em solução fisiológica a 0,85% contendo 0,5% de fenol).
- Estufa a 37°C.
- Soros que serão examinados.
- Soros controle positivo e negativo.

TÉCNICA:

- Tanto os soros quanto o antígeno devem ser colocados à temperatura ambiente meia hora antes do exame.
- Para cada soro a ser examinado, pipetar nos tubos de ensaio as seguintes quantidades: 0,08; 0,04; 0,02 e 0,01 mL.
- Em cada tubo adicionar 2,0 mL de antígeno prova lenta já diluído (concentração celular 0,045%), obtendo-se, assim, as seguintes diluições: 1:25; 1:50; 1:100 e 1:200.
- Agitar suavemente.
- Incubar na estufa a 37°C durante 48 horas (\pm 3 horas).

LEITURA:

- **Reação positiva:** coluna límpida, com depósito de grumos que não se dissolvem por agitação do tubo.
- **Reação incompleta:** coluna líquida ou turva, com pequenos grumos depositados, os quais, com agitação do tubo, dissolvem-se totalmente ou em parte.
- **Reação negativa:** coluna turva, sem depósito de grumos.
- O **Título** corresponde ao inverso da maior diluição do soro que apresente reação positiva.

Observação:

- Soros hemolisados não são adequados para a realização da prova de aglutinação lenta em tubos, pois o fenol em contato com a hemoglobina livre (ferro) pode formar precipitados que confundem a leitura e levar à interpretação resultados falsos positivos.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA E SAÚDE
ANIMAL - VPS -**

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA BRUCELOSE

Prova de Soro Aglutinação Lenta com 2-mercaptoetanol 2-ME

MATERIAL:

- Tubos de ensaio 10,0 cm x 14,0 mm (quatro tubos para cada soro).
- Estante para os tubos de ensaio.
- Pipetas centesimais com graduação específica (pipetas de Bang).
- Solução trabalho de 2-ME a 0,1 M:
 - 2-ME.....0,714 mL
 - Solução Salina 0,85% q.s.p. ... 100 mL
- Antígeno para Prova de Soro Aglutinação Lenta (*B. abortus* amostra 1119/3, concentração celular de 4,5% para ser diluído 1/50, no momento de uso, em solução fisiológica a 0,85%.
- Estufa a 37°C.
- Soros que serão examinados.
- Soros controle positivo e negativo.

TÉCNICA:

- Tanto os soros quanto o antígeno devem ser colocados à temperatura ambiente, meia hora antes do exame.
- Para cada soro a ser examinado, pipetar nos tubos de ensaio as seguintes quantidades: 0,08; 0,04; 0,02 e 0,01 mL.
- Em cada tubo adicionar 1 mL da solução de trabalho de 2-ME 0,1 M; aguardar 30 minutos.
- Adicionar 1,0 mL de antígeno da prova lenta já diluído (concentração celular 0,09%). A concentração final do antígeno será 0,045%, do 2-ME 0,05M e as diluições do soro 1:25; 1:50; 1:100 e 1:200.
- Agitar suavemente.
- Incubar na estufa a 37°C durante 48 horas (\pm 3 horas).

LEITURA:

- **Reação positiva:** coluna límpida, com depósito de grumos que não se dissolvem por agitação do tubo.
- **Reação incompleta:** coluna líquida ou turva, com pequenos grumos depositados, ou quais, com agitação do tubo, dissolvem-se totalmente ou em parte.
- **Reação negativa:** coluna turva, sem depósito de grumos.
- O **Título** corresponde ao inverso da maior diluição do soro que apresente reação positiva.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA E SAÚDE
ANIMAL - VPS -**

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA BRUCELOSE

Prova de Soro Aglutinação Rápida em placa com Antígeno Acidificado Tamponado - AAT - (PIETZ, 1968)

MATERIAL:

- Placa de vidro quadriculada (placa de Huddleson).
- Caixa com luz indireta para leitura.
- Pipetas centesimais com graduação específica (pipetas de Bang) e gotejador de 0.03 mL ou pipetador automático de 30 µL e respectivas ponteiras.
- Bastões de vidro
- Antígeno acidificado tamponado (*B. abortus*, amostra 1119/3, na concentração celular de 8%, corado pelo Rosa de Bengala e com pH 3,65).
- Soros que serão examinados.
- Soros controle positivo e negativo.

TÉCNICA:

- Tanto os soros quanto o antígeno devem ser colocados à temperatura ambiente, meia hora antes de iniciar-se a prova.
- Pipetar, no centro de cada quadriculado da placa, 0,03 mL (30 µL) de cada um dos soros a ser examinado.
- Adicionar sobre o soro 0,03 ml (30 µL) do antígeno acidificado tamponado.
- Misturar com bastão de vidro para formar um círculo.
- Imprimir movimento manual de vai e vem na placa permitindo que a mistura soro-antígeno possa fluir lentamente dentro do círculo.
- Proceder a leitura no quarto minuto após ter feito a mistura do soro-antígeno (colocar a placa na caixa com luz indireta para melhor visualização).

INTERPRETAÇÃO:

- Presença de grumos – resultado **positivo**.
- Ausência de grumos – resultado **negativo**.

