

COD 33001 Multiscreening 100 x 6 tests	COD 33080 Salmonella 100 x 8 tests
CONSERVAR A 2-8°C	
Reactivos para la determinación de anticuerpos frente a antígenos febriles Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico	



**FUNDAMENTO DEL MÉTODO**

Los antígenos febriles son suspensiones normalizadas de bacterias teñidas que se utilizan para identificar y cuantificar anticuerpos específicos que se desarrollan durante algunas infecciones febriles tales como la brucelosis, salmonelosis y ciertas rickettsiosis. El antígeno en suspensión aglutina en presencia del correspondiente anticuerpo homólogo en las muestras ensayadas<sup>1-4</sup>.

**CONTENIDO**

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> O (O: 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 (O: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 (O: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 (O:6,7)	1 x 5 mL	-	1 x 5 mL
33311	<i>Proteus</i> OX19	1 x 5 mL	1 x 5 mL	-
33312	<i>Proteus</i> OX2	1 x 5 mL	-	-
33310	<i>Proteus</i> OXK	1 x 5 mL	-	-
33510	C+S: Control Positivo <i>Salmonella</i>	1 x 1 mL	1 x 1 mL	-
33509	C+B: Control Positivo <i>Brucella</i>	1 x 1 mL	1 x 1 mL	-
33502	C+P: Control Positivo <i>Proteus</i>	1 x 1 mL	1 x 1 mL	-
33503	C-: Control Negativo	1 x 1 mL	1 x 1 mL	-

**COMPOSICIÓN**

Antígenos febriles: Suspensión de bacterias inactivadas y teñidas (somáticas azul, flagelares rojo), azida sódica 0,95 g/L.

C - Control Negativo: Suero humano negativo, azida sódica 0,95 g/L.

C + Control Positivo: Suero conteniendo el correspondiente anticuerpo febril, azida sódica 0,95 g/L.

*Todos los componentes de origen humano utilizados en la preparación del control negativo eran negativos para el antígeno HBs y para los anticuerpos anti-HCV y anti-HIV. Sin embargo, los controles deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.*

**CONSERVACIÓN**

Conservar a 2-8°C. Los antígenos febriles y Controles son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro (Nota 1):

- Antígenos febriles: presencia de aglutinación en el frasco.
- Controles: presencia de material particulado.

**PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS**

Los antígenos febriles y los controles están listos para su uso (Nota 2).

**EQUIPO ADICIONAL**

- Agitador mecánico rotatorio de velocidad regulable a 100 r.p.m.

**MUESTRAS**

Suero recogido mediante procedimientos estándar. Estable 7 días a 2-8°C. No utilizar muestras hemolizadas o lipémicas.

**PROCEDIMIENTO**

**A. PRUEBA EN PORTA**

1. Dejar atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente (Nota 3).
2. Depositar 1 gota (50 µL) de la muestra a ensayar (Notas 4, 5) y 1 gota de cada Control en círculos separados del porta.
3. Homogeneizar el antígeno con suavidad antes de usarlo. Añadir a cada círculo 1 gota (50 µL) de antígeno próxima a la gota de muestra.
4. Mezclar con ayuda de un mezclador desechable, procurando extender la mezcla por toda la superficie interior del círculo. Emplear mezcladores distintos para cada muestra.
5. Agitar el porta manualmente o en agitador rotatorio a 100 r.p.m. durante 2 minutos (B. Rosa Bengala durante 4 minutos).

**B. PRUEBA EN TUBO**

1. Diluir las muestras de suero 1/20 y los Controles 1/10 con NaCl 9 g/L y preparar de cada uno series de dobles diluciones en NaCl 9 g/L.
2. Preparar, para cada antígeno a ensayar, una fila de tubos que contenga 1 mL de cada dilución del suero y de los Controles (Positivo y Negativo).
3. Agitar suavemente el vial de antígeno y añadir a cada tubo una gota (50 µL) de la suspensión apropiada. Mezclar.

4. Incubar los tubos a 37°C durante 24 h (Nota 6).

**LECTURA**

**A. PRUEBA EN PORTA**

Examinar la presencia de aglutinación en el minuto siguiente a la parada del agitador (Nota 7).

Resultados positivos: Presencia de aglutinación. Los sueros positivos deben cuantificarse mediante la prueba en tubo. En el caso de la *Brucella* Rosa Bengala la presencia de aglutinación indica un contenido de anticuerpo  $\geq 25$  UI/mL.

Resultados negativos: Ausencia de aglutinación visible.

**B. PRUEBA EN TUBO**

Examinar la presencia y tipo de aglutinación.

Resultados positivos: Aglutinación parcial o completa acompañada de aclaramientos variables del sobrenadante. La aglutinación somática se caracteriza por ser fina y granular, de formación lenta y difícilmente disgregable. Por el contrario, la aglutinación flagelar es algodonosa, de formación rápida y fácilmente disgregable. Se define el título como la dilución mayor que da resultado positivo.

Resultados negativos: Ausencia de aglutinación visible.

**CONTROL DE CALIDAD**

Los Controles Positivo (C+) y Negativo (C-) deben ensayarse conjuntamente con las muestras de los pacientes, con el fin de verificar el correcto funcionamiento de la prueba.

El Control Positivo (C+) debe provocar la aglutinación de los correspondientes antígenos febriles.

El Control Negativo (C-) no debe ocasionar aglutinación visible.

Cada laboratorio debe establecer su programa de Control de Calidad interno y procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

**CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO**

- Detectabilidad: 25 UI/mL para la suspensión de *Brucella abortus* / Rosa de Bengala utilizando el 2º Patrón Internacional de la OMS.
- Efecto de alta concentración (zona): Pueden obtenerse falsos resultados negativos en sueros que contengan un elevado título de anticuerpos. Una dilución de estos sueros será positiva.
- Resultados falsos: Los resultados obtenidos con estos antígenos no muestran diferencias significativas al ser comparados con antígenos de referencia. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.
- Interferencias: Los factores reumatoideos (300 UI/mL) no interfieren.

**CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS**

Los resultados positivos son una ayuda en el diagnóstico de algunas enfermedades febriles. No obstante, la aglutinación no puede considerarse prueba de infección por un organismo particular ya que diferentes microorganismos tienen antígenos comunes. Las pruebas de serodiagnóstico febril deberían ser utilizadas en paralelo con cultivos adecuados para el aislamiento e identificación del organismo causal.

Títulos superiores a 1/80 para los antígenos de *Salmonella* o *Brucella* son generalmente indicativos de infección reciente. Títulos menores son frecuentes en individuos sanos, especialmente en áreas con elevada prevalencia de infecciones febriles. El suero de muchos individuos sanos contiene anticuerpos frente a antígenos de *Proteus*. Un título inferior a 1/160 no debe ser considerado significativo.

Un resultado positivo aislado tiene menor significado clínico que la demostración de un aumento o disminución del título entre muestras tomadas del paciente en diferentes días.

Un resultado negativo no descarta una infección, ya que la muestra puede haber sido tomada antes de que el paciente produjera anticuerpos. También pueden obtenerse falsos negativos en casos de inmunodeficiencia, prozona (*Brucelosis*) y tratamiento con antibióticos.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

**NOTAS**

1. La intensidad de color puede variar lote a lote sin que ello afecte a los resultados.
2. El antígeno Rosa de Bengala debe utilizarse exclusivamente para pruebas en porta.
3. La sensibilidad del ensayo puede reducirse si se efectúa a bajas temperaturas.
4. Para evitar la prozona, se recomienda reducir la muestra a 20 µL para *Brucella*.
5. En países con elevada prevalencia de enfermedades febriles, se recomienda diluir la muestra 1/4 en NaCl 9 g/L antes de realizar el ensayo.
6. Alternativamente, incubar a 48-50°C durante 2 h (flagelares) o 4 h (somáticos y *Proteus*).
7. Retrasos en las lecturas pueden ocasionar falsos resultados positivos.

**BIBLIOGRAFÍA**

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