

FINALIDADE

Antígeno acidificado e tamponado destinado à pesquisa qualitativa ou semi-quantitativa, de anticorpos anti-Brucella por soroaglutinação direta em cartão.

Registro ANVISA:

10097010033

Apresentação:

550110 - ROSA BENGALA-ANTIGENO-1mL-KIT 25T

LB 171004
Rev. 16 – 08/2024

1. INTRODUÇÃO

A brucelose é uma doença infecciosa de origem animal causada por um *Cocobacilo* Gram negativo do gênero *Brucella*. Esta infecção geralmente é adquirida pela ingestão de leite e derivados contaminados, portanto, o sorodiagnóstico torna-se um recurso laboratorial essencial.

O Antígeno Rosa Bengala é usado como teste de triagem para pesquisa de anticorpos anti-brucella. Os resultados positivos devem ser confirmados por outro método sorológico mais específico.

Embora subdiagnosticada, a brucelose é uma das mais importantes zoonoses bacterianas, estima-se que em torno de meio milhão de casos novos em humanos reconhecidos anualmente, principalmente em países em desenvolvimento. Esta é considerada hiperendêmica em áreas do Mediterrâneo, Península Arábica, Índia, México, América Central e América do Sul. Mesmo em locais livres de brucelose animal podem apresentar casos importados. Algumas áreas do globo chegam a ter prevalência de 10 casos por 100 mil habitantes e, embora seja raramente fatal nos seres humanos (letalidade de 0,1%), causa principalmente abortos e infertilidade em bovinos de corte e leite. A primeira descrição clínica da doença foi feita em 1859, por Marston. Observaram na ilha de Malta casos de febre intermitente seguidos de morte. Em 1905 foi demonstrada a natureza zoonótica da doença (isolamento do agente em leite de cabras por Zammit).

O período de incubação é geralmente entre 5 a 60 dias, podendo perdurar por até dois anos. A ação do sistema imune após a entrada de bactérias no organismo é evitada por mecanismos ainda não bem definidos (produção de urease – a qual oferece proteção contra o ambiente ácido do estômago -, cobertura de lipopolissacarídeos, cobre-zinco, superóxidodismutase). As bactérias são fagocitadas, porém não inativadas. Não há desenvolvimento de imunidade duradoura. O pico de produção das imunoglobulinas, tanto IgM quanto IgG é após quatro semanas da exposição. Não existem atualmente vacinas eficazes em humanos.

Para o diagnóstico da brucelose humana não há um protocolo definitivo. Recomenda-se a utilização de um teste de triagem e se positivo, a realização de um teste confirmatório. Geralmente o teste de triagem adotado é o teste de soroaglutinação com antígeno brucélico corado pelo Rosa Bengala.

2. COMPOSIÇÃO

2.1- Reagente Rosa bengala

Formulação	Concentração/L
Suspensão de <i>Brucella abortus cepa</i> S99	80g
Tampão lactato	1 mol
Fenol	5g
Água deionizada	1000mL
pH 3,6	

2.2- Soro controle positivo

Formulação	Concentração/L
Soro controle positivo para reagente Rosa Bengala	qs
Água deionizada	1000mL

2.3- Soro controle negativo

Formulação	Concentração/L
Soro controle negativo de origem humana para reagente Rosa Bengala	qs
Tampão glicina	qs
Azida sódica	1g
Água deionizada	1000 mL

3. AMOSTRA

a- Tipos de amostras

- São utilizadas para pesquisa de anticorpos contra o Antígeno Rosa Bengala, amostras de soro humano.
- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.

b- Precauções e cuidados especiais

- Produto destinado ao uso diagnóstico *in vitro*;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado.
- Antes de descartar o material utilizado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Para acondicionamento do material a ser autoclavado, recomendamos o uso do Detrilab.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Princípio

