

Finalidade:

Teste para detecção de anticorpos anti-Salmonella com a série de antígenos de Widal A-B-O-H

Registro ANVISA:

10097010-026

Apresentação:

550188 - WIDAL ESTOJO-(A-B-O-H) KIT 4 x 5 mL

LB 172010
Rev 08 – 11/2019

1. INTRODUÇÃO

Durante o desenvolvimento de certas doenças infecciosas no organismo humano, alguns micro-organismos patogênicos promovem a produção de uma variedade de anticorpos. As aglutininas, que combinadas a antígenos homólogos ou aglutinogênios são capazes de produzir aglutinação dentro de certas condições controladas, visíveis a olho nu. Grunbaum e Widal foram os pioneiros da aplicação deste princípio imunológico no diagnóstico de doenças infecciosas. Esta prova ficou universalmente conhecida por Prova de Widal, posteriormente estendida para incluir outras Salmonelas além de *S. typhi* mediante o uso de antígenos de uma variedade de Salmonella O e H. O conjunto Widal emprega quatro antígenos do gênero *Salmonella* distintos que são encontrados comumente causando febres entéricas. A metodologia propõe o uso de uma prova qualitativa rápida em lâmina, que caso positiva, é complementada com uma pesquisa quantitativa em tubo, na qual se determina o título de anticorpos (aglutininas) presentes no soro.

Na primeira semana de infecção o melhor meio diagnóstico é a hemocultura (positiva em cerca de 80% dos casos). Entre a segunda e terceira semanas, a coprocultura torna-se o meio diagnóstico mais eficaz (positiva em 50-65% dos casos). Entre a quarta e quinta semanas, o meio diagnóstico mais eficaz é a pesquisa de aglutininas (positiva em cerca de 80-85% dos casos).

2. COMPOSIÇÃO

| Componente | Apresentação |
|------------|---|
| Widal O | Suspensão bacteriana de <i>Salmonella</i> O Antígeno somático do grupo D suspensas em solução salina. Contém 0,1% de fenol como preservativo. |
| Widal A | Suspensão bacteriana de <i>Salmonella</i> A Antígeno flagelar A suspensas em solução salina. Contém 0,1% de formol como preservativo. |
| Widal B | Suspensão bacteriana de <i>Salmonella</i> B Antígeno flagelar B suspensas em solução salina. Contém 0,1% de formol como preservativo. |
| Widal H | Suspensão bacteriana de <i>Salmonella</i> H Antígeno flagelar D suspensas em solução salina. Contém 0,1% de formol como preservativo. |

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios de desempenho.

3. AMOSTRA**a- Preparo do paciente**

Apesar do jejum prévio não ser necessário, recomenda-se sempre que possível que o paciente seja instruído a manter jejum de 8 a 12h antes da coleta, para evitar uma possível ocorrência de fenômenos interferentes tais como a lipemia.

b- Tipos de amostra

A amostra para a prova é o soro (não usar plasma) recém-obtido, separado o mais rapidamente possível do coágulo após a coleta, isento de hemólise ou lipemia.

c- Armazenamento e estabilidade

Entre a coleta e a execução da análise, a amostra deve ser mantida em geladeira (2-8 °C)

d- Critérios para rejeição

As amostras que se apresentarem hemolisadas, lipêmicas, com indícios de contaminação microbiana ou de congelamento deverão ser rejeitadas.

e- Precauções e cuidados especiais

- Todas as amostras devem ser manipuladas com extrema cautela, pois podem veicular diversas doenças infecto-contagiosas (hepatite, SIDA etc.). Seu descarte deve ser feito preferencialmente após sua autoclavagem devendo-se evitar sua eliminação diretamente no meio ambiente. Igual cuidado se recomenda no descarte de outros materiais como ponteiros plásticos, agulhas e seringas.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO**a- Princípio de técnica**

O soro em análise é diluído e as diluições colocadas em contato com reagentes que contêm antígenos somático (grupo D) e flagelares (a, b e d) de *Salmonella*. Após 1 minuto de agitação o material é analisado pesquisando-se a ocorrência de aglutinação (prova positiva) ou não. Caso a prova em lâmina apresente-se positiva, deve-se obrigatoriamente haver confirmação do resultado com a prova em tubo.

b- Reagentes

- *Salmonella* O Antígeno somático do grupo D;
- *Salmonella* A Antígeno flagelar a;
- *Salmonella* B Antígeno flagelar b;
- *Salmonella* H Antígeno flagelar d.

Os antígenos flagelares usam como preservativo o formol, e os antígenos somáticos o fenol.

c- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte o conjunto pode ser mantido em temperatura ambiente no máximo 72 h. No laboratório deve ser armazenado em geladeira (2 a 8 °C) aonde permanece estável até a data de validade expressa em rótulo desde que isento de contaminação química ou microbiana. Não congelar nenhum dos componentes do conjunto.

d- Precauções e cuidados especiais

- Os reagentes destinam-se ao uso diagnóstico *in vitro*, não devendo ser ingeridos ou entrar em contato com a pele e mucosas;
- Devem-se manipular os reagentes com cautela no sentido de evitar sua contaminação química ou biológica.
- Os procedimentos de manuseio referentes ao processamento e manuseio para o descarte deverá estar de acordo com a RDC 222,

DE 28 DE MARÇO DE 2018 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

6. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não incluídos)

- Lâmina de vidro;
- Aglutinoscópio ou dispositivo similar de iluminação;
- Pipetas graduadas;
- Tubos de ensaio e estante;
- Banho-maria;
- Cronômetro;
- Solução fisiológica formalinizada (5 mL de formalina em cada 100 mL de solução salina fisiológica).

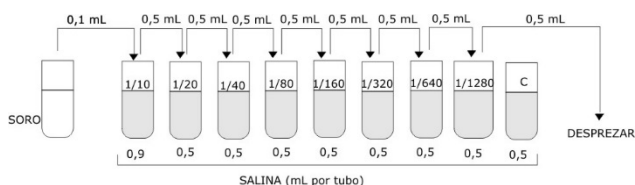
7. PROCEDIMENTO TÉCNICO

7.1 Prova em lâmina (triagem)

- Deixar que os reagentes e amostras adquiram a temperatura ambiente;
 - Em uma lâmina de vidro transparente de 10x20 cm pipetar em fila 0,08 - 0,04 - 0,02 - 0,01 - 0,005 mL de soro (usar pipeta de 0,2 mL com graduação milesimal);
 - Agitar vigorosamente os antígenos, colocar uma gota do antígeno selecionado sobre cada gota de soro e misturar bem com um bastão ou dispositivo similar; as diluições obtidas são respectivamente 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 e 1/320;
 - Agitar a placa em movimentos longitudinais suaves 15 a 20 vezes e após 1 minuto ler os resultados sobre um aglutinoscópio ou dispositivo similar de iluminação, pesquisando a ocorrência ou não de aglutinação visível a olho nu (não usar microscópio);
- O procedimento deverá ser repetido para cada antígeno testado.

7.2 Prova em tubo (confirmatória)

- Identificar 9 tubos de ensaio (1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640, 1/1280 e controle do antígeno), acrescentando a seguir 0,9 mL de salina ao primeiro tubo e 0,5 mL ao restante dos tubos;
- Pipetar 0,1 mL de soro para o primeiro tubo (1/10) homogeneizando bem, e a seguir, transferir 0,5 mL desta diluição para o segundo tubo, homogeneizando e transferindo 0,5 mL da diluição para o próximo tubo e assim por diante até o oitavo tubo tubo, desprezando então a última alíquota;



- Preparar as diluições dos antígenos para uso, misturando 1 parte de antígeno com 19 partes de salina formalizada (5 mL de formalina em cada 100 mL de solução salina fisiológica);
- Adicionar 0,5 mL de antígeno diluído a cada tubo contendo a diluição de soro (partindo do tubo 2 - 1/20 até o tubo de controle) e agitar a estante;
- Incubar em Banho-Maria nas seguintes condições:
 - Antígeno de Salmonella O: 16-18 horas a 50 °C;
 - Antígeno de Salmonella H: 1 hora a 50 °C;

- Ler os resultados observando cada tubo sob um aglutinoscópio ou dispositivo similar, verificando a ocorrência de aglutinação de forma a obter o título (o último não deve apresentar nenhuma aglutinação, apenas turbidez):

1:20 (tubo 2), 1:40 (tubo 3), 1:80 (tubo 4), 1:160 (tubo 5), 1:320 (tubo 6), 1:640 (tubo 7) e 1:1280 (tubo 8).

7.3 Precauções e cuidados especiais

- Seguir rigorosamente as condições de incubação;
- Agitar vigorosamente os antígenos antes do uso para evitar que permaneçam grumos durante a leitura;
- Confirmar pela prova em tubo os resultados da prova em lâmina;

- Padrões de aglutinação obtidos (para a prova em tubo):

4+ : Completa aglutinação (sobrenadante claro)
 3+ : Cerca de 75% das células aglutinadas (sobrenadante claro)
 2+ : Cerca de 50% das células aglutinadas (sobrenadante moderadamente turvo)
 1+ : Cerca de 25% das células aglutinadas (sobrenadante turvo).
 Este padrão é considerado negativo.

8. RESULTADOS

Os resultados devem expressar a reatividade da amostra frente aos antígenos testados, indicando sempre o título obtido. Exemplo:

- Salmonella O (Grupo D - Tifóide O): amostra analisada não reagente.
- Salmonella H (Antígeno d - Tifóide H): amostra analisada não reagente.
- Salmonella H (Antígeno a - Para A): amostra analisada reagente com título 1:80.
- Salmonella H (Antígeno b - Para B): amostra analisada não reagente.

| INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS | | |
|---|-------------------|-------------------------------|
| Antígeno | Patologia | Título significativo |
| Salmonella O (Grupo D) – Tifóide O | Febre tifóide | 1:80* após 1:160 é indicativo |
| Salmonella H (Antígeno d) – Tifóide H | Febre tifóide | 1:80 |
| Salmonella H (Antígeno a) - Para A | Febre paratífóide | 1:80* |
| Salmonella H (Antígeno b) - Para B | Febre paratífóide | 1:80* |
| *Significativo em indivíduos não vacinados | | |

9. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- Amostras de pacientes que utilizam drogas de abuso podem apresentar alguma reatividade;
- Vacinação prévia com os antígenos de salmonelas resulta em título de anticorpos particularmente nos antígenos H;
- Pacientes com doenças hepáticas crônicas podem apresentar títulos de aglutininas elevados;
- Diferenças de um título a mais ou a menos em amostras coletadas com 1-2 semanas de diferença, ou em amostras repetidas em paralelo não são significativas, sendo uma margem de erro aceitável;
- O armazenamento prolongado dos reagentes pode ocasionar a formação de grumos que não se dissolvem;
- Em climas quentes, as bordas podem sofrer ressecamento, que não deve ser confundido com aglutinação;
- Nos casos de febre tifóide o soro aglutina frequentemente com o antígeno O da Salmonella do grupo B (paratífóide b) mas raramente com o grupo A.

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- Materiais necessários

- Controle de qualidade recomendado:

| Parâmetro | Resultado esperado |
|--|---------------------------------------|
| Amostras negativas | Ausência de aglutinação |
| Amostras positivas em diferentes concentrações | Agutinação, reatividade entre 1+ a 4+ |

- Materiais necessários

Controle positivo e negativo obtido normalmente a partir de amostras clínicas.

- Periodicidade

Ao receber o conjunto, efetuar testes usando os controles. Quando da execução de uma bateria de testes, recomenda-se a realização dos controles a cada bateria de teste.

- Interpretação e avaliação

Uma vez que a função do controle de qualidade é garantir que o material usado esteja fornecendo resultados compatíveis com os esperados e dentro de um padrão de desempenho, espera-se que o controle positivo apresente aglutinação e que o controle negativo não apresente aglutinação. Amostras com título conhecido podem ser usadas para avaliar a sensibilidade do material em periodicidade a ser estabelecida pelo próprio laboratório conforme seus procedimentos adotados.

11. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário:

- que o usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
- que os materiais estejam sendo armazenados em condições adequadas;
- que os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.

Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser solicitados junto ao SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente, bem como em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, através do telefone 0800-410027. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente.

RISCOS RESIDUAIS**Riscos residuais identificados de acordo com RDC 36/2015**

Os resultados falsamente positivos ou negativos, riscos associados à instabilidade, que poderiam levar a resultados errôneos, danos relacionados ao usuário, podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- O uso de reagente com partículas ressecadas pode simular uma reação falsamente positiva;
- Não congelar nenhum dos componentes.
- Após abertos, os componentes tornam-se suscetíveis a contaminações químicas ou microbianas que podem inviabilizar sua utilização.
- Manter os frascos sempre fechados de maneira a evitar ressecamento das partículas;
- Os reagentes se destinam ao uso diagnóstico in vitro, não devendo ser ingeridos ou entrar em contato com a pele e mucosas;
- Deve-se evitar o uso de materiais que possam contaminar os reagentes, tais como ponteiros plásticos de micropipetador reaproveitados;
- Não homogeneizar a suspensão energicamente;
- Usar microscópio para analisar os resultados;
- Rotação da lâmina muito rápida pode ocasionar a ruptura das ligações entre os anticorpos da amostra e as partículas causando resultado falsamente negativo;

- O uso de reagente com partículas ressecadas pode simular uma reação falsamente positiva;
- Interpretação equivocada de resultados.
- Tempo excessivo ou insuficiente de agitação da lâmina. Tempo excessivo de agitação fornece resultados falsamente positivos e tempo insuficiente fornece resultados falsamente negativos.
- Utilização de material vencido, contaminado ou em condições inadequadas.
- Não aguardar para que os materiais atinjam a temperatura ambiente no momento do uso.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Grunbaum, A.S. Lancet, 2: 208, 1896.
2. Koneman, Elmer; et al. Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA, 5th ed., 1997.
3. Protell, R.L., Soloway, R.D.; Martin, W.J.; Schoenfield, and Summerski, W.H.J. Lancet 22:330, 1970.
4. Quality Control in Clinical Microbiology, Revised, ASCP Comm. on Continuing Education, Coun. on Micr., 1968. J. Infec. Dis., 42, 242, 1928.
5. Sultana S, Hossain MA, Alam MA, Paul SK, Kabir MR, Hoque SM, Yesmin T, Habiba U, Sarkar SR, Maruf MA, Halim PI, Hoque MR. Comparative study of immunochromatographic assay (IgM) and widal test for early diagnosis of typhoid fever Mymensingh Med J., 21(4):600-4, 2012.
6. Spink, W.W.; Mc Cullough, N.B.; Hutchings, L.H. Amer. Clin. Path., 24:486, 1954.
7. Syphilis, A Syphilis synopsis, US Dep. of Health Ed. and Welf, Publ. Health, Serv. Publ. No 1660, Jan. 1968.
8. Widal, F.; Bull. Soc. Med. Hosp. De Paris 13, 1896.
9. Voge, H.; Cherubin, C.E. and Millian, S. J. Amer. J. Clin. Path., 53:932, 1970.



Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

CNPJ 76.619.113/0001-31

Insc. Estadual 1370012926

Rua Casimiro de Abreu, 521

Pinhais/PR CEP 83.321-210

Telefone 041 36619000

www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:










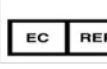
















Ana Lúcia Monteiro – CRF/PR-5972

Serviço de Assessoria ao Cliente

SAC 0800-410027

sac@laborclin.com.br

ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

| | | | |
|---|--|---|---|
|  | Código do produto |  | Número de lote |
|  | Número de série |  | Fabricante |
|  | Consultar instruções para utilização |  | Validade |
|  | Temperatura de armazenagem (limite de temperatura) |  | Produto para saúde para diagnóstico <i>in vitro</i> |
|  | Não utilizar se a embalagem estiver danificada |  | Representante autorizado na Comunidade Europeia. |
|  | Quantidade suficiente para <n> ensaios |  | Frágil, manusear com cuidado |
|  | Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento |  | Esterilização utilizando óxido de etileno |
|  | Esterilização utilizando irradiação |  | Esterilizado utilizando vapor ou calor seco |
|  | Risco biológico |  | Cuidado. Importante consultar instruções de uso |
|  | Controle |  | Controle negativo |
|  | Controle positivo |  | Manter seco |
|  | Manter afastado de luz solar e longe do calor |  | Somente para avaliação de desempenho de IVD |
|  | Não reutilizar |  | Não reesterilizar |

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Segunda edição (28.07.2015)