

ROSE BENGAL

Für die *in vitro* diagnostik

RB001: Schnelltest zum Nachweis von agglutinierende Anti-Brucella-Antikörpern in Humanserum. 125 Bestimmungen.

EINLEITUNG:

Brucellose ist eine weltweit verbreitete, durch verschiedene Spezies der Gattung *Brucella* verursachte Zoonose, die in vielen Ländern ein Problem öffentlicher Gesundheit darstellt.

Die Humanbrucellose weist sehr vielfältige klinische Manifestationen auf, was ihre Diagnose erschwert.

Direkte Agglutination, Bengalrosa-Test, Coombs-Test und ELISA sind die am weitesten verbreiteten Techniken zur serologischen Diagnose von Brucellose.

Der Rose-Bengal-Test wird bei der Diagnose der Brucellose wegen seiner Schnelligkeit, Einfachheit und Sensitivität als Screeningtest verwendet, ist jedoch mit anderen bakteriologischen und serologischen Tests zu bestätigen (**BRUCELLACAPT**™ und ELISA).

PRINZIP DES TESTS:

Kartenmethode, die unter Einsatz passivierter, mit Rose Bengal eingefärbter und in einem sauren Puffer resuspendierter *Brucella*-Zellen agglutinierende Antikörper nachweist. Der saure pH-Wert der Suspension verhindert die unspezifische Agglutination der Bakterien und trägt so zur Testspezifität bei. An der Reaktion sind agglutinierende Antikörper der Klassen IgG, IgM und IgA beteiligt.

EIGENSCHAFTEN DES KITS:

Alle Reagenzien werden gebrauchsfertig geliefert.

Die Bakteriensuspension ist zur Vereinfachung der Ergebnisinterpretation eingefärbt.

Eine Probenverdünnung ist nicht notwendig.

Das Antigen wird zur leichteren Dosierung in einer Tropfflasche geliefert. Die Ergebnisse werden sofort angezeigt.

BESTANDTEILE DES KITS:

- 1 VIRCELL ROSE BENGAL SUSPENSION: 5 ml einer sauren Suspension mit passivierten und mit Rose Bengal eingefärbten *Brucella* mit Phenol.
- 2 VIRCELL ROSE BENGAL POSITIVE CONTROL: 1 ml positives Testserum mit Phenol.
- 3 VIRCELL ROSE BENGAL NEGATIVE CONTROL: 1 ml negatives Testserum mit Phenol.

Bei 2-8°C lagern, Verfallsdatum überprüfen

Im Set enthaltenes erforderliches Material:

Reaktionskarten.

Mischstäbe.

Zusätzlich benötigte Materialien, die nicht im Kit enthalten sind:

Präzisions-Mikropipette 40 µl.

Drehrührwerk (100 U.p.m.) optional.

LAGERBEDINGUNGEN:

Bei 2-8°C lagern. Reagenzien nicht nach Ablauf des Verfallsdatums einsetzen. Die Kits sind bis zum Ende des im Verfallsdatum angegebenen Monats stabil, sofern die Bestandteile geschlossen gehalten und bei 2-8°C gelagert werden.

LAGERUNG DER ANGEBROCHENEN REAGENZIEN:

Reagenz	Stabilität und Lagerung
Alle Bestandteile	Siehe Verfallsdatum auf der Packung (bei 2 - 8°C)

STABILITÄT UND HANDHABUNG DER REAGENZIEN:

Die Handhabung aller Reagenzien sollte unter aseptischen Bedingung erfolgen, um mikrobielle Kontaminationen zu vermeiden.

Nur die zur Testdurchführung erforderliche Bakteriensuspensionsmenge benutzen. Restliche Suspension nicht in die Ampulle zurückschütten.

VIRCELL, S.L. ist nicht verantwortlich für Fehler, die durch eine falsche Handhabung der Reagenzien dieses Kits verursacht wurden.

EMPFEHLUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN:

1. Einsatz ausschließlich für *in-vitro* diagnostische Zwecke. Nur für den professionellen Einsatz.
2. Nur Kit-Bestandteile einsetzen. Reagenzien aus Kits unterschiedlicher Chargenbezeichnung und von anderen Herstellern sind nicht austauschbar.
3. Für jeden Testschritt neue Pipettenspitzen verwenden. Nur sauberes, vorzugsweise Einweg-Material verwenden.
4. Keine beschädigten Kits verwenden.
5. Nicht mit dem Mund pipettieren.
6. Die Kontrollen enthalten zudem Substanzen humanen Ursprungs. Obwohl die Humanserum-Kontrollen dieses Kits auf Hepatitis B Oberflächen Antigen (HBsAg), Hepatitis C Antikörper und Human Immunodeficiency Virus Antikörper getestet und für negativ befunden wurden, sollten Kontrollseren und Patientenproben als potentiell infektiös angesehen und entsprechend behandelt werden. Die Bakteriensuspension enthält zwar passiviertes Antigen von *Brucella abortus*, ist jedoch mit Vorsicht zu handhaben. Trotzdem sollten auch sie als potentiell infektiös angesehen und mit der nötigen Vorsicht behandelt werden. Gegenwärtig kann keine Methode eine vollständige Abwesenheit von infektiösen Bestandteilen versichern. Alle Materialien sollten wie potentiell infektiöse Stoffe entsorgt werden. Beachten Sie die örtlichen Bestimmungen für die Entsorgung von klinischem Material.
7. Aufgrund des Phenolanteils (Konzentration < 1%) Kontakt der Bakteriensuspension mit Haut, Augen und Schleimhäuten vermeiden.
8. Das Kit enthält Glaselemente, die bei Bruch zu Körperverletzungen führen können. Vorsichtig damit umgehen.
9. Nur die auf diesem Prospekt beschriebenen Protokolle benutzen. Entspricht das beim Test eingesetzte Inkubationsintervall nicht den Angaben, können die Ergebnisse fehlerhaft sein.
10. Reagenzien nicht länger als unbedingt erforderlich Raumtemperatur aussetzen.
11. Die Bakteriensuspension 1 muss unmittelbar vor ihrem Gebrauch geschüttelt werden.

PROBENGEWINNUNG UND HANDHABUNG:

Blut sollte unter aseptischen Bedingungen durch Venenpunktion und von qualifiziertem Personal entnommen werden. Der Einsatz einer sterilen oder aseptischen Technik gewährleistet die Unversehrtheit der Probe. Serumproben sollten nach der Entnahme gekühlt aufbewahrt werden (bei 2-8°C); kann der Test nicht innerhalb von 7 Tagen nach Entnahme durchgeführt werden, so sind die Proben tief zu frieren (-20°C). Proben sollten nicht wiederholt gefroren und aufgetaut werden. Lipämische, hämolytische oder kontaminierte Seren nicht testen. Seren, die grobe Partikel enthalten oder trüb sind, sollten vor dem Einsatz zentrifugiert werden.

Sera nicht vor der Versuchsdurchführung passivieren.

Keine Plasmaproben.

TESTDURCHFÜHRUNG:

1. Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur bringen.
2. Antigensuspension 1 durch leichtes Schütteln homogenisieren.
3. 40 µl der zu analysierenden Probe in einen der Einzelkreise auf der Karte geben. 40 µl der einzelnen Kontrollen 2 und 3 in zwei andere Kreise auf der Karte geben.
4. In jedem Kreis nahe der zu analysierenden Probe einen Tropfen der mit Rose Bengal eingefärbten Antigensuspension 1 hinzufügen.
5. Die beiden Tropfen mit Hilfe eines Mischstabs vermischen, so dass die ganze Kreisfläche bedeckt ist.
6. Karte vier Minuten lang mit der Hand oder mit Hilfe eines Drehrührwerks (100 U.p.m.) schütteln. Nach Ablauf dieser Zeit auftretende oder nicht auftretende Agglutination feststellen.

INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE:

Jede Charge wird einer internen Qualitätskontrolle unterzogen, bevor einer Freigabe unter Spezifikationen zugestimmt wird, die strenger als die für den Anwender sind. Die endgültigen Ergebnisse der Qualitätskontrolle jedes einzelnen Artikels sind erhältlich. Dem Kontrollmaterial liegen als Referenz nachweislich intern geprüfte Serumplatten zugrunde.

TEST-VALIDIERUNG FÜR ANWENDER:

In jedem Testdurchgang muss eine positive und negative Kontrolle eingesetzt werden. Das gestattet die Validierung des Tests und des Kits.

Die positive Kontrolle muss eine deutliche Agglutination zeigen.

Die negative Kontrolle darf keine Agglutination aufweisen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE:

Das Auftreten einer Agglutination impliziert eine positive Reaktion und weist auf die Existenz von Antikörpern gegenüber *Brucella* hin. Das Fehlen einer Agglutination impliziert eine negative Reaktion und weist auf das Fehlen von Antikörpern gegenüber *Brucella* hin.

EINSCHRÄNKUNGEN:

1. Der Kit ist für die Austestung von Humansenen entwickelt worden.
2. Dem Anwender des Tests wird empfohlen, diese Gebrauchsanleitung vor der Testdurchführung sorgfältig zu lesen und die einzelnen Schritte nachzuvollziehen. Die strikte Einhaltung der Gebrauchsanleitung ist notwendig, um verlässliche und reproduzierbare Ergebnisse zu erlangen. Insbesondere das korrekte Pipettieren der Probe und der Reagenzien sowie sorgfältiges Waschen und die Einhaltung der angegebenen Inkubationszeiten sind für die Genauigkeit der Ergebnisse essenziell.
3. Die Ergebnisse der Proben sollten immer in Verbindung mit den klinischen Daten und anderen diagnostischen Ergebnissen interpretiert werden. Eine definitive Diagnose sollte durch Isolierungstechniken erfolgen.
4. Dieser Test zeigt nicht den Infektionsort. Er kann eine Erregerisolierung nicht ersetzen.
5. Wenn kein signifikantes Ansteigen des Antikörper-Niveaus vorhanden ist, bedeutet dies nicht, dass eine Infektion ausgeschlossen werden kann.
6. Falsche positive Ergebnisse sind festzustellen bei: (i) gesunden Personen, die in endemischen Gebieten wohnen und in Kontakt zu *Brucella* waren; (ii) Personen, die die Krankheit überstanden und zum Zeitpunkt der Testdurchführung frei von Krankheitsanzeichen und –symptomen sind und (iii) Personen, die Infektionen durch Bakterien erlitten haben, die mit *Brucella* gemeinsame Epitope auf der Ebene des Lipopolysaccharids teilen.
7. Bei Patienten mit lokalisierter Brucellose können aufgrund fehlender agglutinierender Antikörper falsch-negative Ergebnisse zu finden sein. In diesen Fällen ist eine serologische Technik wie **BRUCELLACAPT** einzusetzen, die den Nachweis aller (agglutinierenden und nicht-agglutinierenden) Antikörper gestattet.
8. Die angegebenen Testergebnisse entsprechen komparativen Studien mit kommerziellen prädikativen Produkten in einer definierten Bevölkerungsstichprobe. Es können kleine Unterschiede zwischen verschiedenen Bevölkerungen oder verschiedenen prädikativen Produkten bestehen.

LEISTUNGSDATEN:**• SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT:**

147 Serumproben mit ROSE BENGAL wurden gegenüber einem Rose-Bengal-Kit einer anderen Handelsfirma getestet, wobei 99% Sensitivität und 97.6% Spezifität erzielt wurden.

• INTRA-ASSAY GENAUIGKEIT:

Es wurden 3 (2 positive und 1 negatives) Sera im Titrierversuch getestet und unter gleichen Arbeitsbedingungen einzeln in Fünfergruppen in einem einzigen von der gleichen Person durchgeführten Versuch pipettiert.

In keinem Fall waren Schwankungen über 1 Titer festzustellen.

• INTER-ASSAY GENAUIGKEIT:

Es wurden 3 (2 positive und 1 negatives) Sera im Titrierversuch getestet und einzeln unter 5 verschiedenen Bedingungen pipettiert, bei denen sich die Person oder der Durchführungstag änderten.

In keinem Fall waren Schwankungen über 1 Titer festzustellen.

• KREUZREAKTIVITÄT UND INTERFERENZEN:

16 Proben, die positiv auf *Salmonella typhi* O, *Salmonella typhi* H, cytomegalovirus, Toxoplasma, Epstein-Barr virus reagieren, wurden auf getestet.

3 Proben, die positiv auf den antinukleare Antikörper reagieren, wurden für Versuche getestet.

Die Testergebnisse zeigten die spezifische Reaktion des Kits ohne Kreuzreaktion oder Interferenzen mit den betreffenden Proben.

BENUTZTE ETIKETTEN-SYMBOLE:

	Für die <i>In vitro</i> Diagnostik
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
	Bei x-γ°C lagern
	Inhalt ausreichend für n Bestimmungen
	Chargen-Nummer
	Bestell-Nummer
	Gebrauchsanleitung beachten

LITERATUR:

1. Altwegg, M. and E. Bohl. 1985. Evaluation of a rapid, reliable, and inexpensive screening test for the serological diagnosis of human brucellosis. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A] 260:65-70.
2. Baum, M., O. Zamir, R. Bergman-Rios, E. Katz, Z. Beider, A. Cohen, and M. Banai. 1995. Comparative evaluation of microagglutination test and serum agglutination test as supplementary diagnostic methods for brucellosis. J Clin Microbiol 33:2166-70.
3. Blasco, J. M., B. Garin-Bastuji, C. M. Marin, G. Gerbier, J. Fanlo, M. P. Jimenez de Bagues, and C. Cau. 1994. Efficacy of different Rose Bengal and complement fixation antigens for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. Vet Rec 134:415-20.
4. Cernyeva, M. I., E. N. Knjazeva, and L. S. Egorova. 1977. Study of the plate agglutination test with rose bengal antigen for the diagnosis of human brucellosis. Bull World Health Organ 55:669-74.
5. Diaz, R., E. Maravi-Poma, G. Delgado, and A. Rivero. 1978. Rose Bengal plate agglutination and counterimmunoelectrophoresis tests on spinal fluid in the diagnosis of *Brucella meningitis*. J Clin Microbiol 7:236-7.
6. Gomez, M. C., C. Rosa, P. Geijo, and M. A. Escibano. 1999. [Comparative study of the Brucellacapt test versus the Coombs test for Brucella]. Enferm Infecc Microbiol Clin 17:283-5.
7. Gonzalez-Gay, M. A., C. Garcia-Porrua, D. Ibanez, and M. J. Garcia-Pais. 1999. Osteoarticular complications of brucellosis in an Atlantic area of Spain. J Rheumatol 26:141-5.
8. Lucero, N. E. and J. E. Bolpe. 1998. Buffered plate antigen test as a screening test for diagnosis of human brucellosis. J Clin Microbiol 36:1425-7.
9. Oomen, L. J. and S. Waghela. 1974. The rose bengal plate test in human brucellosis. Trop Geogr Med 26:300-2.
10. Potasman, I., L. Even, M. Banai, E. Cohen, D. Angel, and M. Jaffe. 1991. Brucellosis: an unusual diagnosis for a seronegative patient with abscesses, osteomyelitis, and ulcerative colitis. Rev Infect Dis 13:1039-42.
11. Sanchez-Sousa, A., C. Torres, M. G. Campello, C. Garcia, F. Parras, E. Cercenado, and F. Baquero. 1990. Serological diagnosis of neurobrucellosis. J Clin Pathol 43:79-81.

Bei Fragen wenden Sie sich bitte an:

customerservice@vircell.com

ÜBERPRÜFT: 2018/06