



ANTIGÉNIOS FEBRIS  
INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

**Stained Febrile Antigens: para testes de Widal e de Weil-Felix.**

**PRINCÍPIO**

As suspensões de antígenos corados podem ser utilizadas para identificar e quantificar anticorpos em soros humanos na sequência de infecção por determinados agentes patogénicos *Salmonella*, *Richettsiae* e *Brucellae*. Os Stained Febrile Antigens são adequados para os testes rápidos de aglutinação em lâmina e em tubo de soros humanos para a deteção destas aglutininas.

**UTILIZAÇÃO PRETENDIDA**

Estes reagentes são reagentes de teste destinados a serem utilizados para determinar qualitativamente a presença ou ausência de anticorpos contra determinados agentes patogénicos *Salmonella*, *Richettsiae* e *Brucellae* no soro ou plasma de doentes, quando testado em conformidade com as técnicas recomendadas nestas Instruções de utilização.

**DESCRIÇÃO DO KIT**

Os Lorne Stained Febrile Antigens destinam-se à deteção de determinados agentes patogénicos *Salmonella*, *Richettsiae* e *Brucellae*. Os antígenos consistem em suspensões de bactérias mortas, coradas para otimizar a leitura de testes de aglutinação. Os antígenos corados com corante azul são específicos para os antígenos "O" somáticos e os antígenos corados com corante vermelho são específicos para os antígenos "H" flagelares. São utilizadas suspensões de *Proteus* OX2, OX19 e OXK para detetar anticorpos rickettsial. Os reagentes não contêm nem consistem em substâncias cancerígenas, mutagénicas ou tóxicas para a reprodução (CMR), substâncias passíveis de causarem a desregulação do sistema endócrino nem substâncias passíveis de causarem sensibilização ou uma reação alérgica no utilizador. Para obter informações sobre o número de referência do lote e o prazo de validade, consulte os **rótulos dos frascos**.

**CONSERVAÇÃO**

Não congele. Após receção, os frascos de reagente devem ser conservados 2–8 °C. A conservação prolongada a temperaturas fora deste intervalo pode resultar em perda acelerada de reatividade do reagente.

**COLHEITA DE AMOSTRAS**

As amostras devem ser colhidas sem anticoagulante, utilizando uma técnica de flebotomia asséptica. Remova o soro do coágulo por centrifugação. Se o teste for adiado, o soro pode ser armazenadas a 2–8 °C durante 48 horas. Para períodos de tempo mais longos, o soro tem de ser congelado a uma temperatura igual ou inferior a –20 °C. Não utilize plasma nem amostras de soro inativadas por calor, com hemólise visível, lipemia visível ou contaminadas.

**PRECAUÇÕES**

1. O kit destina-se apenas a utilização em diagnóstico *in vitro*.
2. Não utilize o kit após o prazo de validade (consulte os **rótulos dos frascos e da caixa**).
3. Os reagentes são *sensíveis* à luz e têm de ser armazenados no escuro.
4. Não ingira nem inale aerossóis, e lave eventuais derrames com bastante água.
5. Ao manusear reagentes deve utilizar-se vestuário de proteção, como luvas descartáveis e uma bata de laboratório.
6. Os reagentes contidos nestes kits foram processados para reduzir a carga biológica, mas não são fornecidos estéreis. Quando um frasco é aberto, o conteúdo do mesmo deverá manter-se viável até ao fim do prazo de validade.
7. Nenhum teste conhecido pode garantir que os produtos de origem humana ou animal estão isentos de agentes infecciosos. Deve ter-se cuidado na utilização e eliminação de cada frasco e respetivo conteúdo.

**ELIMINAÇÃO DE REAGENTES DO KIT E CONTROLO DE DERRAMES**

Para obter informações sobre a eliminação de reagentes e a descontaminação de um local afetado por um derrame, consulte a **Ficha de Dados de Segurança**, disponível mediante pedido.

**CONTROLOS E RECOMENDAÇÕES**

1. Recomenda-se que sejam testados controlos positivos e negativos conhecidos em paralelo com cada lote de testes. Os testes devem ser considerados inválidos se os controlos não apresentarem os resultados esperados.
2. Todos os reagentes têm de atingir uma temperatura de 18–25 °C antes da utilização.
3. Agite bem os reagentes antes da utilização, de modo a assegurar homogeneidade.
4. A utilização dos reagentes e a interpretação dos resultados devem ser realizadas por profissionais qualificados e com a devida formação, de acordo com os requisitos em vigor no país onde os reagentes são utilizados.
5. O utilizador tem de determinar a adequabilidade dos reagentes para utilização com outras técnicas.

**COMPONENTES DO KIT FORNECIDOS**

Depende de que reagentes foram adquiridos. Consulte a secção "REAGENTES E APRESENTAÇÕES DISPONÍVEIS DO KIT".

**MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS**

- Pipeta serológica.
- Tubos de teste de plástico pequenos.
- Lâminas para aglutinação.
- Varetas misturadoras.
- Banho-maria a 37 °C.
- Solução salina a 9 g/l.
- Rotor mecânico com velocidade ajustável de 80–100 rpm.

**TÉCNICA EM LÂMINA**

1. Pipete 50 µl da amostra a testar e 1 gota de cada controlo para círculos separados na lâmina (ao testar anticorpos anti-*Brucella* recomenda-se reduzir o volume da amostra para 20 µl).
2. Adicione 50 µl de suspensão de antígenos não diluída a cada círculo, junto à amostra a testar.
3. Misture bem utilizando um agitador descartável e espalhe a mistura sobre toda a área envolvida pelo círculo.
4. Coloque a lâmina num rotor mecânico a 80–100 rpm durante 1 minuto.
5. Leia a aglutinação em cada círculo macroscopicamente ao fim de um minuto.

**TÉCNICA DE TITULAÇÃO EM LÂMINA**

1. Pipete 80, 40, 20, 10 e 5 µl da amostra não diluída a testar para círculos separados na lâmina.
2. Pipete 50 µl da suspensão de antígenos não diluída junto da amostra em cada círculo da lâmina.
3. Misture bem o conteúdo de cada círculo utilizando um agitador descartável e espalhe a mistura sobre toda a área envolvida pelo círculo.
4. Coloque a lâmina num rotor mecânico a 80–100 rpm durante 1 minuto.
5. Leia a aglutinação em cada círculo macroscopicamente ao fim de um minuto.

**INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DA TITULAÇÃO EM LÂMINA**

1. A presença de aglutinação em qualquer um dos círculos é indicadora dos seguintes resultados, caso seja realizado um teste em tubo:

Volume	80 µl	40 µl	20 µl	10 µl	5 µl
Resultados	1:20	01:40	1:80	1:160	1:320

2. Desta forma, o teste de titulação em lâmina proporciona uma aproximação aos resultados esperados de um teste em tubo correspondente.
3. É necessário realizar todas as diluições na lâmina de teste para prevenir o "efeito prozona", em que concentrações mais elevadas do soro podem apresentar um resultado negativo, mas diluições adicionais podem apresentar um resultado positivo.

#### TÉCNICA DE AGLUTINAÇÃO EM TUBO RECOMENDADA

1. Aplique rótulos em 8 tubos de plástico pequenos num suporte.
2. Utilizando uma pipeta, dispense 1,9 ml de solução salina a 9 g/l para o primeiro tubo, e 1,0 ml para cada um dos restantes sete tubos.
3. Utilizando uma pipeta, dispense 0,1 ml do soro não diluído do doente para o primeiro tubo.
4. Misture bem o conteúdo utilizando a pipeta e certificando-se de que não cria nenhuma bolha de ar.
5. Dispense 1,0 ml do primeiro tubo para o segundo tubo e misture bem.
6. Dispense 1,0 ml do segundo tubo para o terceiro tubo e misture bem.
7. Prossiga este método de duplicação da diluição até ao sétimo tubo e, em seguida, deite fora 1,0 ml do sétimo tubo.
8. O oitavo tubo conterá apenas solução salina como controlo e, por conseguinte, não deverá conter nenhum soro.
9. Adicione uma gota da suspensão de antígenos apropriada a cada tubo e misture bem.
10. Incube os tubos da seguinte forma:
  - Antígenos "O" somáticos e Proteus durante 4 horas a 50 °C (±2 °C).
  - Antígenos "H" flagelares durante 2 horas a 50 °C (±2 °C).
  - Antígenos Brucella durante 24 horas a 37 °C (±1 °C).
- Nota: é extremamente importante que quando os tubos são colocados num banho-maria, o nível da água atinja cerca de 2/3 da altura do conteúdo dos tubos. Isto manterá correntes de convecção dentro dos tubos e, desta forma, evitará resultados falsos.
11. Examine os tubos após o tempo de incubação apropriado para verificar se apresentam aglutinação.
12. O título a ser registado é o do último tubo a revelar aglutinação.

#### INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DOS TUBOS

1. Os tubos devem ser lidos uma vez terminado o tempo de incubação recomendado, de modo a eliminar a possibilidade de resultados falsos.
2. Uma reação somática (O) é caracterizada por aglutinação grosseira, compacta, que tende a ser de difícil dispersão, ao passo que as reações flagelares (H) apresentam uma aglutinação solta, floculante, característica.
2. O último tubo que apresente sinais de aglutinação deve ser utilizado como título para o teste em causa. Os resultados negativos correspondem à não ocorrência de aglutinação em todos os tubos.
3. A aglutinação parcial ou completa com um grau variável de eliminação do fluido sobrenadante é registada como resultado positivo.
4. Títulos superiores a 1:80 são, habitualmente, significativos e podem refletir infecção recente, mas podem ser encontrados títulos baixos em doentes.

#### INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Salmonellas: títulos de  $\geq 1/80$  (anticorpos O) e  $\geq 1/160$  (anticorpos H) indicam infecção recente.

Brucellas: títulos de  $\geq 1/80$  indicam infecção.

Proteus: títulos OX19  $\geq 1/80$ , OX2  $\geq 1/20$  e OX19  $\geq 1/80$  indicam infecção.

O nível de aglutininas "normais" para estes organismos varia entre países diferentes e comunidades diferentes. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça o seu próprio intervalo de referência.

#### ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

Os testes em lâmina devem ser interpretados imediatamente após o período de rotação de 1 minuto, de modo a evitar a possibilidade de

um resultado negativo ser incorretamente interpretado como positivo devido a secagem do reagente.

#### LIMITAÇÕES

1. Descobriu-se que muitos serotipos de salmonella possuem antígenos somáticos do mesmo tipo. A aglutinação de qualquer um dos antígenos Salmonella com soro humano não deve ser considerada prova de infeção por um organismo em particular, mas sim como prova de infeção por um organismo com uma estrutura antigénica semelhante.
2. Foi reportado um grande número de reações positivas falsas em indivíduos saudáveis quando testados com antígenos Proteus, especialmente em testes em lâmina. Um título inferior a 1:160 não deve ser considerado significativo.
3. A hemoglobina ( $\leq 10$  g/l), a bilirrubina ( $\leq 20$  mg/dl), a lipemia ( $\leq 10$  g/l) e os fatores reumatóides ( $\leq 300$  UI/ml) não interferem. Outras substâncias podem interferir.
4. Também podem ocorrer resultados positivos falsos ou negativos falsos devido a:
  - Contaminação dos materiais de teste
  - Tempo ou temperatura de incubação inadequados
  - Conservação incorreta dos materiais de teste ou omissão de reagentes
  - Desvio das técnicas recomendadas

#### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

1. Os reagentes foram caracterizados por todos os procedimentos mencionados nas **Técnicas recomendadas**.
2. Antes da libertação, cada lote de Antígenos Febris Lorne é testado pelas **técnicas recomendadas**, de modo a garantir a reatividade adequada.
3. Não existe nenhum padrão de referência internacional para padronização da sensibilidade destes reagentes. É por este motivo que a Lorne utiliza um controlo interno que contém soro animal com anticorpos contra Salmonellas, Brucellas e Proteus, que é testado comparativamente com reagentes de potência certificada disponíveis no mercado.

#### ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE

1. O utilizador é responsável pelo desempenho dos reagentes quando utilizados em qualquer outro método que não os mencionados em **Técnicas recomendadas**.
2. Eventuais desvios devem ser validados antes da utilização de procedimentos laboratoriais estabelecidos.

#### BIBLIOGRAFIA

1. David S. Jacobs et al. Laboratory Test Handbook, 3<sup>rd</sup> edition, Lexi-Comp Inc, 1994.

#### REAGENTES E APRESENTAÇÕES DISPONÍVEIS DO KIT

##### A. Antígenos febris:

	Volume	Número de catálogo
Salmonella Typhi H	1 x 5 ml	502005A
Salmonella paratyphi AH	1 x 5 ml	504005A
Salmonella paratyphi BH	1 x 5 ml	506005A
Salmonella paratyphi CH	1 x 5 ml	508005A
Salmonella Typhi O	1 x 5 ml	510005A
Salmonella paratyphi AO	1 x 5 ml	512005A
Salmonella paratyphi BO	1 x 5 ml	514005A
Salmonella paratyphi CO	1 x 5 ml	516005A
Brucella abortus	1 x 5 ml	518005A
Brucella melitensis	1 x 5 ml	520005A
Proteus OX2	1 x 5 ml	522005A
Proteus OX19	1 x 5 ml	524005A
Proteus OXK	1 x 5 ml	526005A

##### B. Kits de antígenos febris:

	Apresentação do kit	Número de catálogo
Kit bacteriano febril	8 x 5 ml	532040A
Kit bacteriano febril + controlos	8 x 5 ml + 2 x 1 ml	532042A

**C. Controlos para antígenos febris:**

	<b>Apresentação do kit</b>	<b>Número de catálogo</b>
<b>Controlo positivo febril</b>	1 ml	536001A
<b>Controlo negativo febril</b>	1 ml	537001A

Todos os Stained Febrile Antígenos estão disponíveis em quantidades a granel de 500 ml ou 1 litro para encomenda especial.



**Lorne Laboratories Limited**

Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate

Danehill

Lower Earley

Berkshire, RG6 4UT

Reino Unido

Tel.: +44 (0) 118 921 2264

Fax: +44 (0) 118 986 4518

E-mail: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2<sup>nd</sup> Flr.,  
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta