



Antígenos Febriles

Reactivos para la determinación de anticuerpos específicos contra *Salmonella* y *Brucella*

SIGNIFICACION CLINICA

Las Salmonellas se consideran patógenos entéricos obligados. Los alimentos y el agua contaminados son los mecanismos de transmisión. La enfermedad puede presentarse como gastroenteritis, septicemia con lesiones en diversos órganos o fiebre tifoidea.

La Brucelosis se presenta en la mayoría de los casos con anorexia, fiebre, decaimiento y escalofríos, pudiendo aparecer luego complicaciones importantes como son las óseas y neuropsíquicas.

A pesar de que el método definitivo para establecer la etiología de estas enfermedades es a través del aislamiento del agente patógeno, esto resulta difícil debido a que la investigación se realiza frecuentemente en períodos tardíos de la enfermedad y luego de una terapia antibiótica. Por este motivo es de gran importancia diagnóstica la detección de los anticuerpos específicos producidos en el curso de cada una de estas patologías. Una prueba aislada es de escaso valor, siendo necesarias 2 o más pruebas seriadas a fin de poner en evidencia cambios en el título de anticuerpos.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El suero del paciente se pone en contacto con antígenos específicos. En este caso se utilizan suspensiones de *Salmonellas* o *Brucellas* muertos. Si la muestra contiene los anticuerpos correspondientes se producirá una aglutinación visible macroscópicamente.

REACTIVOS PROVISTOS

Antígenos Febriles *Salmonella*: suspensión en solución salina con conservantes apropiados, conteniendo los siguientes antígenos bacterianos:

- Antígenos Paratyphoid A (*Salmonella*, antígeno flagelar a).
- Antígenos Paratyphoid B (*Salmonella*, antígeno flagelar b).
- Antígenos Typhoid H (*Salmonella*, antígeno flagelar d).
- Antígenos Typhoid O (*Salmonella*, antígeno somático D).

Antígenos Febriles *Brucella*: suspensión de antígenos bacterianos (*Brucella abortus*, cepa 1119-3) en solución fisiológica con conservantes apropiados. La concentración celular de los antígenos se encuentra entre el 4 y el 6%. Las bacterias utilizadas se encuentran en fase lisa.

Antígenos Febriles Controles:

- Control Positivo: dilución de suero humano inactivado positivo.
- Control Negativo: dilución de suero humano negativo.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Solución fisiológica.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Los reactivos se proveen listos para usar. Llevar a temperatura ambiente y agitar vigorosamente antes de su empleo.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Los controles han sido examinados para HIV, HCV y HBV encontrándose no reactivos. No obstante, deben ser empleados como si se tratara de material infeccioso.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cualquier contaminación bacteriana de los reactivos producida durante el uso puede ser causa de deterioro. Desechar.

MUESTRA

Suero

a) Recolección: debe obtenerse suero límpido en forma estéril. No inactivar ni calentar ya que los anticuerpos son termolábiles.

b) Aditivos: no se requieren.

c) Sustancias interferentes conocidas: la hemólisis visible y los quilomicrones pueden dar reacciones inespecíficas.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: las muestras pueden conservarse 7 días en refrigerador (2-10°C).

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Placa de vidrio
- Micropipetas
- Tubos de hemólisis
- Varilla
- Reloj o timer

PROCEDIMIENTO

I- TECNICA RAPIDA EN PLACA

Colocar en una placa una gota (50 ul) de suero y agregar una gota (50 ul) de suspensión de Antígeno.

Mezclar y agitar la placa en forma circular durante 2 minutos.

Observar la presencia o ausencia de aglutinación utilizando una luz indirecta sobre fondo oscuro.

II- TITULACION RAPIDA EN PLACA

1) Dividir una placa de vidrio en sectores de 4 cm² aproximadamente.

2) Empleando las micropipetas apropiadas colocar en estos sectores 80 ul, 40 ul, 20 ul, 10 ul y 5 ul de suero límpido. Repetir el procedimiento para un control negativo y uno positivo.

