

Rosa de Bengala

Aglutinación en porta

Determinación cualitativa de anticuerpos anti-Brucella IVD

Conservar a 2 - 8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El Rosa de Bengala es una técnica de aglutinación en porta para la detección cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos anti-Brucella en suero humano. La suspensión bacteriana y coloreada, es aglutinada por anticuerpos IgG o IgM presentes en el suero del paciente.

SIGNIFICADO CLÍNICO

El diagnóstico de la brucelosis puede establecerse bien sea por el aislamiento de del microorganismo en sangre o heces, o por la demostración de la presencia de anticuerpos específicos en el suero del paciente. El reactivo, debido a su formulación en un tampón de pH ácido, es capaz de reaccionar con anticuerpos IgG o IgM, por lo que es muy útil para el diagnóstico de individuos en fase crónica de la enfermedad, los cuales presentan un nivel elevado de anticuerpos IgG difícilmente detectables por el método tradicional de aglutinación en tubo (Wright).

REACTIVOS

Rosa de Bengala	Suspensión de <i>Brucella abortus</i> cepa S99, en Tampón Lactato 1 mol/L, fenol 5 g/L, Rosa Bengala, pH 3,6.
Control + Tapón rojo	Suero animal, con un contenido de anticuerpos anti-Brucella ≥ 50 UI/mL. Conservante.
Control - Tapón azul	Suero animal. Conservante.

PRECAUCIONES

Control +/-: H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Contienen 2-Metilisotiazol-3(2H)-ona (Proclin 950). Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto. Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs, HCV y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

CALIBRACIÓN

La sensibilidad del reactivo está estandarizada frente a la 2ª Preparación de suero bovino anti-*Brucella abortus* de NIBSC (UK).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los reactivos del kit están listos para su uso. Mezclar los reactivos suavemente antes de usar.

Indicadores de deterioro de los reactivos: Presencia de partículas.

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, **protegidos de la luz** y se evita la contaminación durante su uso. No congelar: la congelación de los reactivo altera irreversiblemente la funcionalidad de éstos.

MATERIAL ADICIONAL

- Agitador mecánico rotatorio de velocidad regulable a 80-100 r.p.m.
- Agitador vórtex.
- Pipetas de 50 µL.

MUESTRAS

Suero fresco. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C. Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de la prueba. No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

Método cualitativo

1. Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente. La sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas.
2. Depositar 50 µL de la muestra a ensayar y una gota de cada uno de los controles Positivo y Negativo, sobre círculos distintos de un porta.
3. Mezclar el reactivo de R. de Bengala vigorosamente o con el agitador vortex antes de usar. Depositar una gota (50 µL) junto a cada una de las gotas anteriores.
4. Mezclar las gotas con un palillo, procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo. Emplear palillos distintos para cada muestra.

5. Situar el porta sobre un agitador rotatorio a 80 – 100 r.p.m. durante 4 minutos. El exceso de tiempo de agitación puede originar la aparición de falsos positivos.

Método semicuantitativo

1. Realizar diluciones dobles de la muestra en solución salina 9 g/L.
2. Proceder para cada dilución, como en la prueba cualitativa.

LECTURA E INTERPRETACIÓN

Examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de retirar el porta del agitador. La presencia de aglutinación indica una concentración de anticuerpos anti-Brucella igual o superior a 25 UI/mL.

En el método semicuantitativo, se define el título como la dilución mayor que da resultado positivo.

CÁLCULOS

La concentración aproximada de anticuerpos anti-Brucella en la muestra del paciente se obtiene de la siguiente manera:

$$25 \times \text{Título de anti-Brucella} = \text{UI/mL}$$

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar el control positivo y negativo para controlar la funcionalidad del reactivo, así como modelo de comparación para la interpretación de los resultados.

Todo resultado distinto al resultado que da el control negativo, se considerará positivo.

VALORES DE REFERENCIA

Hasta 25 IU/mL. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

1. **Sensibilidad analítica:** 25 (± 5) UI/mL, en las condiciones descritas en el ensayo.
2. **Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 1000 UI/mL.
3. **Sensibilidad diagnóstica:** 100%
4. **Especificidad diagnóstica:** 98%

INTERFERENCIAS

Hemoglobina (10 g/L), lípidos (10 g/L) y factores reumatoideos (300 UI/mL) no interfieren. La bilirrubina interfiere a partir de 2,5 mg/dL. Otras sustancias pueden interferir⁵.

NOTAS

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.

BIBLIOGRAFÍA

1. Young E J. Clinical Infectious Diseases 1995; 21: 283-290.
2. Alton GC. Techniques for Brucellosis Laboratory INRA Paris, 1988.
3. Ariza J. Current Opinion in Infectious Diseases 1996; 9: 126-131.
4. Comité mixto FAO/OMS de expertos en Brucelosis. WLD Health Org Tech Rep Ser 1958; 148: 1-60.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

PRESENTACIÓN

Ref. 1200901	50 tests	: 2,5 mL Rosa de Bengala
		: 1 mL Control +
		: 1 mL Control -
		: 8 x 6 portas desechables

Qualitative determination of antibodies anti-Brucella IVD

Store at 2 - 8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The Rose Bengal is a slide agglutination test for the qualitative and semi-quantitative detection of antibodies anti-Brucella in human serum. The stained bacterial suspension agglutinates when mixed with samples containing specific IgG or IgM antibodies present in the patient sample.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Brucella diagnostic may be assessed either by microorganism isolation in blood or stools, or by titration of specific antibodies in the patient serum. The reagent, because of its formulation in an acid buffer, is reactive with both IgG and IgM antibodies and very useful for the diagnosis of chronic individuals, which present a high level of IgG antibody, difficult to be detected by the reference tube method (Wright).

REAGENTS

Rose Bengal	<i>Brucella abortus</i> suspension, strain S99, in lactate buffer 1 mol/L, phenol 5 g/L, Rose Bengal, pH 3,6
White cap	
Control +	Animal serum, with an antibody anti- <i>Br.abortus</i> concentration ≥ 50 IU/mL. Preservative
Red cap	
Control -	Animal serum. Preservative
Blue cap	

PRECAUTIONS

Control +/-: H317: May cause an allergic skin reaction.

Contain 2-Methylisothiazol-3(2H)-one (Proclin 950).

Follow the precautionary advice indicated on the SDS and product label. Components from human origin have been tested and found to be negative for the presence of HBsAg, HCV, and antibody to HIV (1/2). However, handle cautiously as potentially infectious.

CALIBRATION

The Rose Bengal sensitivity is calibrated against the 2^o International Preparation of anti-*Brucella abortus* from NIBSC (UK) (WHO).

STORAGE AND STABILITY

All reagents are ready to use, and will remain stable until the expiration date printed on the label, when stored tightly closed at 2-8°C **protected from light** and contaminations are prevented during their use. Do not freeze: frozen reagents could change the functionality of the test. Mix reagents gently before use.

Reagents deterioration: Presence of particles.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Mechanical rotator with adjustable speed at 80-100 r.p.m.
- Vortex mixer.
- Pipettes 50 μ L.

SAMPLES

Fresh serum. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C.

Samples with presence of fibrin should be centrifuged before use.

Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

PROCEDURE

Qualitative method

1. Allow the reagents and samples to reach room temperature. The sensitivity of the test may be reduced at low temperatures.
2. Place 50 μ L of the sample and one drop of each Positive and Negative controls into separate circles on the slide test.
3. Mix the R. Bengal reagent vigorously or on a vortex mixer before using and add one drop next to the sample to be tested.
4. Mix the drops with a stirrer, spreading them over the entire surface of the circle. Use different stirrers for each sample.
5. Place the slide on a mechanical rotator at 80-100 r.p.m. for 4 minutes. False positive results could appear if the test is read later than two minutes.

Semi-quantitative method

1. Make serial two fold dilutions of the sample in 9 g/L saline solution.
2. Proceed for each dilution as in the qualitative method.

READING AND INTERPRETATION

Examine macroscopically the presence or absence of visible agglutination immediately after removing the slide from the rotator. The presence of agglutination indicates an antibody anti-Brucella concentration equal or greater than 25 IU/mL.

The titer, in the semi-quantitative method, is defined as the highest dilution showing a positive result.

CALCULATIONS

The approximate antibody concentration in the patient sample is calculated as follows:

$$25 \times \text{anti-Brucella Titer} = \text{IU/mL}$$

QUALITY CONTROL

Positive and Negative controls are recommended to monitor the performance of the procedure, as well as a comparative pattern for a better result interpretation.

All result different from the negative control result, will be considered as a positive.

REFERENCE VALUES

Up to 25 IU/mL.

Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. **Analytical sensitivity:** 25 (± 5) IU/mL, under the described assay conditions
2. **Prozone effect:** No prozone effect was detected up to 1000 IU/mL.
3. **Diagnostic sensitivity:** 100 %.
4. **Diagnostic specificity:** 98 %.

INTERFERENCES

Hemoglobin (10 g/L), lipemia (10 g/L) and rheumatoid factors (300 IU/mL), do not interfere. Bilirubin interferes at 2.5 mg/dL. Other substances may interfere⁵.

NOTES

Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Young E J. Clinical Infectious Diseases 1995; 21: 283-290.
2. Alton GC. Techniques for Brucellosis Laboratory INRA Paris, 1988.
3. Ariza J. Current Opinion in Infectious Diseases 1996; 9: 126-131.
4. Comité mixto FAO/OMS de expertos en Brucelosis. WLD Health Org Tech Rep Ser 1958; 148: 1-60.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995

PACKAGING

Ref. 1200901	50 tests	: 2.5 mL Rose Bengal
		: 1 mL Control +
		: 1 mL Control -
		: 8 x 6 disposable slides

Rose de Bengale

Agglutination sur lame

Détermination qualitative d'anticorps anti-Brucella IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

La Rose de Bengale est une technique d'agglutination sur lame visant à la détection qualitative et semi-quantitative d'anticorps anti-Brucella dans le sérum humain. La suspension bactérienne et colorée est agglutinée par des anticorps IgG ou IgM présents dans le sérum du patient.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Le diagnostic de la brucellose peut être établi soit par l'isolement du microorganisme dans le sang ou les selles, soit par la démonstration de la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum du patient. Le réactif, compte tenu de sa formulation dans un tampon de pH acide, est capable de réagir avec des anticorps IgG ou IgM, c'est pourquoi il sera très utile au diagnostic d'individus en phase chronique de la maladie, lesquels présentent un niveau élevé d'anticorps IgG, difficiles à détecter par la méthode traditionnelle d'agglutination avec tube (Wright).

RÉACTIFS

Rose Bengale	Suspension de <i>Brucella abortus</i> souche S99, dans Tampon Lactate 1 mol/L, phénol 5 g/L, Rose Bengale, pH 3,6.
Contrôle + Bouchon rouge	Sérum animal, avec un contenu d'anticorps anti-Brucella ≥ 50 UI/mL. Conservateur
Contrôle - Bouchon bleu	Sérum animal. Conservateur

PRECAUTIONS

Contrôle +/- : H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. Contient du 2-méthylisothiazol-3(2H)-one (ProClin 950). Suivre les conseils de prudence indiqués sur la FDS et l'étiquette du produit. Tous les composants d'origine humaine ont été révélés négatifs par l'antigène HBs, HCV et par l'anti-HIV (1/2). Toutefois, ils doivent être considérés avec prudence, car ils sont potentiellement infectieux.

CALIBRATION

La sensibilité du réactif est standardisée par rapport à la 2^e Préparation de sérum bovin anti-*Brucella abortus* de NIBSC (UK) (WHO).

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les réactifs du kit sont prêts à l'emploi. Mélangez doucement les réactifs avant utilisation.

Indices de détérioration des réactifs: Présence de particules.

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas congeler: la congélation des réactifs altère irréversiblement leur fonctionnalité.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Agitateur mécanique rotatif à vitesse réglable à 80-100 r.p.m.
- Agitateur Vortex
- Pipettes de 50 µL

ÉCHANTILLONS

Sérum frais. Stable 7 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C. Les échantillons avec des traces de fibrine doivent être centrifugés avant l'essai. Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés ou lipémiques.

PROCEDURE

Méthode qualitative

1. Mettre les réactifs et les échantillons à température ambiante. La sensibilité de l'essai diminue à faibles températures.
2. Déposer 50 µL de l'échantillon à tester et une goutte de chaque contrôle Positif et Négatif, sur différents cercles d'une lame.
3. Mélanger le réactif de R. de Bengale vigoureusement ou avec l'agitateur vortex avant emploi. Déposer une goutte (50 µL) près de chacune des gouttes précédentes.
4. Mélanger les gouttes avec un bâtonnet en tâchant d'étaler le mélange sur toute la surface intérieure du cercle. Employer des bâtonnets différents pour chaque échantillon.
5. Placer la lame sur un agitateur rotatif à 80 – 100 r.p.m. pendant 4 minutes. L'excès de temps d'agitation peut causer l'apparition de faux positifs.

Méthode semi-quantitative

1. Réaliser des dilutions doubles de l'échantillon dans une solution saline 9 g/L.
2. Procéder pour chaque dilution comme dans l'essai qualitatif.

LECTURE ET INTERPRÉTATION

Examiner macroscopiquement la présence ou l'absence d'agglutination immédiatement après avoir retiré la lame de l'agitateur. La présence d'agglutination indique une concentration d'anticorps anti-Brucella égale ou supérieure à 25 UI/mL.

Dans la méthode semi-quantitative, le titre est défini comme la plus grande dilution qui donne un résultat positif.

CALCULS

La concentration approximative d'anticorps anti-Brucella dans l'échantillon du patient s'obtient de la manière suivante :

$$25 \times \text{Titre d'anti-Brucella} = \text{UI/mL}$$

CONTROLE DE QUALITE

Il est recommandé d'utiliser le contrôle positif et négatif pour contrôler la fonctionnalité du réactif, ainsi que le modèle de comparaison pour l'interprétation des résultats.

Tout résultat autre que le résultat qui donne le contrôle négatif est considéré comme positif.

VALEURS DE REFERENCE

Jusqu'à 25 IU/mL. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

1. **Sensibilité analytique :** 25 (± 5) UI/mL, dans les conditions décrites dans l'essai.
2. **Effet prozone :** On n'observe pas d'effet prozone jusqu'à des valeurs de 1 000 UI/mL.
3. **Sensibilité du diagnostic :** 100 %
4. **Spécificité du diagnostic :** 98 %

INTERFÉRENCES

Hémoglobine (10 g/L), lipides (10 g/L) et facteurs rhumatoïdes (300 UI/mL) n'interfèrent pas. La bilirubine interfère à partir de 2,5 mg/dL. D'autres substances peuvent interférer⁵.

REMARQUES

Le diagnostic clinique ne doit pas être réalisé avec les résultats d'un seul essai. Il faut considérer en même temps les données cliniques du patient.

BIBLIOGRAPHIE

1. Young E J. Clinical Infectious Diseases 1995; 21: 283-290.
2. Alton GC. Techniques for Brucellosis Laboratory INRA Paris, 1988.
3. Ariza J. Current Opinion in Infectious Diseases 1996; 9: 126-131.
4. Comité mixte FAO/OMS de experts en Brucelosis. WLD Health Org Tech Rep Ser 1958; 148: 1-60.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

PRÉSENTATION

Réf. : 1200901 50 tests : 2,5 mL Rose Bengale
 : 1 mL Contrôle +
 : 1 mL Contrôle -
 : 8 x 6 lames jetables

Rosa de Bengala

Aglutinação em placa

Determinação qualitativa de anticorpos anti-Brucella IV D

Conservar entre 2-8 °C.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Rosa de Bengala é uma técnica de aglutinação em placa para a detecção qualitativa e semi-quantitativa de anticorpos anti-Brucella em soro humano. A suspensão bacteriana e colorida, é aglutinada por anticorpos IgG ou IgM presentes no soro do doente.

SIGNIFICADO CLÍNICO

O diagnóstico de brucelose pode ser estabelecido através do isolamento do microorganismo no sangue ou fezes, ou através da demonstração da presença de anticorpos específicos no soro do doente. O reagente, devido à sua formulação num tampão com pH ácido, é capaz de reagir com anticorpos IgG ou IgM, pelo que é muito útil para o diagnóstico de indivíduos em fase crónica da doença, os quais apresentam um nível elevado de anticorpos IgG dificilmente detectáveis pelo método tradicional de aglutinação em tubo (Wright).

REAGENTES

Rosa de Bengala	Suspensão de <i>Brucella abortus</i> estirpe S99, em Tampão Lactato 1 mol/L, fenol 5 g/L, Rosa de Bengala, pH 3,6.
Controlo + Tampão vermelho	Soro animal, com um conteúdo de anticorpos anti-Brucella ≥ 50 UI/mL. Conservante.
Controlo - Tampão azul	Soro animal. Conservante.

PRECAUÇÕES

Controle +/-: H317: Pode provocar reações alérgicas na pele. Contém 2-metilisotiazol-3(2H)-ona (Proclin 950). Siga os conselhos de precaução indicados na SDS e no rótulo do produto. Todos os componentes de origem humana deram resultado negativo para o antígeno HBs, HCV e para o anti-HIV (1/2). No entanto, devem ser manuseados como material potencialmente infecciosos.

CALIBRAÇÃO

A sensibilidade do reagente está padronizada comparativamente à 2ª Preparação de soro bovino anti-*Brucella abortus* de NIBSC (UK).

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os reagentes do kit estão prontos a utilizar.

Misture os reagentes suavemente antes de usar.

Indicadores de degradação dos reagentes: Presença de partículas.

Todos os componentes do kit são estáveis até ao prazo de validade indicado na etiqueta do vial, quando os vials são mantidos bem fechados, a uma temperatura entre 2-8 °C, **protegidos da luz** e se evita a sua contaminação. Não congelar. O congelamento do antígeno pode alterar a sua funcionalidade.

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Agitador mecânico rotativo de velocidade regulável a 80 - 100 r.p.m.
- Agitador vórtex.
- Pipetas de 50 μ L.

AMOSTRAS

Soro fresco. Estável durante 7 dias a 2-8 °C ou durante 3 meses a -20 °C. As amostras com restos de fibrina devem ser centrifugadas antes do teste. Não utilizar amostras hemolizadas ou lipémicas.

PROCEDIMENTO

Método qualitativo

1. Deixar os reagentes e as amostras atingir a temperatura ambiente. A sensibilidade do teste diminui a baixas temperaturas.
2. Colocar 50 μ L da amostra a testar e uma gota de cada um dos controlos Positivo e Negativo, sobre círculos diferentes de uma lâmina escavada de vidro.
3. Misturar o reagente de R. de Bengala vigorosamente ou com o agitador vórtex antes de utilizar. Depositar uma gota (50 μ L) junto de cada uma das gotas anteriores.
4. Misturar as gotas com um vareta, procurando espalhar a mistura por toda a superfície interior do círculo. Utilizar varetas diferentes para cada amostra.
5. Colocar a placa sobre um agitador rotativo a 80 - 100 r.p.m. durante 4 minutos. Um excesso de tempo de agitação pode causar o aparecimento de falsos positivos.

Método semi-quantitativo

1. Realizar diluições duplas da amostra em solução salina 9 g/l.
2. Proceder para cada diluição, como no teste qualitativo.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO

Examinar macroscopicamente a presença ou ausência de aglutinação imediatamente após retirar a placa do agitador. A presença de aglutinação indica uma concentração de anticorpos anti-Brucella igual ou superior a 25 UI/mL.

No método semi-quantitativo, a concentração define-se como a maior diluição que origina um resultado positivo.

CÁLCULOS

A concentração aproximada de anticorpos anti-Brucella na amostra do doente é obtida da seguinte forma:

$$25 \times \text{concentração de anti-Brucella} = \text{UI/mL}$$

CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se a utilização do controlo positivo e negativo para controlar a funcionalidade do reagente, assim um como modelo de comparação para interpretação dos resultados.

Qualquer resultado diferente do resultado que origina o controlo negativo, será considerado positivo.

VALORES DE REFERÊNCIA

Até 25 UI/ml. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

1. **Sensibilidade analítica:** 25 (± 5) UI/mL, nas condições descritas no teste.
2. **Efeito prozona:** Não se observa efeito prozona até valores de 1000 UI/mL.
3. **Sensibilidade diagnóstica:** 100 %
4. **Especificidade diagnóstica:** 98 %

INTERFERÊNCIAS

Hemoglobina (10 g/L), lípidos (10 g/L) e factores reumatóides (300 UI/mL) não interferem. A bilirrubina interfere a partir de 2,5 mg/dL. Outras substâncias podem interferir⁵.

NOTAS

O diagnóstico clínico não deve basear-se apenas nos resultados de um único teste, devendo considerar-se também os dados clínicos do doente.

BIBLIOGRAFIA

1. Young E J. Clinical Infectious Diseases 1995; 21: 283-290.
2. Alton GC. Techniques for Brucellosis Laboratory INRA Paris, 1988.
3. Ariza J. Current Opinion in Infectious Diseases 1996; 9: 126-131.
4. Comité mixto FAO/OMS de expertos en Brucelosis. WLD Health Org Tech Rep Ser 1958; 148: 1-60.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995.

APRESENTAÇÃO

Ref. 1200901	50 testes	: 2,5 mL Rosa de Bengala
		: 1 mL Controlo +
		: 1 mL Controlo -
		: 8 x 6 portas descartáveis