

HUMATEX FEBRILE ANTIGENS

MÉTODO:

Teste de Aglutinação em lâmina e tubo.

FINALIDADE:

Em casos de infecções causadas por Salmonella (ex.: S. Typhi) e outras bactérias antigênicas o organismo do paciente reage com a produção de anticorpos específicos. O Humatex Febrile Antigenes é usado para detectar anticorpos contra os antígenos febris mais comuns. Detecta infecções como as Salmoneloses (febre tifóide), Bruceloses e certas doenças causadas por Rickettsia.

A solução de antígeno consiste em uma suspensão bacteriana colorida usada como teste de screening (método de aglutinação em lâmina) ou como teste confirmatório (método de aglutinação em tubo – teste Widal). Normalmente testes confirmatórios são realizados em resultados positivos encontrados pelo método de aglutinação em lâmina. O Humatex Febrile Antigenes pode ser usado para detecção qualitativa de anticorpos e também para o monitoramento de processo de infecção para determinar a mudança dos respectivos títulos de anticorpos. Somente para diagnóstico de uso *in vitro*.

FUNDAMENTO:

O Humatex Antígenos Febris possui diferentes soluções antigênicas bacterianas, vitalmente coradas, inativadas com formaldeído ou fenol e padronizadas de acordo com o antígeno em suspensão (AG).

A detecção de doenças relacionadas com Rickettsia baseia-se nas características antigênicas do crescimento bacteriano de Proteus OX (Reação Weil-Felix). A cultura de Rickettsia é muito mais difícil.

O teste é realizado por meio de incubação das soluções antigênicas com as amostras desconhecidas. A aglutinação visível obtida com qualquer uma das suspensões indica a presença do anticorpo correspondente e é um sinal de infecção pela respectiva bactéria.

A comparação da amostra com os controles presentes no kit permitem uma fácil diferenciação pela presença ou não de aglutinação.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 e 8°C.

Reagentes:

St-H Salmonella typhi H:

Suspensão antigênica bacteriana de Salmonella typhi H (d flagelar) inativada e estabilizada, ajustada para encontrar as especificações do teste; Tampão glicina 0,1 mol/L; Formaldeído 5 g/L; Azida sódica 0,95 g/L; pH 8,2 ± 0,2; coloração vermelha.

St-O Salmonella typhi O:

Suspensão antigênica bacteriana de Salmonella typhi O (1, 9,12 somático) inativada e estabilizada, ajustada para encontrar as especificações do teste; Tampão glicina 0,1 mol/L; Formaldeído 5 g/L; Azida sódica 0,95 g/L; pH 8,2 ± 0,2; coloração azul.

Sp-AH Salmonella paratyphi AH:

Suspensão antigênica bacteriana de Salmonella paratyphi AH (a flagelar) inativada e estabilizada, ajustada para encontrar as especificações do teste; Tampão glicina 0,1 mol/L; Formaldeído 5 g/L; Azida sódica 0,95 g/L; pH 8,2 ± 0,2; coloração vermelha.

Sp-BH Salmonella paratyphi BH:

Suspensão antigênica bacteriana de Salmonella paratyphi BH (b flagelar) inativada e estabilizada, ajustada para encontrar as especificações do teste; Tampão glicina 0,1 mol/L; Formaldeído 5 g/L; Azida sódica 0,95 g/L; pH 8,2 ± 0,2; coloração vermelha.

B-Ab Brucella abortus*:

Suspensão antigênica bacteriana de Brucella abortus (somático) inativada e estabilizada, ajustada para encontrar as especificações do teste. Pode ser também utilizado para a detecção de anticorpos contra Brucella melitensis e Brucella suis. Tampão glicina 0,1 mol/L; Fenol 5 g/L; Azida sódica 0,95 g/L; pH 8,2 ± 0,2; coloração azul.

P-OX 19 Proteus OX19:

Suspensão antigênica bacteriana de Proteus OX19 (somático) inativada e estabilizada; ajustada para encontrar as especificações do teste; Tampão glicina 0,1 mol/L; Fenol 5 g/L; Azida sódica 0,95 g/L; pH 8,2 ± 0,2; coloração azul.

PC Controle Positivo

Anti-soro polivalente de cabra, contendo anticorpos contra os antígenos St-H, St-O, Sp-AH, So-AO, Sp-Bh, Sp-BO, Sp-CH, Sp-CO, B-Ab, P-OX19 em quantidade suficiente para produzir uma aglutinação facilmente visível; Azida sódica 0,95 g/L.