3) Colocar 1 gota de Antígeno previamente agitado sobre cada gota de suero.

4) Mezclar el suero y el Antígeno utilizando una varilla abarcando un área de 2 cm de diámetro aproximadamente. Debe emplearse una varilla distinta para cada dilución de suero o la misma varilla mezclando a partir de la muestra más diluida.

5) Agitar la placa durante 2 minutos en forma circular.

6) Observar la aglutinación utilizando luz indirecta sobre fondo oscuro.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

4+: todos los microorganismos aglutinan.

3+: aglutinan aproximadamente el 75%.

2+: aglutinan aproximadamente el 50%.

1+: aglutinan aproximadamente el 25%.

Negativo: no aparece aglutinación.

Técnica I: se indica solamente positivo o negativo.

Técnica II: el título se considerará la última dilución que da aglutinación del 50% (++)

Los resultados obtenidos en la titulación en placa se aproximan a los de la prueba en tubo descrita en Bennett, C.W (ver Bibliografía), considerando las diluciones como se muestra a continuación:

| Volumen de Suero (ml) | Dilución aproximada en la prueba en tubo |
|--------------------------|---|
| 0,08 | 1:20 |
| 0,04 | 1:40 |
| 0,02 | 1:80 |
| 0,01 | 1:160 |
| 0,005 | 1:320 |

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Antígenos Febriles Controles.

VALORES DE REFERENCIA

Generalmente títulos de 1:40 ó 1:80 son sospechosos de enfermedad. Sólo títulos mayores de 1:80 pueden considerarse probatorios de diagnóstico de enfermedad cuando estén acompañados de la sintomatología clínica. Títulos mayores de 1:320, son concluyentes.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Títulos significativos pueden obtenerse en individuos inmunizados por vacunas tifoideas. Pueden observarse reacciones inespecíficas con antígenos de Salmonella O grupo D en suero de pacientes con influenza.

También se encontraron reacciones inespecíficas en pacientes con enfermedad hepática crónica activa y consumidores de narcóticos.

Los antígenos de Brucella pueden dar reacciones cruzadas en individuos vacunados contra cólera.

PERFORMANCE

Antígenos Febriles Salmonella: en un estudio realizado sobre 191 muestras, comparando con otro método de similar fundamento tomado como referencia, se obtuvieron los siguientes resultados:

Salmonella Paratyphoid A:

Sensibilidad: 94,1%

Especificidad: 98,8%

Salmonella Paratyphoid B:

Sensibilidad: 89,3%

Especificidad: 100%

Salmonella Typhoid H:

Sensibilidad: 86,2%

Especificidad: 99,3%

Salmonella Typhoid O:

Sensibilidad: 95%

Especificidad: 99,1%

Antígenos Febriles Brucella: en un estudio realizado sobre 203 muestras comparando con otro método de similar fundamento tomado como referencia, se obtuvieron los siguientes resultados:

Sensibilidad: 100%

Especificidad: 100%

Debe tenerse en cuenta que debido a las limitaciones de este tipo de reacciones serológicas, el método no sustituye el aislamiento e identificación del agente etiológico.

PRESENTACION

Salmonella (Cód. 1863151)

Paratyphoid A: 1 x 5 ml

Paratyphoid B: 1 x 5 ml

Typhoid H: 1 x 5 ml

Typhoid O: 1 x 5 ml

Brucella (Cód. 1503151)

Brucella abortus: 1 x 5 ml

Controles (Cód. 1933151)

Control Positivo: 1 x 2 ml

Control Negativo: 1 x 2 ml

BIBLIOGRAFIA

- Widal, F. - Bull. Soc. Med. Hop. de Paris 13 (1896).

- Bennett, C.W. Clinical Serology, pág. 145, Charles Thomas Co. (1964).

- Huddleson, J.B. - J. Infect. Dis. 42:242 (1928).

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Disp. N°: 1889/89 - 4957/00-153/05
(Controles)
1889/89 - 4957/00-153/05-1733/13
(Brucella-Salmonella)



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina