

COD 33001 Multiscreening 100 x 6 tests	COD 33080 Salmonella 100 x 8 tests
CONSERVAR A 2-8°C	
Reagentes para a determinação de anticorpos frente aos antígenos febris Só para uso <i>in vitro</i> em laboratório clínico	



FUNDAMENTO DO MÉTODO

Os antígenos febris são suspensões normalizadas de bactérias tingidas que são utilizadas para identificar e quantificar anticorpos específicos que se desenvolvem durante algumas infecções febris tais como a brucelose, salmonelose e certas rickettsioses. O antígeno na suspensão aglutina na presença do correspondente anticorpo homólogo nas amostras ensaiadas^{1,4}.

CONTEÚDO

Código	Componente	Individual	Kit 33001	Kit 33080
33309	<i>Brucella abortus</i>	1 x 5 mL	-	-
33315	<i>Brucella abortus</i> /Rosa Bengala	1 x 5 mL	1 x 5 mL	-
33307	<i>Salmonella typhi</i> H (H: d)	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL
33308	<i>Salmonella typhi</i> OU (OU: 9,12)	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL
33301	<i>Salmonella Paratyphi</i> AH (H:a)	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL
33302	<i>Salmonella Paratyphi</i> AO (OU:1,2,12)	1 x 5 mL	-	1 x 5 mL
33303	<i>Salmonella Paratyphi</i> BH (H:b)	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL
33304	<i>Salmonella Paratyphi</i> BO (OU:1,4,5,12)	1 x 5 mL	-	1 x 5 mL
33305	<i>Salmonella Paratyphi</i> CH (H:c)	1 x 5 mL	-	1 x 5 mL
33306	<i>Salmonella Paratyphi</i> CO (OU:6,7)	1 x 5 mL	-	1 x 5 mL
33311	<i>Proteus OX19</i>	1 x 5 mL	1 x 5 mL	-
33312	<i>Proteus OX2</i>	1 x 5 mL	-	-
33310	<i>Proteus OXK</i>	1 x 5 mL	-	-
33510	C+S: Controlo Positivo <i>Salmonella</i>	1 x 1 mL	1 x 1 mL	-
33509	C+B: Controlo Positivo <i>Brucella</i>	1 x 1 mL	1 x 1 mL	-
33502	C+P: Controlo Positivo <i>Proteus</i>	1 x 1 mL	1 x 1 mL	-
33503	C-: Controlo Negativo	1 x 1 mL	1 x 1 mL	-

COMPOSIÇÃO

Antígenos febris: Suspensão de bactérias inactivadas e tingidas (somáticas azul, flagelares vermelho), azida sódica 0,95 g/L.

C - Controlo Negativo: Soro humano negativo, azida sódica 0,95 g/L.

C + Controlo Positivo: Soro contendo o correspondente anticorpo febril, azida sódica 0,95 g/L.

Todos os componentes de origem humana utilizados na preparação do controlo negativo eram negativos para o antígeno HBs e para os anticorpos anti-HCV e anti-HIV. Não obstante, os controlos devem ser tratados com precaução como potencialmente infecciosos.

CONSERVAÇÃO

Conservar a 2-8°C. Os antígenos febris e os Controlos são estáveis até à data de caducidade indicada na etiqueta, sempre que se conservem bem fechados e se evite a contaminação durante o seu uso.

Indicações de deterioração (Nota 1):

- Antígenos febris: presença de aglutinação no frasco.
- Controlos: presença de material particulado.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Os antígenos febris e os controlos estão prontos para serem utilizados. (Nota 2).

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Agitador mecânico rotatório de velocidade regulável a 100 r.p.m.

AMOSTRAS

Soro recolhido através de procedimentos standard. Estável 7 dias a 2-8°C. Não utilizar amostras hemolisadas ou lipémicas.

PROCEDIMENTO

A. PROVA NA PORTA

1. Deixar temperar os reagentes e as amostras à temperatura ambiente (Nota 3).
2. Depositar 1 gota (50 µL) da amostra a ser ensaiada (Notas 4, 5) e 1 gota de cada Controlo nos círculos separados da porta.
3. Homogeneizar o antígeno com suavidade antes de usá-lo. Acrescentar em cada círculo 1 gota (50 µL) de antígeno próxima à gota da amostra.
4. Misturar com a ajuda de um misturador descartável, procurando estender a mistura por toda a superfície interior do círculo. Empregar misturadores diferentes para cada amostra.
5. Agitar a porta manualmente ou no agitador rotatório a 100 r.p.m. durante 2 minutos (B. Rosa Bengala durante 4 minutos).

B. PROVA NO TUBO

1. Diluir as amostras de soro 1/20, os Controlos 1/10 com NaCl 9 g/L, e preparar de cada um séries de duplas diluições em NaCl 9 g/L.
2. Preparar, para cada antígeno a ser ensaiado, uma fila de tubos que contenha 1 mL de cada diluição do soro e dos Controlos (Positivo e Negativo).
3. Agitar suavemente o frasco de antígeno e acrescentar em cada tubo uma gota (50 µL) da suspensão apropriada. Misturar.
4. Incubar os tubos a 37°C durante 24 h (Nota 6).

LEITURA

A. PROVA NA PORTA

Examinar a presença de aglutinação no minuto seguinte à parada do agitador (Nota 7).

Resultados positivos: Presença de aglutinação. Os soros positivos devem ser quantificados por meio da prova em tubo. No caso da *Brucella Rosa Bengala*, a presença de aglutinação indica um conteúdo de anticorpo ≥ 25 UI/mL.

Resultados negativos: Ausência de aglutinação visível.

B. PROVA NO TUBO

Examinar a presença e tipo de aglutinação.

Resultados positivos: Aglutinação parcial ou completa acompanhada de aclarações variáveis do sobrenadante. A aglutinação somática caracteriza-se por ser fina e granular, de formação lenta e dificilmente desagregável. Ao contrário, a aglutinação flagelar é algodoada, de formação rápida e facilmente desagregável. Define-se o título como a diluição maior que dá resultado positivo.

Resultados negativos: Ausência de aglutinação visível.

CONTROLO DE QUALIDADE

Os Controlos Positivo (C+) e Negativo (C-) devem ser ensaiados conjuntamente com as amostras dos pacientes, com o objectivo de verificar o correcto funcionamento da prova.

O Controlo Positivo (C+) deve provocar a aglutinação dos correspondentes antígenos febris.

O Controlo Negativo (C-) não deve ocasionar aglutinação visível.

Cada laboratório deve estabelecer o seu programa de Controlo de Qualidade interno e procedimentos de correcção no caso dos controlos não cumprirem com as tolerâncias aceitáveis.

CARACTERÍSTICAS DO ENSAIO

- Detecção: 25 UI/mL para a suspensão de *Brucella abortus* / *Rosa de Bengala* utilizando o 2º Padrão Internacional da OMS.
- Efeito de alta concentração (zona): Podem ser obtidos falsos resultados negativos nos soros que contenham um elevado título de anticorpos. Uma diluição destes soros será positiva.
- Resultados falsos: Os resultados obtidos com estes antígenos não indicam diferenças significativas ao serem comparados com antígenos de referência. Os detalhes do estudo comparativo estão disponíveis através de solicitação.
- Interferências: Os factores reumatóides (300 UI/mL) não interferem.

CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

Os resultados positivos são uma ajuda no diagnóstico de algumas doenças febris. Não obstante, a aglutinação não pode ser considerada prova de infecção por um organismo particular já que diferentes microorganismos têm antígenos comuns. As provas de sorodiagnóstico febril deveriam ser utilizadas paralelamente com cultivos adequados para o isolamento e identificação do organismo causal.

Títulos superiores a 1/80 para os antígenos de *Salmonella* ou *Brucella* são geralmente indicativos de infecção recente. Títulos menores são frequentes em indivíduos sadios, especialmente nas áreas com elevada prevalência de infecções febris. O soro de muitos indivíduos sadios contém anticorpos frente aos antígenos de *Proteus*. Um título inferior a 1/160 não deve ser considerado significativo.

Um resultado positivo isolado tem menor significado clínico que a demonstração de um aumento ou diminuição do título entre amostras tomadas do paciente em diferentes dias.

Um resultado negativo não descarta uma infecção, já que a amostra pôde ter sido tomada antes do paciente produzir anticorpos. Também podem ser obtidos falsos negativos nos casos de imunodeficiência, prozona (*Brucelose*) e tratamento com antibióticos.

O diagnóstico clínico não deve ser realizado considerando apenas o resultado de um único ensaio, senão que deve integrar os dados clínicos e de laboratório.

NOTAS

1. A intensidade da cor pode variar lote a lote sem que isso afecte os resultados.
2. O antígeno *Rosa de Bengala* deve ser utilizado exclusivamente para provas na porta.
3. A sensibilidade do ensaio pode ser reduzida se for efectuada em baixas temperaturas.
4. Para evitar a prozona, recomenda-se reduzir a amostra a 20 µL para *Brucella*.
5. Nos países com elevada prevalência de doenças febris, recomenda-se diluir a amostra 1/4 em NaCl 9 g/L antes de realizar o ensaio.
6. Alternativamente, incubar a 48-50°C durante 2 h (flagelares) ou 4 h (somáticos e *Proteus*).
7. Atrasos nas leituras podem ocasionar falsos resultados positivos.

BIBLIOGRAFIA

1. Felix A. Technique and interpretation of the Weil-Felix test in typhus fever. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1944; 37: 321-325
2. Felix A. Standardisation des épreuves d'agglutination servant au diagnostic. *Bull. WHO* 1950; 2: 685-691
3. Alton GG et al. Techniques for the brucellosis laboratory. INRA Paris, 1988.
4. Gualtney J B et al. Microagglutination procedures for febrile agglutination tests. *Appl Microbiol* 1971; 22: 635-640