Rosa Bengala é uma técnica de aglutinação em placa para detecção qualitativa e semi-quantitativa de anticorpos anti-Brucella em soro humano. A suspensão bacteriana é aglutinada por anticorpos IgG e IgM do paciente.

b- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório o produto é estável a temperatura de 2 a 8 °C, condições em que se mantém estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza.

c- Precauções e cuidados especiais

- Manter o frasco sempre fechado, de maneira a evitar ressecamento do antígeno;
- O reagente se destina ao uso diagnóstico *in vitro*, não devendo ser ingerido ou entrar em contato com a pele e mucosas;
- Deve-se evitar o uso de materiais que possam contaminar os reagentes, tais como ponteiros plásticos de micropipetador reaproveitados.
- Homogeneizar como explicado no item 6. Procedimento Técnico, o antígeno antes da prova;
- Recomenda-se o uso dos controles em cada bateria de testes realizada.
- Realizar a leitura do resultado no máximo em 2 minutos.

- Proporção antígeno X amostra utilizada na análise deve ser de 40µL de antígeno para 40µL de amostra, conforme procedimento técnico. Não indicamos a realização de microtécnica.
- Pela sensibilidade do antígeno aos resíduos de detergente, não é aconselhado a utilização de lâminas lavadas. É recomendada apenas a utilização das lâminas descartáveis que acompanham o kit.
- A leitura deve ser realizada em lâmina opaca, com a leitura a olho nu, sob uma boa fonte de luz (não utilizar o microscópio).
- As amostras devem estar isentas de lipemia e hemólise.
- O antígeno (reagente) deve adquirir temperatura ambiente (próximo a 25°C) antes de iniciar a análise.
- Nos climas secos cuidados especiais devem ser tomados para evitar o ressecamento durante a análise, como, por exemplo, a utilização de câmara úmida durante a agitação.

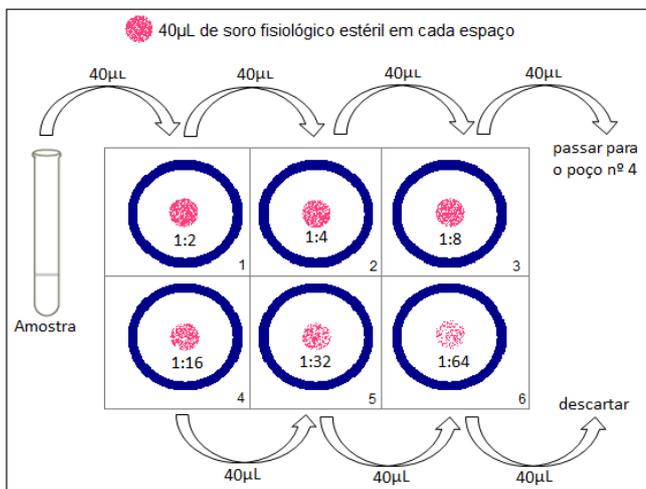
5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não incluídos)

- Fonte luminosa com luz branca incidente;
- Micropipetas 40 µL e ponteiros descartáveis;
- Ambiente climatizado em torno de 25°C;
- Bastão homogeneizador de amostras.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

6.1 Prova qualitativa

- Deixar que os reagentes e amostras adquiram a temperatura ambiente (próximo a 25°C) antes da análise. Temperaturas baixas podem reduzir a sensibilidade do método;
- Pipetar para as demarcações da lâmina 40µL de controle negativo, controle positivo e amostra;
- Agitar o frasco da suspensão vigorosamente até sua homogeneização e a seguir adicionar 40µL desta aos controles e amostra;



- Homogeneizar com bastões apropriados os controles e amostra;
- Agitar a lâmina em movimentos circulares suaves por 3 minutos, podendo ser utilizado um agitador de Kline ou similar em velocidade de 80 a 100 rpm, cuidar com o excesso de agitação, pois pode originar resultados falso-positivos.
- Analisar imediatamente os resultados a olho nu (não usar microscópio) sob uma fonte de luz branca incidente de boa intensidade. Após dois minutos podem surgir resultados falso-positivos.