NC Controle Negativo:

Antisero de cabra não reativo com os antígenos St-H, St-O, Sp-AH, So-AO, Sp-Bh, Sp-BO, Sp-CH, Sp-CO, B-Ab, P-OX19; Azida sódica 0,95 g/L.

*B-Ab é usada também para detectar anticorpos contra Brucella melitensis e Brucella suis.

1 lâmina com 6 células

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até a data de validade, mesmo depois de aberto, quando armazenado entre 2 e 8°C. Não congelar e evitar contaminação depois de aberto.

TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 7 dias e em uma temperatura de até 37°C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado entre 2 -8°C e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente. As soluções antigênicas contêm azida sódica e formaldeído (St-H, St-O, Sp-AO, Sp-BO, Sp-CO) e os controles contêm azida sódica como conservante. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa;
- Não trocar as tampas conta gotas dos frascos;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

PREPARO DOS REAGENTES:

Os reagentes já estão prontos para uso.

AMOSTRA BIOLÓGICA

- Soro.
- A amostra é estável por até 7 dias a 2 a 8°C.
- Amostras lipêmicas ou hemolisadas não devem ser utilizadas.
- O transporte da amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (2 a 8°C) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Solução de NaCl (9 g/L);
- Tubos de teste (12 x 100 mm);
- Espátulas descartáveis;
- Homogeneizador;
- Banha Maria a 37°C;

MÉTODO DE ANÁLISE

Deixar os reagentes e as amostras atingirem a temperatura ambiente (ver notas). Homogeneizar as soluções antigênicas (AG) gentilmente antes do uso. Para cada anticorpo a ser testado deve-se utilizar a solução antigênica apropriada (St-H, St-O, Sp-AH, Sp-AO, Sp-BH, Sp-BO, Sp-CH, Sp-CO, B-Ab, P-OX 19).

A- Teste qualitativo de aglutinação em lâmina (Teste de screening)

Pipetar em células separadas da lâmina (1 gota = 50 µL)	Célula 1	Célula 2	Célula 3-6
1. PC	1 gota	--	--
NC	--	1 gota	--
Amostra	--	--	1 gota
2. AG próximo a todas as amostras e controles	1 gota	1 gota	1 gota
3. Homogeneizar com espátulas separadas e descartáveis, e espalhar por toda a área da célula.			
4. Inclinare a lâmina para frente e para trás durante 1 minuto para que a mistura se mova devagar dentro da célula, ou colocar a lâmina em um homogeneizador a 100 rpm.			
5. Após 1 minuto ler os resultados sob luz artificial forte.			

B- Teste Semiquantitativo de aglutinação em lâmina (titulação)

Preparar diluições do soro com salina NaCl (9 g/L) de acordo com o esquema a seguir:	1	2	3	4	5	6
Tubo	1	2	3	4	5	6
Diluição	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Salina	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Soro	100 µL					
Misturar e transferir	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Descartar os últimos 100 µL. Continuar o teste como descrito em A utilizando cada diluição como amostra						

C- Teste Semiquantitativo de aglutinação em tubo (titulação)

1. Preparar cada antígeno que vai ser testado em 6 tubos em série e 2 tubos para os controles.						
2.a Preparar diluições do soro com salina NaCl (9 g/L) de acordo com o esquema a seguir:						
Tubo	1	2	3	4	5	6
Diluição	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640
Salina	1,9 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Soro	100 µL					
Misturar e transferir	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
2.b Preparar diluições 1/10 dos PC e NC diluindo 100 mL do controle (PC ou NC) com 0,9 mL de NaCl (9 g/L).						
3. Adicionar nas amostras diluídas (1 - 6) e nos controles diluídos AG 1 gota em cada.						
4. Fechar os tubos e homogeneizar						
5. Incubar por 24 horas a 37°C (Ver nota 6)						

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

A. Teste Qualitativo de aglutinação em lâmina (Teste de Screening)

Examinar macroscopicamente para verificar a presença / ausência de aglutinação distinta no prazo de 1 minuto após o início da movimentação da lâmina. Soro positivo (agrupamento visível) deve ser titulado por meio da aglutinação em tubo.

REV.09/24

InVitro

B. Teste Semiquantitativo de aglutinação em lâmina - titulação

Examinar macroscopicamente para verificar a presença / ausência de aglutinação distinta no prazo de 1 minuto após o início da movimentação da lâmina (ver nota 4). Soro positivo apresenta agrupamento visível.

Os resultados serão lidos com a maior diluição que apresentar aglutinação (titulação).

As reações obtidas são equivalentes às diluições do teste em tubo 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640 (ver C).

