

Febrile Antigens



PRESENTACION	<h1 style="margin: 0;">Serodiagnóstico Febril</h1> <p style="margin: 0;"><i>Suspensiones bacterianas coloreadas</i></p> <p style="margin: 0;">PRUEBAS EN PORTA Y TUBO</p>
Reactivos para la determinación de anticuerpos frente a antígenos febriles	
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>	

FUNDAMENTO

Los antígenos coloreados CROMATEST son suspensiones estandarizadas de bacterias muertas preparadas para la detección y semicuantificación por aglutinación en porta o tubo de las aglutininas séricas humanas, un grupo de anticuerpos que se desarrollan durante algunas infecciones febriles tales como la brucelosis, salmonelosis y ciertas rickettsiosis^{1,2}. La determinación se efectúa ensayando los antígenos coloreados –somáticos, azules; flagelares, rojos– frente a los sueros problema. La presencia o ausencia de aglutinación visible está usualmente relacionada con la presencia o ausencia del anticuerpo homólogo correspondiente en las muestras ensayadas.

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

Ag	Antígeno Febril. Suspensión estabilizada y tamponada de bacterias muertas y coloreadas.
CONTROL +	Brucella, Salmonella, Proteus. Suero animal, que contiene el correspondiente anticuerpo febril.
CONTROL -	Aglutinin Control Negative. Suero animal no reactivo.

Aviso: Los reactivos de este kit contienen 0,95 g/L azida sódica. Evitar el contacto con la piel y mucosas.

CONTENIDO DEL ENVASE

REF	REACTIVOS
2100005	<i>Brucella Abortus</i>
2104005	<i>Brucella Melitensis</i>
2135005	<i>Salmonella typhi H (d-H)</i>
2139005	<i>Salmonella typhi O (9, 12-O)</i>
2113005	<i>Salmonella paratyphi A-H (a-H)</i>
2117005	<i>Salmonella paratyphi A-O (1,2,12-O)</i>
2119005	<i>Salmonella paratyphi B-H (b-H)</i>
2123005	<i>Salmonella paratyphi B-O (1,4,5,12-O)</i>
2125005	<i>Salmonella paratyphi C-H (c-H)</i>
2127005	<i>Salmonella paratyphi C-O (6, 7-O)</i>
2107005	<i>Proteus OX19</i>
2109005	<i>Proteus OX2</i>
2111005	<i>Proteus OXK</i>
2921205	<i>Brucella Positive Control</i>
2921305	<i>Proteus Positive Control</i>
2921405	<i>Salmonella Positive Control</i>
2929910	<i>Aglutinin Control Negative</i>

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar a 2-8°C. No congelar los componentes del kit ya que la funcionalidad del test podría verse afectada. Los Antígenos y los Controles son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Los Antígenos y los Controles están listos para su uso.

MUESTRAS

Suero claro, reciente.
Una vez separado, el suero puede guardarse a 2-8°C durante una semana antes del ensayo, o por un período mayor a -20°C.

EQUIPO ADICIONAL

- Portas o placas de vidrio.
- Palillos desechables.
- Tubos de ensayo (12 x 100 mm).
- Pipetas de volumen variable.
- Solución salina (NaCl 0,9%).
- Agitador mecánico rotatorio de velocidad regulable a 100 r.p.m.
- Baño termostático (30-50°C).

TECNICA

I. Prueba cualitativa

1. Equilibrar reactivos y muestras a temperatura ambiente.
2. Resuspender el antígeno con suavidad. Aspirar y vaciar varias veces el cuentagotas para asegurar su homogeneidad antes del ensayo.
3. Depositar 50 µL de suero problema en uno de los círculos de la tarjeta visualizadora (Nota 2). En la detección de anticuerpos anti-brucela, 20 µL de muestra es suficiente (Nota 1) y. En círculos adicionales, depositar 1 gota de control positivo y 1 gota de control negativo.
4. Añadir a cada círculo 1 gota de la suspensión antigénica, próxima a la muestra a analizar.
5. Efectuar la mezcla con ayuda de un palillo desechable, extendiéndola de forma que cubra por completo la superficie interior de cada anillo. Emplear palillos distintos para cada mezcla.
6. Mover la tarjeta a mano o con agitador rotatorio (100 r.p.m.) durante **1 minuto**.
7. Observar de inmediato con la ayuda de una luz adecuada, la aparición de cualquier signo de aglutinación.

Lectura

Reacción negativa: Suspensión uniforme sin cambio visible alguno, tal como se presenta en el control negativo.

Reacción positiva: Aglutinación débil o intensa, fácilmente visible macroscópicamente.

II. Prueba semi-cuantitativa

1. Para cada muestra a analizar, pipetear 80, 40, 20, 10 y 5 µL de suero en cada uno de los círculos de la placa visualizadora.
2. Ensayar cada una de las diluciones tal como se describe en los pasos 4-7 de la Prueba cualitativa (Nota 3).

Lectura

Como en la Prueba cualitativa. El título de la muestra corresponde a la máxima dilución que presenta reactividad.



III. Prueba en tubo

1. Empleando solución salina como diluyente, disponer para cada antígeno a ensayar una fila de dobles diluciones de la muestra, como sigue:

Tubo	1	2	3	4	5	6	Control Susp.	Control +	Control -
Sol. Salina 0,95% (mL)	1,9	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Suero (µL)	+	+	+	+	+	+	-	+	+
	100	Diluciones seriadas de 1 mL						2 gotas	2 gotas
	Mezclar								

2. Agitar la suspensión antigénica apropiada y añadir 1 gota en cada uno de los tubos de la serie. Mezclar. Las diluciones finales del suero serán: 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640.
3. Incubar a 37°C durante 24 horas. (Nota 4)
4. Examinar macroscópicamente la presencia de aglutinación.

Lectura

Leer en primer lugar los resultados de todos los tubos de control. Una vez examinado el tipo de sedimento, agitar ligeramente el tubo.

Reacción negativa: En una reacción negativa y en un Control de suspensión, la opacidad del tubo no se modifica, mostrando tras su agitación un típico remolino.

Reacción positiva: Aglutinación parcial o completa acompañada de aclaramientos variables del sobrenadante. El título del suero corresponde a la máxima dilución del mismo que presenta aglutinación frente a un antígeno bacteriano determinado. La dilución siguiente debe ser negativa.

CONTROL DE CALIDAD

Incluir diariamente controles positivo y negativo, así como tubos control de las suspensiones para confirmar el correcto funcionamiento del reactivo.

VALORES ESPERADOS

Salmonelas y Brucelas: Títulos superiores a 1/80 (antígenos somáticos y brucelas) y 1/160 (antígenos flagelares) son generalmente indicativos de infecciones recientes.

Proteus: Títulos inferiores a 1/160 no deben ser considerados significativos.

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

SIGNIFICADO CLINICO

Antígenos Febriles es un término referido a un grupo de suspensiones bacterianas, representativo de un número de bacterias patógenas para la especie humana y responsables de la aparición de infecciones (brucelosis, salmonelosis y ciertas rickettsiosis) que cursan con un cuadro febril en el huésped infectado. La mejor forma para establecer la etiología de una enfermedad infecciosa es el aislamiento e identificación del agente causal de la misma. Sin embargo, estos medios de diagnóstico no son siempre de fácil aplicación y es ahí donde radica la importancia del uso de las suspensiones bacterianas en la detección de los anticuerpos presentes en el suero del paciente (método indirecto de diagnóstico).

En el diagnóstico clínico, los resultados obtenidos con el uso de los Antígenos Febriles deben ser considerados siempre en relación a los hallazgos clínicos y otras pruebas de laboratorio.

CARACTERISTICAS FUNCIONALES

- No está disponible un Material de Referencia que permita establecer la sensibilidad de estos reactivos. Es por ello que Linear Chemicals ajusta la sensibilidad de sus reactivos frente a antisueros específicos y comparando con reactivos comerciales de calidad reconocida.
- Efecto prozona: Pueden obtenerse falsos resultados negativos en muestras que contengan un elevado título de anticuerpos. Una dilución de estas muestras proporcionará un resultado positivo.
- Los resultados obtenidos con este reactivo no muestran diferencias significativas al ser comparados con un reactivo de referencia. Los datos analíticos del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.
- Hemoglobina (<10 g/L), bilirrubina (<20 mg/dL), lipemia (<10 g/L) y factores reumatoideos (<300 UI/mL) no interfieren con el ensayo.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Tanto en infecciones tempranas como en casos de inmunodepresión, pueden darse reacciones negativas.
- El tratamiento con antibióticos en enfermos tifoideos, puede ocasionar la inhibición de las aglutininas somáticas, con la consiguiente falta de aglutinabilidad –negatividad falsa– de las suspensiones O correspondientes.
- Se han descrito falsas positividads (reacciones cruzadas del antígeno brucelósico) en sueros de pacientes infectados con *Vibrio (Campylobacter)*, *Pasteurella*, *Proteus OX19* y *Y. enterocolitica* (serotipo 9), y en sueros de vacunados con *V. cholerae*.

NOTAS

1. Los casos de brucelosis crónica no deberán jamás ensayarse con este método. Recurrir a la prueba del Rosa Bengala seguida de la prueba en tubo.
2. En áreas geográficas con alta prevalencia de anticuerpos febriles, es recomendable diluir la muestra 1:4 en solución salina (0,95%) antes de realizar el ensayo.
3. Las diluciones finales aproximadas son: 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, respectivamente.
4. Alternativamente incubar: Antígenos somáticos (O) y *Proteus* a 48-50°C durante 4 horas. Antígenos flagelares (H) a 48-50°C durante 2 horas.

CAUSAS DE ERROR

- Las suspensiones antigénicas caducadas pueden presentar reacciones negativas falsas.
- La contaminación bacteriana de las suspensiones, muestras o solución salina, la congelación de los antígenos y trazas residuales de detergente en los tubos, son causas generales de resultados positivos falsos.

REFERENCIAS

1. Felix, A. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 37: 321 (1944).
2. Comité mixto FAO/OMS de expertos en Brucelosis. Wld. Hlth. Org. Tech. Rep. Ser. 148: 1 (1958).

