



BRUCELOSE

ROSA BENGALA

Princípio do Teste:

A Brucelose é um teste de aglutinação bacteriana para a detecção qualitativa e semi-quantitativa de anticorpos do anti-Brucella no soro humano e animal. A suspensão bacteriana aglutina quando misturada com as amostras que contêm os anticorpos específicos de IgG ou de IgM na amostra paciente.

Características Funcionais:

Metodologia:	Aglutinação Bacteriana
Temperatura da análise:	18 – 25°C
Amostra:	soro não diluído
Sensibilidade analítica	25 (± 5) UI/mL,
Especificidade Diagnóstica	100%
Efeito Prozona	>1000 UI/mL
Interpretação	Visual

Reagentes:

-Reagente Brucelose - Frasco com 3 mL

Solução bacteriana de Brucella abortus, tamponada a pH 3,6, colorida com Rosa Bengala T⁺ Xi, C, R: 24/25-34-35

-Controle Positivo - Frasco com 0,5 mL.

Matriz soro animal; Anticorpos Br. Abortus > 100UI/ml; Azida Sódica- 0.95 g/l

- Placa para leitura

Estabilidade e Armazenagem:

Condições:	Fechar imediatamente após o uso Não congelar
Armazenamento:	à 2 –8 °C
Estabilidade:	até a data de validade

Amostra:

Soro: 7 dias de 2- 8°C

3 meses à (- 20°C)

- Amostras contendo fibrina devem ser centrifugadas.

- Descartar amostras contaminadas.

- Não usar amostras altamente hemolizadas ou amostras lipêmicas.

- Não necessita de inativação

Interferências:

Não interferência até: Hemoglobina 10 g/L; Lipemia 10 g/L; Fator Reumatóide 300 UI/mL; Bilirrubina 2,5 mg/dL

Controle de Qualidade:

Os controles positivos e negativos (usar solução fisiológica) são recomendados para monitorar o desempenho do procedimento, assim como um teste padrão comparativo para uma interpretação melhor do resultado.

Limitação do Procedimento:

- O diagnóstico clínico não deve ser feito em preenchimento de um único resultado de teste, mas deve integrar dados clínicos e do laboratório

- Em áreas que tenha sido praticado vacinação maciça com a cepa 19, o ensaio apresente uma proporção de falso positivos que devem ser confirmado com ensaios posteriores

- Pode ocorrer reações falsa negativas no início de infecção primárias e no final da doença. No gado bovino durante o período de incubação, a negatividade não exclui a possibilidade de abortos posteriores.

Precauções:

1. Fenol: (T) R24/25 tóxico: Tóxico em contato com pele e por ingestão R34: Causa queimaduras. S28.2: Após o contato com a pele, lave imediatamente com água em abundância. S45: Em caso de acidente, procure o conselho médico imediatamente.

2. Os reagentes contêm azida sódica (0.95 g/l) como preservativo. Evite o contato com pele e as membranas mucosas.

3. Tome as precauções necessárias para o uso de reagentes no laboratório.

Procedimento para o Método Qualitativo:

Nota: Deixar todos os reagentes e as amostras atingirem a temperatura ambiente e agitar o antígeno de Brucella vigorosamente e antes do uso

- 1 - Colocar 50µL do antígeno de Brucella em divisões separadas da placa, para as amostras a serem testadas, bem como para os controles positivo e negativo.

- 2 - Adicionar 50µL de cada amostra não diluída e uma gota de cada controle não diluído.

- 3 - Homogeneizar, estendendo o líquido igualmente sobre cada divisão da placa.

- 4 - Agitar a placa com suave movimento de rotação manualmente ou em agitador automático a 100 rpm durante 4 minutos, e observar a aglutinação sob luz incidente.

- 5 - Marcar os resultados.

Procedimento para o Método Semi-Quantitativo:

- 1 - Diluir o soro em tubos, conforme esquema abaixo. Diluições adicionais podem ser preparadas caso o resultado seja positivo até a diluição 1/256.

- 2- Separar 9 tubos e adicionar 0,2mL de solução salina 0,85% em cada tubo. Transferir para o 1º tubo 0,2mL da amostra. Misturar, transferir 0,2mL do 1º tubo para o 2º tubo, misturar e transferir 0,2mL do 2º para o 3º tubo e assim sucessivamente até o 6º tubo desprezando 0,2mL restantes.

TUBOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Solução Salina 0,85% mL	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Soro mL	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-
Misturar e Transferir mL	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Diluição	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512

- 3 - Pipetar 50 µl de cada tubo e adicionar nas divisões da placa.

- 4 - Adicionar 50 µl do reagente sobre cada uma das divisões.

- 5 - Homogeneizar, estendendo o líquido igualmente sobre cada divisão da placa.

- 6 - Agitar a placa com suave movimento de rotação manualmente ou em agitador automático a 100 rpm durante 4 minutos e observar a aglutinação sob luz incidente

- 7 - Marcar os resultados.

Leitura e Interpretação:

Examinar macroscopicamente a presença ou ausência de aglutinação visível imediatamente após remover a lâmina do rotator.

A presença de aglutinação indica uma concentração do anticorpo anti-Brucella igual ou melhor que 25 UI/mL.

O título no método semi-quantitativo, é definido assim que a maior diluição mostrar um resultado positivo.

Cálculo:

A concentração aproximada do anticorpo na amostra do paciente é calculada como segue:

$25 \times \text{Título da diluição} = \text{UI/mL}$

Valores Esperados:

Até 25 UI/mL.

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

Implicações Diagnósticas

O diagnóstico da Brucella pode ser avaliado pela isolamento do microorganismo no sangue ou fezes, ou pela titulação de anticorpos específicos no soro do paciente. O reagente, por causa de sua fórmula em um buffer ácido, é reativo com os anticorpos de IgG e de IgM e muito útil para o diagnóstico dos indivíduos crônicos que apresentam um nível elevado do anticorpo de IgG.

Referências:

1. Young E J. Clinical Disease 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.

Teste de aglutinação para determinação qualitativa e semi-quantitativa de anticorpos anti-brucella .

BRUCLOSE

Rosa Bengala



ed.:Set/17

Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.
Rua Júlio de Castilhos nº 500 – Belenzinho
São Paulo – SP – CEP 03059-001
Indústria Brasileira
@ Marca Registrada
CNPJ: 50.657.402/0001-31
Resp. Técnica: Dra. Nadjara Novaes Longen
CRF-SP.: 37.451
Nº Reg. MS:10159820022
Departamento de Assistência ao Cliente
Telefone: (0**11) 2291-2811
e-mail: sac@ebram.com
www.ebram.com