

Brucella

Destičkový aglutinační test pro kvalitativní a semi-quantitativní stanovení anti-*Brucella* protilátek v lidském séru



Reagencie

495030/9 100 testů 1 x 5 mL *Brucella abortus**
 413110 100 testů 1 x 5 mL *Brucella melitensis*
 * detekuje také protilátky *B. suis* a *B.* Všechny produkty obsahují příbalový leták *melitensis*

Dále nabízené:

495030/13 1x 1 mL polyvalentní pozitivní kontrola
 495030/14 1x 1 mL polyvalentní negativní kontrola
 603321 8x 1 opakovaně použitelné destičky se 6 bílými testovacími
 políčky na destičku
 ST9003 1x 25 oboustranné míchací tyčinky

Pouze pro profesionální in vitro diagnostické použití.

OBECNÉ INFORMACE

Metoda Latexová aglutinace na destičce
Životnost 30 měsíců od data výroby
Skladování 2-8 °C
Vzorek Čerstvé lidské sérum
Výsledky Po 1 minutě při pokojové teplotě

SLOŽENÍ REAGENCIE

Reagencie *Brucella*:

Suspenze kmene *B. abortus* S99 nebo *B. melitensis* 2500; tetrazoliová sůl (modrá), pH 8.2
 Glycinový pufr 100 mmol/L
 Azid sodný 0.95 g/L

DODATEČNÉ POTŘEBNÝ MATERIÁL

- Mechanický rotátor nastavitelný na 80-100 rpm
- Ohřev na 37 °C
- Vortexový mixér
- Pipety s jednorázovými špičkami pro 50 µL
- Obecné laboratorní vybavení

PŘÍPRAVA REAGENCIE

Reagencie jsou kapalné a musí být před použitím důkladně promíchány.

STABILITA REAGENCE A SKLADOVÁNÍ

Podmínky: Po použití okamžitě uzavřete. Nezamrazujte!
 Zmražené reagencie mohou změnit funkčnost testu.
Skladování: Při 2-8 °C
Stabilita Do data expirace, když se skladuje pevně uzavřené a během používání se zabráňuje kontaminaci.

Vialky držte pořád ve svislé poloze. Pokud dojde ke změně pozice, zamíchejte pro rozpuštění usazenin, které se mohly vytvořit.
 Znehodnocení reagencie: přítomnost částic po vortexování.

STABILITA A SKLADOVÁNÍ VZORKU

Testy DIALAB *Brucella* mohou být vykonány s použitím vzorků lidského séra.
Stabilita: Při 2-8 °C 8 dnů
 Při -20 °C 3 měsíce

Vzorky obsahující fibrin musí být před použitím centrifugovány. Kontaminované vzorky zlikvidujte. Nepoužívejte vysoce hemolytické a lipemické vzorky.

POSTUP TESTU

Reagencie a vzorky přiveďte na pokojovou teplotu (18-25 °C). Při nízkých teplotách může dojít ke snížení citlivosti testu.

Metoda aglutinace na destičce (kvalitativní metoda)

Umístěte vzorky a kontroly do oddělených kroužků na jednorázové destičce.

Vzorky	Vzorek	Kontroly
	50 µl	-
Kontroly	-	1 kapka
Antigenní reagencii před použitím důkladně zamíchejte nebo rozmíchejte pomocí vortexu a přidejte kapku vedle vzorku, který se má testovat.		
Reagencie	1 kapka	1 kapka
Obě kapky smíchejte jednorázovou míchací tyčinkou a kapalinu roztáhněte po celé ploše testovacího políčka. Pro každý vzorek použijte jinou tyčinku.		
Destičku umístěte na mechanický rotátor při 80-100 rpm na 1 minutu. Když se test odčítává po > 1 minutě, může dojít falešně pozitivním výsledkům.		

Metoda aglutinace na destičce (titrace)

Pomocí mikropipety umístěte následující objemy neředěného lidského séra do oddělených kroužků na jednorázové destičce.

Vzorek	Vzorky				
	80 µl	40 µl	20 µl	10 µl	5 µl
Antigenní reagencii před použitím důkladně zamíchejte nebo rozmíchejte pomocí vortexu a přidejte kapku vedle vzorku, který se má testovat					
Reagencie	1 kapka	1 kapka	1 kapka	1 kapka	1 kapka
Obě kapky smíchejte jednorázovou míchací tyčinkou a kapalinu roztáhněte po celé ploše testovacího políčka. Pro každý vzorek použijte jinou tyčinku.					
Destičku umístěte na mechanický rotátor při 80-100 rpm na 1 minutu. Když se test odčítává po > 1 minutě, může dojít falešně pozitivním výsledkům					

Metoda aglutinace ve zkumavkách

1. Pro každý vzorek připravte řadu zkumavek následovně:

	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	...
Vzorek (mL)	0.1	-	-	-	-	-	...
NaCl 9 g/L (mL)	0.9	1	1	1	1	1	...
Přenešte	1 mL →	1 mL →	1 mL →	1 mL →	1 mL →	1 mL →	1 mL zlikvidujte

- Připravte 2 zkumavky pro pozitivní/negativní kontrolu: 0.1 mL kontroly + 0.9 mL NaCl 9 g/L.
- Do každé zkumavky přidejte 1 kapku antigenní reagencie (50 µl)
- Důkladně promíchejte a inkubujte při 37 °C 24 hodin.

MĚŘENÍ A INTERPRETACE

Metoda aglutinace na destičce: Makroskopicky zhodnoťte přítomnost nebo nepřítomnost viditelné aglutinace během 1 minuty od složení destičky z rotátoru porovnáním výsledků testu se sérovými kontrolami. Reakce získané **titrační metodou na destičce** odpovídají přibližně těm, ke kterým došlo ve zkumavkách s ředěními séra 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 a 1/320. pokud došlo k reakci, doporučuje se jí potvrdit a zkumavkovým testem určit titer.

Metoda aglutinace ve zkumavkách: Makroskopicky zhodnoťte vzor aglutinace a porovnejte výsledky s výsledky všech kontrolních zkumavek. **Pozitivní kontroly** by měly dávat částečnou nebo celkovou aglutinaci, **negativní kontroly** by neměly vykazovat viditelné shluky. Částečná nebo celková aglutinace s variabilním stupněm vyčření supernatantu se považuje za pozitivní. Titr séra je definován jako nejvyšší ředění vykazující pozitivní výsledek.

REFERENČNÍ ROZSAH

Titre ≥ 1/80 udávají infekci

Hladina „normálních“ aglutininů pro tyto organismy se liší v různých krajinách a v různých komunitách. Doporučuje se, aby si každá laboratoř zavedla svůj vlastní referenční rozsah.

PRINCIP TESTU

Brucella testy jsou aglutinační testy pro kvalitativní a semi-quantitativní stanovení anti-*Brucella* protilátek v lidském séru. Reagencie, standardizované suspenze mrtvých a obarvených bakterií, aglutinují po smíchání se vzorky obsahujícími specifické lidské IgM protilátky.

DIAGNOSTICKÉ DŮSLEDKY

Brucelóza je diagnostikována na základě serologických metod a izolace *Brucella* z krve nebo kostní dřeně. Ačkoli je Wrightův aglutinační test běžně uznáván jako referenční technika, poskytuje destičkový aglutinační test *Brucella* jednoduchou a dostupnou alternativu pro detekci *Brucella* IgM protilátek^{1,2}.

CHARAKTERISTIKY ČINNOSTI

Analytická citlivost: titer 1/64

Prozozový efekt: titer > 1/128

Diagnostická specifita: 100 %

Diagnostická citlivost: 100 %

INTERFERUJÍCÍ LÁTKY

Žádná interference do:

Hemoglobin	10 g/L	Bilirubin	20 mg/dL
Lipemie	10 g/L	Revmatoidní faktory	300 IU/mL

I jiné látky mohou interferovat³.

KALIBRACE

Citlivost testu *Brucella abortus* je kalibrována proti 2. mezinárodnímu preparátu anti-*Brucella abortus* od NIBS (UK)(WHO). Vnitřní kontrola anti *B. melitensis* se používá pro standardizaci reagencie *B. melitensis*.

KONTROLA KVALITY

Pozitivní a negativní kontroly se mají používat v každém běhu pro monitorování činnosti postupu a jako porovnávací vzor pro interpretaci výsledků.

OMEZENÍ POSTUPU

- Pokyny pro postup testu a odečtení a vyhodnocení výsledků je třeba důsledně dodržovat. Nedodržení může mít za následek nepřesné výsledky.
- K falešně negativním výsledkům může dojít ve skorém stádiu nemoci, při imunitní neodpovědi, prozozovém efektu a při antibiotické léčbě.
- Serologické křížové reakce byly pozorovány v případech infekce nebo vakcinace některými kmeny *Vibrio cholerae*, Pasteurely, *Proteus OX19* a *Y. enterocolitica* (serotyp 9).

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Pouze pro profesionální in vitro diagnostické použití. Nepoužívejte po datu expirace.
- Při testování na protilátky proti *Brucella* se doporučuje snížit objem vzorku na 20 µl aby se zamezilo prozozovému efektu.
- V některých geografických oblastech s vysokou prevalencí febrilních protilátek se doporučuje před vykonáním testu zředit vzorky 1/4 v NaCl 9 g/L.
- Jeden pozitivní výsledek má menší význam jako prokázání stoupajícího nebo klesajícího titru protilátek jako důkazu infekce. Klinická diagnóza by neměla být založena na výsledcích jednoho testu, ale měla by spojitvat jak klinická tak i laboratorní data.
- Se všemi vzorky zacházejte jako s potencionálně infekčními. Během všech postupů dodržujte zavedená opatření proti mikrobiologickým hrozbám a dodržujte standardní postupy správné likvidace vzorků.

LIKVIDACE ODPADU

Viz prosím místní právní požadavky.

LITERATURA

- Mandell et al. Principles and Practice of Infectious Diseases. 8th Ed. Elsevier Saunders, 2015
- Joint FAO/WHO expert committee on brucellosis; WHO Tech Rep Ser. 1986; 740: 1-132
- Edward J Young. Clinical Infectious Disease 1995; 21: 283-290.
- David A et al. Current Opinion in Infectious Disease 1993/94
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4th ed. AACC Press, 1995