C. Teste Semiquantitativo de aglutinação em tubo - titulação

Examinar macroscopicamente o padrão de aglutinação e compará-lo com os resultados dos tubos de controles (ver Nota 4).

A reação somática (O) é caracterizada por uma aglutinação grossa e compacta que tende a dispersar-se dificilmente. A reação flagelar (H) apresenta uma aglutinação fraca e floculante, mais fácil de se dispersar.

O controle Positivo deve apresentar uma aglutinação parcial ou completa.

O PC deve dar uma aglutinação parcial ou total.

Agglutinação parcial ou completa com diferentes graus de limpidez do sobrenadante deve ser considerada positiva.

O NC não deve apresentar agrupamento visível.

O resultado é negativo quando o sobrenadante não muda sua aparência e mostra um redemoinho quando o tubo é golpeado ligeiramente.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Resultados falso-negativos podem ser obtidos na fase bem inicial da doença, com prozona (Brucelose) e durante o tratamento com antibióticos. Soros de pacientes sem resposta imune ou com baixa resposta também produzirão resultados falso-negativos.

Reações cruzadas com Brucella foram observadas em casos de infecção ou vacinação com algumas cadeias do *Vibrio cholerae*, Pausteuella, Proteus OX19 e *Y. enterocolitica*, sorotipo 9.

Soros de indivíduos sem sinais clínicos de infecção podem mostrar resultados positivos com o reagente POX-19 devido a baixos títulos de anticorpos anti-Proteus, particularmente no teste de aglutinação em lâmina (screening). Títulos menores que 1/160 (teste em tubo) não devem ser considerados significativos para uma infecção ativa.

NOTA:

- Demora na interpretação do resultado pode levar a resultados falso-positivos;
- Para o teste de Brucella recomenda-se reduzir o volume de amostra para 20 µL para evitar o efeito de prozona;
- Em algumas áreas geográficas com alta prevalência de anticorpos febris, recomenda-se diluir a amostra 2 a 4 vezes com NaCl (9 g/L) antes da realização do teste;
- O título do soro é definido como a maior diluição mostrando um resultado positivo. Títulos de aglutinação maiores que 1/80 - 1/160 com o tubo ou 1/8 - 1/16 com a lâmina são geralmente indicativos de infecção recente. Cada laboratório deve estabelecer sua referência de acordo com o equipamento, método de coleta de sangue e as técnicas comumente utilizadas no laboratório. A determinação de anticorpos contra antígenos febris proporciona informações diagnósticas para doenças potenciais. Entretanto, o diagnóstico final não deve ser baseado em apenas 1 teste, deve-se também considerar a história do paciente e outras investigações clínicas.
- A sensibilidade do teste pode ser reduzida em temperaturas baixas. Os melhores resultados são obtidos em temperatura superior a 10°C;
- O procedimento de incubação no teste em tubo pode ser acelerado por meio de incubação da seguinte maneira:
Antígeno somático (O) e Proteus a 48-50°C por 4 horas
Antígeno flagelar (H): 48-50°C por 2 horas.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Nº CAT	REAGENTE	VOLUME	Nº TESTES
50201	St-H	1 x 5 mL	600 testes
	St-O	1 x 5 mL	
	Sp-AH	1 x 5 mL	
	Sp-BH	1 x 5 mL	
	B-Ab	1 x 5 mL	
	P-OX19	1 x 5 mL	
	PC	1 x 2 mL	
	NC	1 x 2 mL	

BIBLIOGRAFIA:

- Felix, A. Trans. Roy. Soc. Trop. Méd. Hyg. 37, 321-325 (1944)
- Joint FAO/OMS Expert Committee on Brucellosis. Wild Hlth. Or. Tech. Rep. Se. 1958, 148-160
- Cruickshank, R. et al., Medical Microbiol. 11th Ed. 907 (1965).
- Freter, R. et al., Manual of Clinical Immunology, AMER. Soc. Microbiol. Washington DC, 460-463 (1980)
- Hill, D. R., Current Opinion in Infectious Diseases 6, 54-62 (1993)
- Hill, D. R.; Current Opinion in Infectious Diseases 7, 616-623 (1994)
- Young, E.J., Clinical Infectious Diseases 21, 283-290 (1995)
- Coulter, J.B.S, Current Pediatrics 6, 25-29 (1996)
- Jones, B. D. and Falkow S., Annu Rev. Immunol. 14, 533-561 (1996)

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefone: (31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br

N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Fabricante: Human GmbH Max-Planck-Ring 21, D 65205, Wiesbaden, Alemanha
Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.
Telefone: 31-3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela - CRF 4463
ANVISA: 10303460221 Classe de Risco: I

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO



O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação