

ROSA DE BENGALA MonlabTest®



Determinación cualitativa de anticuerpos anti-Brucella

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. 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 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 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 reactivos altera irreversiblemente la funcionalidad de éstos.

MATERIAL ADICIONAL

- Agitador mecánico rotatorio de velocidad regulable a 80-100 r.p.m.
- Agitador vortex.
- 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 Rosa 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 x Título de anti-Brucella = 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 reumatoides (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

| | |
|--------------------|---------------------------|
| | 5,0 mL Rosa Bengala |
| | 1 mL Control + |
| | 1 mL Control - |
| MO-165016 100 test | 16 x 6 portas desechables |

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

| | | | |
|--|-----------------------------------|--|------------------------------------|
| | Fabricante | | Uso de diagnóstico <i>in vitro</i> |
| | No reutilizar | | Consultar las instrucciones de uso |
| | Contiene suficiente para <n> test | | Mantener seco |
| | Código | | Límite de temperatura |
| | Número de lote | | Fecha de caducidad |



ROSE BENGAL
MonlabTest®



Qualitative determination of antibodies anti-Brucella

Only for professional *in vitro* diagnostic use. 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 White cap | <i>Brucella abortus</i> suspension, strain S99, in lactate buffer 1 mol/L, phenol 5 g/L, Rose Bengal, pH 3.6 |
| Control + Red cap | Animal serum, with an antibody anti- <i>Br. abortus</i> concentration \geq 50 IU/mL. Preservative |
| Control - Blue cap | Animal serum. Preservative |

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 NIBS (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. Mix reagents gently before use.

Do not freeze: frozen reagents could change the functionality of the test.

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 Rose 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 (\pm 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 Brucellosis. 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

| | |
|---------------------|---|
| MO-165016 100 tests | 5.0 mL Rose Bengal 1 mL Control + 1 mL Control - 16 x 6 disposables slides |
|---------------------|---|

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

| | | | |
|--|-----------------------------------|--|---|
| | Manufacturer | | For <i>in vitro</i> diagnostic use only |
| | Don't re-use | | Consult instructions for use |
| | Contains sufficient for <n> tests | | Keep dry |
| | Catalogue Code | | Temperature limitation |
| | Lot Number | | Use by |