6.2 Prova quantitativa

- Preparar uma série de diluições do soro entre 1:2 e 1:64 (podendo ir além deste título), de seguinte forma:
- Identificar as posições da lâmina como 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 e 1:64, a seguir acrescentar 40µL de soro fisiológico estéril em cada uma das posições;

c-Transferir 40µL da amostra na primeira posição da lâmina, homogeneizar com a micropipeta (aspirando e dispensando a diluição), transferir 40µL desta diluição para a próxima posição, repetir este procedimento até a última posição identificada, desprezando a última alíquota.

d- Testar as diluições conforme o disposto na técnica qualitativa, substituindo as amostras pelas diluições.

7. RESULTADOS

- Negativos
Reportar como “Amostra analisada não reagente”.

- Positivos
Reportar como “Amostra analisada reagente”.

Quando realizada a prova quantitativa, reportar o título de positividade. A concentração (UI/mL) aproximada de anticorpos anti-Brucella na amostra do paciente é obtida multiplicando o título obtido por 25.

Exemplo: Se a amostra foi positiva até a diluição 1:32, multiplica-se 25 x 32 = 800.

Reportar como “Amostra analisada reagente até 800 UI/mL”.

Características

Os resultados obtidos de acordo com esse método podem não corresponder aos obtidos por outras técnicas. O resultado obtido pela presente metodologia pode ser positivo antes que os testes padrão de sorologia alcancem títulos que caracterizem a amostra como suspeitas ou positivas.

A reação positiva com a presente metodologia indica a presença de IgG1 na amostra, alta probabilidade de se encontrar a Brucella nas secreções ou tecidos ou ainda que o paciente infectado é um portador em potencial.

Sensibilidade analítica: 25 (±5) UI/mL

Sensibilidade diagnóstica: 100%

Especificidade diagnóstica: 98%

Efeito Prozona: Não se observa efeito prozona com amostras com concentrações inferiores a 1000 UI/mL.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- O diagnóstico clínico não deve ser baseado com a realização de um único resultado de teste, mas deve integrar dados clínicos e do laboratório.
- A contaminação bacteriana de amostras e controles, bem como o congelamento e descongelamento do antígeno, podem gerar resultados falsos positivos.
- Resíduos de detergente nas lâminas de reação podem originar resultados falsos positivos. Evitar a utilização de solventes orgânicos para a lavagem das lâminas de reação.
- A suspensão de antígeno não deve ser usada com prazo de validade vencido, uma vez que prolongar o armazenamento pode alterar a sua sensibilidade.

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- *Materiais necessários*

Controles do kit ou amostras clínicas

- *Controle de qualidade recomendado:*

Especificação	Resultado esperado
Amostras negativas	Não reagente
Controle positivo	Reagente
Controle negativo	Não reagente

- *Periodicidade*

Realizar o controle da qualidade para cada novo lote, e a cada bateria de testes.

- *Análise dos resultados*

Uma vez que a função do controle de qualidade é garantir que o material utilizado esteja fornecendo resultados compatíveis com os esperados, e dentro de um padrão de desempenho, espera-se que o controle positivo apresente aglutinação e que o controle negativo não apresente aglutinação. Dispondo-se de amostras de controle com título conhecido, pode-se aferir o título e com isto a sensibilidade do material, em periodicidade a ser estabelecida pelo próprio laboratório conforme sua rotina.

10. RISCOS RESIDUAIS

Riscos residuais identificados (RDC 830/2023)

Os resultados falsos positivos ou negativos, riscos associados à instabilidade, que poderiam levar a resultados errôneos, danos relacionados ao usuário, podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Pacientes com infecções por outras espécies de *Brucelas* como a *B. canis* podem eventualmente apresentar positividade na presente metodologia, apesar de ser um caso raro.
- O uso de reagente com partículas ressecadas pode simular uma reação falso positiva.
- Não congelar nenhum dos componentes do teste.
- Após abertos, os componentes tornam-se suscetíveis a contaminações químicas ou microbianas que podem inviabilizar a utilização de reagentes.
- Os reagentes contêm azida sódica como preservativo e por esta razão não devem entrar em contato com materiais metálicos (como os presentes em alguns tipos de tubulação) para se evitar a formação de azidas metálicas explosivas, devendo seu descarte ser realizado com água em abundância.
- Não homogeneizar a suspensão vigorosamente;
- Utilizar o microscópio para analisar os resultados;
- Não averiguar a ocorrência do fenômeno da prozona;
- Rotação da lâmina muito rápida pode ocasionar a ruptura das ligações entre os anticorpos da amostra e as partículas de látex causando resultado falso negativo;
- Interpretação equivocada de resultados.
- O tempo excessivo de homogeneização da lâmina fornece resultados falso positivos e tempo insuficiente fornece resultados falso negativos.
- Utilização de material vencido, contaminado ou em condições inadequadas.
- Não aguardar para que os reagentes atinjam a temperatura ambiente no momento do uso.
- A não utilização de controles fornecidos juntamente com o kit pode ocasionar resultados falsos negativos ou positivos.
- A não utilização de lâmina fornecidas juntamente com o kit pode ocasionar resultados falsos negativos ou positivos.

11. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário que:

- o usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
- os materiais estejam armazenados em condições adequadas;

- os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, calibração, manutenção e limpeza.

Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos junto ao site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou outras informações, contatar o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800 041 0027 ou pelo e-mail sac@laborclin.com.br. Qualquer problema que inviabilize uma boa resposta do produto e que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin será resolvido sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bull. Wld. Hlth. Org. 361: 20 (1967)
2. Caces, E., De Lautre, H, S., Tichel, J. y Boulard, P. Comp. Immun. Levieux, D. Ann. Rech. Veter. 5(3), 343-353, 1974.
3. Microbiol. Infect. Dis. 1: 107 (1978).
4. Nicoletti, P.: Javma, 1778-1783, 1967.
5. Morgan, W. et al: The veterinary record, 85, 636-641, 1969.
6. Olascoaga, R.C. Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS.
7. Pilet, C. et al.: Cah. Med. Vet., 41,5-19, 1972.
8. Rose, J.E. y Roepke, M.H. Am. J. Vet. res. 18: 550 (1957).
9. Rusell, A.O., Patton, C.M. y Kaufmann, A.F. J. Clin. Micro. 7: 454 (1978).
10. Tietz, N.W. Clinical guide to laboratory tests, 3rd ed., 1985.
11. Toma, B. et al.: Med. et Mal. Infect., 2, 25-32, 1972.
12. Young, D.S. Effects drugs on clinical laboratory tests, 4th ed., 1995.
13. Young, D.S. Effects of pre-analytical variables on clinical laboratory tests, 2nd ed., 1997.



Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

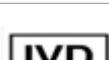
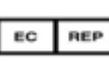
CNPJ 76.619.113/0001-31
 Insc. Estadual 1370012926
 Rua Casimiro de Abreu, 521
 Pinhais/PR CEP 83.321-210
 Telefone 041 3661- 9000

www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:

Maire Wakamori CRF/PR 20176
 Serviço de Assessoria ao Cliente
 SAC 0800 041 0027
sac@laborclin.com.br

ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

	Código do produto		Número de lote
	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)		Produto para saúde para diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Européia
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento		Esterilização utilizando óxido de etileno
	Esterilização utilizando irradiação		Esterilizado utilizando vapor ou calor seco.
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso.
	Controle		Controle Negativo
	Controle Positivo		Manter seco
	Manter afastado da luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho
	Não utilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2022)