



ANTÍGENOS FEBRILES INSTRUCCIONES DE USO

Antígenos febriles de color: Para pruebas Widal y Weil-Felix.

PRINCIPIO

Los reactivos consisten en antígenos febriles inactivados y de color que se aglutinan al mezclarlos con muestras de suero humano que contienen los anticuerpos correspondientes. Estos son aptos para las pruebas de aglutinación en portaobjetos y tubos.

USO PREVISTO

Los reactivos son aptos para detectar de manera cualitativa los anticuerpos contra determinadas especies patógenas de Salmonella, Rickettsia y Brucella que están presentes en el suero humano cuando se evalúan de conformidad con las técnicas recomendadas establecidas en estas instrucciones de uso.

DESCRIPCIÓN DEL KIT

Las suspensiones bacterianas se diluyen en un amortiguador de glicina, conservante de pH de 8,2. Los controles consisten en suero animal con conservantes. Los antígenos de color azul son específicos para los antígenos somáticos "O", mientras que los de color rojo son específicos para los antígenos flagelares "H". Las suspensiones de Proteus OX2, OX19 y OXK se utilizan para detectar anticuerpos anti-Rickettsia. Cada reactivo se suministra en una dilución óptima mediante las técnicas recomendadas indicadas a continuación, sin necesidad de otra dilución o adición. Los reactivos no contienen ni están compuestos de sustancias CMR o sustancias que alteran el funcionamiento del sistema endócrino o que podrían causar sensibilización o una reacción alérgica al usuario. Para obtener información sobre el número de referencia del lote y la fecha de caducidad, consulte las **etiquetas del vial**.

CONSERVACIÓN

No congelar. Los viales de reactivo deben ser conservados a 2-8°C. El almacenamiento prolongado a temperaturas fuera de este rango puede acelerar la pérdida de reactividad.

OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Las muestras deben obtenerse sin anticoagulante mediante técnicas de flebotomía autorizadas. Retire el suero de la sangre coagulada mediante centrifugación. Si el análisis va a retrasarse, el suero debe conservarse a 2-8°C durante un máximo de 8 días o debe congelarse a -20°C o menos durante un máximo de 3 meses. No utilice plasma ni muestras de suero contaminado, muy hemolizado, altamente lipémico o inactivado por calor.

PRECAUCIONES

1. El kit es solo para uso en diagnóstico *in vitro*.
2. No utilizar el kit luego de la fecha de caducidad (ver las **etiquetas del vial y la caja**).
3. Desechar los reactivos si tienen grumos o partículas.
4. Los reactivos son sensibles a la luz y deben almacenarse en la oscuridad.
5. No ingerir o inhalar aerosoles; lavar las salpicaduras con abundante agua.
6. La manipulación de los reactivos debe realizarse con la apropiada indumentaria de protección, tales como guantes desechables y bata de laboratorio.
7. Los reactivos de estos kits se han procesado para reducir la carga microbiana, pero no se suministran esterilizados. Una vez abierto el vial, el contenido debe permanecer viable hasta la fecha de caducidad.
8. Ningún método puede garantizar que los productos derivados de fuentes humanas o animales estén libres de agentes infecciosos. Manipular y desechar con precaución los viales y su contenido.

ELIMINACIÓN DEL REACTIVO DEL KIT Y MANEJO DE DERRAMES

Para obtener información sobre la eliminación de los reactivos y la descontaminación del lugar del derrame, consulte las **Hojas de datos de seguridad de los materiales**, disponibles previa solicitud.

CONTROLES Y CONSEJOS

1. Se recomienda la utilización de controles positivos y negativos conocidos para estudiar de forma paralela en cada lote de análisis; es decir, controles positivos y negativos febriles. Los análisis deben considerarse no válidos si los controles no muestran los resultados esperados.
2. Debe dejar que los reactivos alcancen 18-25°C antes de su uso.
3. Agitar los reactivos con cuidado antes de su uso para garantizar la homogeneidad.
4. Una gota obtenida con el cuentagotas del vial corresponde aproximadamente a 50 µl.
5. La utilización de los reactivos y la interpretación de los resultados deben llevarse a cabo por personal cualificado y formado de acuerdo a los requisitos del país donde se estén utilizando los reactivos.
6. El usuario debe determinar la idoneidad de los reactivos para su uso en otras técnicas.
7. Para comprobar si hay anticuerpos anti-Brucella, se recomienda reducir el volumen de la muestra a 20 µl.
8. En algunas zonas geográficas con una elevada prevalencia de anticuerpos febriles, se recomienda diluir ¼ de la muestra en una solución salina de 9 g/l antes de llevar a cabo la prueba.

COMPONENTES DEL KIT SUMINISTRADOS

Ver "**Tamaños de reactivos y kits disponibles**".

MATERIALES Y EQUIPO NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

- Pipeta serológica.
- Tubos de plástico pequeños.
- Portaobjetos de aglutinación.
- Varillas para mezcla.
- Estufa de incubación a 37°C.
- Solución salina de 9 g/l.
- Rotador mecánico ajustable a 80-100 rpm.

TÉCNICA EN PORTAOBJETOS (prueba cualitativa)

1. Con la pipeta, colocar 50 µl de la muestra que se va a analizar y 1 gota de cada control en diferentes círculos del portaobjetos (ver los puntos 7 y 8 de la sección "**Controles y consejos**").
2. Añadir 50 µl de la suspensión de antígeno sin diluir a cada círculo junto a la muestra que se va a analizar.
3. Mezclar bien con un agitador desechable y expandir la mezcla sobre toda el área dentro del círculo.
4. Colocar el portaobjetos en un rotador mecánico a 80-100 rpm durante 1 minuto.
5. Realizar un examen macroscópico para comprobar la aglutinación en cada círculo inmediatamente tras el tiempo de rotación de 1 minuto.

TÉCNICA DE TITULACIÓN EN PORTAOBJETOS

1. Con la pipeta, colocar 80, 40, 20, 10 y 5 µl de la muestra sin diluir que se va a analizar en diferentes círculos del portaobjetos.
2. Con la pipeta, colocar 50 µl de la suspensión de antígeno sin diluir junto a la muestra en cada círculo del portaobjetos.
3. Mezclar bien el contenido de cada círculo con un agitador desechable y expandir la mezcla sobre toda el área dentro del círculo.
4. Colocar el portaobjetos en un rotador mecánico a 80-100 rpm durante 1 minuto.
5. Realizar un examen macroscópico para comprobar la aglutinación en cada círculo inmediatamente tras el tiempo de rotación de 1 minuto.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA TITULACIÓN EN PORTAOBJETOS

1. La aglutinación observada en cualquier círculo indica los siguientes resultados en caso de que deba realizarse una prueba en tubo:

Volumen	80 µl	40 µl	20 µl	10 µl	5 µl
Resultados	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320

2. De esta manera, la prueba de titulación en portaobjetos ofrece una aproximación de los resultados esperados de una prueba en tubo correspondiente.
3. Es necesario realizar todas las diluciones en la prueba en portaobjetos para evitar el fenómeno de "prozona" donde concentraciones elevadas de suero pueden dar resultados negativos, pero nuevas diluciones pueden dar resultados positivos.

TÉCNICA DE AGLUTINACIÓN EN TUBO (valoración)

1. Etiquetar 8 tubos de plástico pequeños.
2. Con una pipeta, dispensar 1,9 ml de solución salina de 9 g/l en el primer tubo y 1,0 ml en los siete restantes.
3. Con una pipeta, dispensar 0,1 ml del suero sin diluir del paciente en el primer tubo.
4. Mezclar bien el contenido con la pipeta y asegurarse de no crear burbujas.
5. Dispensar 1,0 ml del primer tubo en el segundo tubo y mezclar bien.
6. Dispensar 1,0 ml del segundo tubo en el tercer tubo y mezclar bien.
7. Continuar con este método de diluciones seriadas dobles hasta el séptimo tubo y, luego, descartar 1,0 ml del séptimo tubo.
8. Preparar un tubo como control negativo al añadir solo solución salina y, por lo tanto, no debe contener ningún suero.
9. Añadir una gota de la suspensión de antígeno correspondiente en cada tubo y mezclar bien.
10. Incubar los tubos de la siguiente manera:
 - Antígenos somáticos "O" y Proteus durante 4 horas a 50°C (±1°C).
 - Antígenos flagelares "H" durante 2 horas a 50°C (±1°C).
 - Antígenos de Brucella durante 24 horas a 37°C (±1°C).
11. Examinar los tubos después del tiempo de incubación adecuado y determinar si hay aglutinación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS TUBOS

1. Los tubos deben leerse inmediatamente tras el tiempo de incubación recomendado para eliminar la posibilidad de resultados falsos.
2. Una reacción somática (O) se caracteriza por una aglutinación gruesa y compacta, que tiende a ser difícil de dispersar, mientras que las reacciones flagelares (H) tienen una aglutinación laxa y floculante característica.
3. El último tubo que demuestre signos de aglutinación debe tomarse como título para esa prueba. Para considerar todos los resultados como negativos, ningún tubo debe mostrar signos de aglutinación. Los métodos de titulación proporcionan resultados semicuantitativos.
4. La aglutinación parcial o completa con un grado variable de aclarado del líquido sobrenadante se registra como un resultado positivo.

RANGOS DE REFERENCIA

Salmonellas: Los títulos $\geq 1/80$ (anticuerpos O) y $\geq 1/160$ (anticuerpos H) indican infección reciente.

Brucellas: Los títulos $\geq 1/80$ indican infección.

Proteus: Se han notificado una gran cantidad de reacciones positivas falsas en individuos sanos con antígenos de Proteus, sobre todo en la prueba de aglutinación en portaobjetos. Los títulos $< 1/160$ no deberían considerarse relevantes. El nivel de aglutininas "normales" para estos organismos varía en diferentes países y comunidades. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

Los análisis en portaobjetos deben interpretarse de inmediato luego del período de rotación de 1 minuto para evitar la posibilidad de que un resultado negativo se interprete incorrectamente como positivo debido al secado del reactivo.

LIMITACIONES

1. Se ha encontrado que muchos serotipos de salmonella poseen antígenos somáticos del mismo tipo. La aglutinación de cualquiera de los antígenos de Salmonella con suero humano no debe tomarse como prueba de infección por un organismo, sino más bien como una infección por un organismo de una estructura antigénica similar.
2. El diagnóstico clínico no debe basarse únicamente en los resultados de una sola prueba, sino que debe utilizarse una combinación de síntomas clínicos y datos analíticos.
3. La hemoglobina (≤ 10 g/l), la bilirrubina (≤ 20 mg/dl), la lipemia (≤ 10 g/l) y los factores reumatoideos (≤ 300 UI/ml) no interfieren. Otras sustancias pueden interferir.
4. También pueden darse resultados falsos positivos o falsos negativos debido a:
 - Contaminación de los materiales del análisis.
 - Tiempo o temperatura de incubación inadecuados.
 - Almacenamiento inadecuado de los materiales de prueba u omisión de los reactivos.
 - Desviación de las técnicas recomendadas.
 - Enfermedad precoz, ausencia de respuesta inmunitaria, prozona (brucelosis) y tratamiento antibiótico (resultados negativos falsos).

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO ESPECÍFICAS

1. Los reactivos se han caracterizado mediante todos los procedimientos mencionados en las **técnicas recomendadas**.
2. Antes de su liberación, cada lote de Lorne Febrile Antigens se evalúa mediante las **técnicas recomendadas** para garantizar la reactividad adecuada.
3. No existe un estándar de referencia internacional para la estandarización de sensibilidad de estos reactivos. Es por eso que Lorne utiliza un control interno que contiene suero animal con anticuerpos de Salmonellas, Brucellas y Proteus que se prueba frente a reactivos comercialmente disponibles de potencia certificada.

DESCARGO DE RESPONSABILIDAD

1. El usuario es responsable del funcionamiento de los reactivos en cualquier otro método distinto de los mencionados como **técnicas recomendadas**.
2. Cualquier desviación debe validarse antes de su uso mediante procedimientos de laboratorio establecidos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Edward J Young. Clinical Infectious Diseases 1995; 21: 283-290.
2. Coulter JBS. Current Pediatrics 1996; 6: 25-29.
3. David A et al. Current Opinion in Infectious Diseases 1994; 7: 616-623.
4. David R et al Current Opinion in Infectious Diseases 1993; 6: 54-62.
5. Bradley D Jones. Annu Rev Immunol 1996; 14: 533 – 61.
6. J. Henny et al. Recommendation for the review of biological reference intervals in medical laboratories. Clin Chem Lab Med. 2016 Dec 1;54(12): 1893-1900.doi: 10.1515/ccim-2016-0793.

TAMAÑOS DE REACTIVOS Y KITS DISPONIBLES

A. Antígenos febriles:

	Volumen	Número de catálogo	Pruebas por vial
Salmonella Typhi H	1X5 ml	502005A	100
Salmonella paratyphi AH	1X5 ml	504005A	100
Salmonella paratyphi BH	1X5 ml	506005A	100
Salmonella paratyphi CH	1X5 ml	508005A	100
Salmonella Typhi O	1X5 ml	510005A	100
Salmonella paratyphi AO	1X5 ml	512005A	100
Salmonella paratyphi BO	1X5 ml	514005A	100
Salmonella paratyphi CO	1X5 ml	516005A	100

Brucella abortus*	1X5 ml	518005A	100
Brucella melitensis	1X5 ml	520005A	100
Proteus OX2	1X5 ml	522005A	100
Proteus OX19	1X5 ml	524005A	100
Proteus OXK	1X5 ml	526005A	100

(*): También es útil para los anticuerpos de *Brucella suis*.

B. Kits de antígenos febriles:

	Tamaño del kit	Número de catálogo
Kit bacteriano febril + controles	8 x 5 ml** + 2 x 1 ml	532042A

(**) Salmonella typhi H, Salmonella paratyphi AH, Salmonella paratyphi BH, Salmonella paratyphi CH, Salmonella typhi O, Salmonella paratyphi AO, Salmonella paratyphi BO, Salmonella paratyphi CO.

C. Controles de antígenos febriles:

	Tamaño	Número de catálogo	Pruebas por vial
Control positivo febril	1 ml	536001A	10
Control negativo febril	1 ml	537001A	10

Todos los antígenos febriles de color están disponibles en cantidades a granel de 500 ml o 1 litro, a pedido 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

Correo electrónico: info@lornelabs.com

EC	REP	Advena Ltd. Tower Business Centre, 2 nd Flr., Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta
-----------	------------	---