



KIT DE LÁTEX RÁPIDO
INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

ROSE BENGAL: para deteção de anticorpos anti-Brucella.

RESUMO

O teste Rose Bengal é um teste de aglutinação em lâmina para a deteção qualitativa e semiquantitativa de anticorpos anti-Brucella em soro humano. O reagente, devido à sua formulação num tampão ácido, é reativo tanto com anticorpos IgG como com anticorpos IgM, e bastante útil para o diagnóstico de indivíduos crónicos, os quais apresentam níveis muito elevados de anticorpos IgG que são difíceis de detetar pelo método em tubo (Wright) de referência.

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O reagente é um reagente de teste destinado a ser utilizado para determinar qualitativamente e semiquantitativamente a presença ou ausência de anticorpos anti-Brucella no soro ou plasma de doentes, quando testado em conformidade com as técnicas recomendadas nestas Instruções de utilização.

PRINCÍPIO

Quando utilizado com as técnicas recomendadas, uma suspensão de Brucella abortus no reagente irá aglutinar-se (agregação) na presença de anticorpos anti-Brucella. A não ocorrência de aglutinação (ausência de agregação) indica, geralmente, a ausência de anticorpos anti-Brucella (consulte Limitações).

DESCRIÇÃO DO KIT

O Kit Lorne Rose Bengal destina-se à deteção de anticorpos anti-Brucella. O reagente consiste numa suspensão da estirpe S99 de Brucella abortus que se aglutina na presença de anticorpos anti-Brucella. Os reagentes não contêm nem consistem em substâncias cancerígenas, mutagénicas ou tóxicas para a reprodução (CMR), substâncias passíveis de causarem a desregulação do sistema endócrino nem substâncias passíveis de causarem sensibilização ou uma reação alérgica no utilizador. Todos os reagentes são fornecidos na diluição ideal para utilização com todas as técnicas recomendadas, sem necessidade de diluição ou acréscimo adicional. Para obter informações sobre o número de referência do lote e o prazo de validade, consulte os **rótulos dos frascos**.

CONSERVAÇÃO

Todos os reagentes são fornecidos prontos a utilizar e permanecerão estáveis até ao fim do prazo de validade impresso no rótulo quando conservados bem fechados entre 2–8 °C e protegidos da luz, e sejam evitadas contaminações durante a utilização dos mesmos. Não congele: reagentes congelados poderão alterar a funcionalidade do teste. Armazene os frascos na posição vertical. Se a posição for alterada, misture suavemente para dissolver os agregados eventualmente presentes. Deterioração dos reagentes: presença de partículas.

COLHEITA DE AMOSTRAS

As amostras devem ser colhidas com ou sem anticoagulante, utilizando uma técnica de flebotomia asséptica. Se o teste for adiado, as amostras podem ser conservadas entre 2–8 °C durante 7 dias ou por um período máximo de 3 meses a uma temperatura de –20 °C ou inferior. As amostras têm de estar isentas de contaminação bacteriana, fibrina, lipemia visível e hemólise visível.

PRECAUÇÕES

1. O kit destina-se apenas a utilização em diagnóstico *in vitro*.
2. Não utilize o kit após o prazo de validade (consulte os **rótulos dos frascos e da caixa**).
3. Ao manusear reagentes deve utilizar-se vestuário de proteção, como luvas descartáveis e uma bata de laboratório.
4. O reagente Rose Bengal contém fenol: tóxico (T) R24/25: tóxico em contacto com a pele e por ingestão. R34: provoca queimaduras. S28.2: em caso de contacto com a pele, lavar imediatamente com bastante água. S45: em caso de acidente, consultar imediatamente um médico.

5. Os reagentes contidos neste kit foram processados para reduzir a carga biológica, mas não são fornecidos estéreis. Quando um frasco é aberto, o conteúdo do mesmo deverá manter-se viável até ao fim do prazo de validade.
6. Os materiais utilizados para produzir o kit foram testados na origem e demonstraram ser negativos para VIH 1, VIH 2 e HBsAg utilizando testes microbiológicos aprovados. Contudo, nenhum teste conhecido pode garantir que os produtos de origem humana ou animal estão isentos de agentes infecciosos. Deve ter-se cuidado na utilização e eliminação de cada frasco e respetivo conteúdo.

ELIMINAÇÃO DE REAGENTES DO KIT E CONTROLO DE DERRAMES

Para obter informações sobre a eliminação de reagentes do kit e a descontaminação de um local afetado por um derrame, consulte a **Ficha de Dados de Segurança**, disponível mediante pedido.

CONTROLOS E RECOMENDAÇÕES

1. Recomenda-se que seja testado um controlo positivo de Brucella e um controlo negativo de Brucella em paralelo com cada lote de testes. Os testes devem ser considerados inválidos se os controlos não apresentarem os resultados esperados.
2. Todos os reagentes têm de atingir uma temperatura de 18–25 °C antes da utilização.
3. Agite bem os reagentes antes da utilização, de modo a assegurar homogeneidade.
4. Não troque entre si componentes de diferentes kits.
5. A utilização do kit e a interpretação dos resultados devem ser realizadas por profissionais qualificados e com a devida formação, de acordo com os requisitos em vigor no país onde o kit é utilizado. O utilizador tem de determinar a adequabilidade do kit para utilização com outras técnicas.

COMPONENTES DO KIT FORNECIDOS

- 1) Reagente Rose Bengal (tampa branca, 2,5 ml): suspensão de Brucella abortus, estirpe S99, em tampão lactato 1 mol/l, fenol 5 g/l, Rose Bengal, pH de 3,6.
- 2) Controlo positivo (tampa vermelha, 1 ml): soro animal com uma concentração de anticorpos anti-Brucella ≥ 50 UI/ml e um conservante.
- 3) Controlo negativo (tampa azul, 1 ml): soro animal e um conservante.
- 4) Pipetas-agitadores.
- 5) Lâmina para aglutinação reutilizável.

MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Rotor mecânico com velocidade ajustável de 80–100 rpm.
- Pipetas de Pasteur e pipetas graduadas.
- Agitador do tipo vórtex.

TÉCNICA QUALITATIVA RECOMENDADA

1. Deixe que os reagentes e as amostras atinjam a temperatura ambiente. A sensibilidade do teste pode ser reduzida a baixas temperaturas.
2. Coloque 50 µl da amostra e uma gota de cada um dos controlos, positivo e negativo, em círculos separados na lâmina de teste.
3. Misture vigorosamente, ou num agitador do tipo vórtex, o reagente Rose Bengal antes da utilização e adicione uma gota junto à amostra a testar.

- Misture as gotas com um agitador, espalhando-as sobre toda a superfície do círculo. Utilize agitadores diferentes para cada amostra.
- Coloque a lâmina num rotor mecânico a 80–100 rpm durante 4 minutos. Poderão surgir resultados positivos falsos se o teste for lido ao fim de 4 minutos.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS QUALITATIVOS

- Positivo:** a aglutinação visível constitui um resultado positivo e dentro das limitações aceites do procedimento de teste, indicando um nível de anticorpos anti-Brucella na amostra ≥ 25 UI/ml.
- Negativo:** a não ocorrência de aglutinação visível num líquido leitoso constitui um resultado negativo e dentro das limitações aceites do procedimento de teste, indicando um nível de anticorpos anti-Brucella na amostra < 25 UI/ml.

TÉCNICA SEMIQUANTITATIVA RECOMENDADA

- O teste semiquantitativo pode ser realizado da mesma forma que o teste qualitativo, utilizando diluições do soro.
- Crie diluições duplas da amostra de soro em solução salina na concentração de 9 g/l conforme indicado a seguir:

Diluição	Soro	Solução salina
1/2	100 µl de soro não diluído	100 µl
1/4	100 µl de soro diluído 1/2	100 µl
1/8	100 µl de soro diluído 1/4	100 µl
1/16	100 µl de soro diluído 1/8	100 µl

- Teste as diluições da amostra da mesma forma que a utilizada na técnica quantitativa indicada acima.
- A aglutinação dos soros indica:

Diluição	Anticorpos anti-Brucella (UI/ml)
1/2	50 (25 x 2)
1/4	100 (25 x 4)
1/8	200 (25 x 8)
1/16	400 (25 x 16)

- Os níveis normais de anticorpos anti-Brucella em adultos são < 25 UI/ml.

RESULTADOS

O título é expresso como o recíproco da diluição mais elevada que apresenta aglutinação macroscópica: p. ex., se esta ocorrer na diluição de 1/8, o título é $(8 \times 25 \text{ UI/ml}) = 200 \text{ UI/ml}$.

ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

Os testes em lâmina devem ser interpretados imediatamente após o período de rotação de 4 minutos, de modo a evitar a possibilidade de um resultado negativo ser incorretamente interpretado como positivo devido a secagem do reagente.

LIMITAÇÕES

- O diagnóstico não deverá basear-se unicamente nos resultados do método Rose Bengal, devendo também ser complementado com um exame clínico.
- A hemoglobina (≤ 10 g/l), os fatores reumatoides (≤ 300 UI/ml) e a lipemia (≤ 10 g/l) não interferem. A bilirrubina ($\geq 2,5$ mg/dl) interfere. Outras substâncias podem interferir¹.
- Também podem ocorrer resultados positivos falsos ou negativos falsos devido a:
 - Contaminação dos materiais de teste
 - Conservação incorreta dos materiais de teste ou omissão de reagentes
 - Desvio das técnicas recomendadas

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

- O kit foi caracterizado por todos os procedimentos mencionados nas **Técnicas recomendadas**.

- A sensibilidade do teste Rose Bengal é calibrada comparativamente com o 2.^a Preparação Internacional da OMS de anti-Brucella abortus do NIBSC (Reino Unido).
- Sensibilidade analítica: 25 (± 5) UI/ml, sob as condições de teste descritas.
- Efeito prozona: não foi detetado nenhum efeito prozona até às 1000 UI/ml.
- Sensibilidade de diagnóstico: 100%.
- Especificidade de diagnóstico: 98%.

ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE

- O utilizador é responsável pelo desempenho do kit quando utilizado em qualquer outro método que não os mencionados em **Técnicas recomendadas**.
- Eventuais desvios devem ser validados antes da utilização de procedimentos laboratoriais estabelecidos.

BIBLIOGRAFIA

- David S. Jacobs et al. Laboratory Test Handbook, 3rd edition, Lexi-Comp Inc, 1994.

APRESENTAÇÕES DISPONÍVEIS DO KIT

Apresentação do kit	Número de catálogo
50 testes por kit	155050A



Lorne Laboratories Limited
 Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
 Danehill
 Lower Earley
 Berkshire, RG6 4UT
 Reino Unido
 Tel.: +44 (0) 118 921 2264
 Fax: +44 (0) 118 986 4518
 E-mail: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr.,
 Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta