

## Prueba *Atlas* de antígenos Febril

### Una prueba cualitativa y semi-cuantitativa para la detección de aglutininas en infecciones bacterianas.

Para uso *In-Vitro* y profesional solamente. Almacenar de 2 a 8°C.

#### Uso previsto:

Para la detección cualitativa y semi-cuantitativa de aglutininas en infección bacteriana.

#### Introducción & Principios:

Los anticuerpos se forman en casos de infección humana con varios agentes microbiológicos. Mezclar estos anticuerpos con el antígeno homólogo correspondiente provoca aglutinación bajo condiciones controladas. La aglutinación es macroscópicamente visible. Para propósitos de proyección, los antígenos pueden ser usados en una prueba rápida cualitativa de diapositiva. Los resultados positivos pueden ser confirmados con la prueba de tubo cuantitativa para verificar la concentración de anticuerpos.

#### Materiales.

#### Materiales Provistos.

El kit *Atlas Febrile* contiene los siguientes antígenos:

- Brucella
- Proteus
- Salmonella O
- Salmonella H

(Todos los antígenos febriles contienen preservativo fenol 0.5%, excepto el antígeno Salmonella H el cual contiene formalina 0.5%).

El kit también contiene:

- Antisuero de control positivo para Brucella abortus, Brucella Melitensis, Salmonella H grupos A, B, C; T

Salmonella O grupos A, B, C, T, Proteus OX19, OX2 Y OXK.

- Antisuero de control negativo.

Los controles son estabilizados con glicerina y contienen 0.01% de Mertiolate.

#### NOTA

(Este folleto insertado es también usado para antígenos febriles individuales).

#### Materiales necesitados pero no provistos:

- Pipetas
- Cloruro de sodio 0.85% NaCl libre de preservativo y fuente de luz.

#### Requerimientos adicionales para pruebas de diapositiva:

- Diapositivas de vidrio
- Barra aplicadora y lápiz de cera.

#### Requerimientos adicionales para pruebas de tubo:

- Tubos de prueba 13x100mm.
- Estante de tubos.
- Frasco de vidrio para dilución.
- Baño de agua.

#### Precauciones:

- Los reactivos deben ser almacenados en posición vertical y refrigerados entre 2 a 8°C. Nunca congelar.
- Los reactivos deben ser traídos a temperatura ambiente y bien mezclados para obtener una suspensión uniforme de antígenos.
- Los antígenos son para diagnósticos *In-Vitro* solamente.
- Siempre incluir controles antisuero positivo y negativo así como también un control salino en cada procedimiento de prueba.

#### Preparando la muestra

El antígeno ATLAS Febrile puede ser usado con suero almacenado de 2 a 8°C. La prueba requiere suero recolectado de 5-10ml de una muestra de sangre entera. El suero debe ser separado rápidamente para evitar cualquier exceso de hemolisis y no debe ser inactivado. Debe estar limpio y libre de contaminación bacteriana.

#### Procedimientos

##### 1. Procedimiento cualitativo.

##### A. Prueba rápida de diapositiva.

1. Traer los reactivos y muestras a temperatura ambiente. La sensibilidad de la prueba debe ser reducida a bajas temperaturas.
2. Coloque 50µl de la muestra a ser probada (Nota 1 y 2) y una gota de cada control en círculos separados de la prueba de diapositiva.
3. Gire el vial antígeno gentilmente antes de usar. Añada una gota (50µl) del antígeno en cada círculo próximo a la muestra a ser probada.
4. Mezcle con un agitador y riegue sobre el área completa circundada por el círculo.
5. Coloque la diapositiva en un rotador mecánico a 80-100 r.p.m., por un minuto.
6. Lea los resultados inmediatamente en buena luz indirecta notando donde las aglutinaciones son visibles.

##### B. Prueba de Diapositiva de Concentración.

1. Traer los reactivos a temperatura ambiente.
2. Usando el lápiz de cera, divida una limpia y transparente diapositiva de vidrio en 5 círculos de 3cm de diámetros.
3. Coloque 80µl, 40µl, 20µl, 10µl, 5µl de suero de prueba (limpio y sin calentar) en estos círculos consecutivamente.

4. Agite bien el antígeno y añada una gota en cada círculo. Las diluciones de los círculos son 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, y 1:320 respectivamente. Mezcle usando la barra aplicadora.

5. Repita los pasos 5-6 arriba mencionados.

### Lectura de los resultados cualitativos.

Los resultados son interpretados de acuerdo al grado de aglutinación.

Grado de aglutinación	Resultado
100% en fluido flotante claro	4+
75% en fluido ligeramente turbio	3+
50% en fluido flotante moderadamente turbio	2+
25% en fluido flotante nublado	1+
Sin aglutinación	Negativo

La concentración en este método es aproximada y determinada al 50% de aglutinación. El procedimiento cuantitativo es más recomendado para determinar la concentración de la muestra. Los resultados deben leerse en un minuto.

### 2. Procedimiento semi-cuantitativo.

1. Prepare 10 tubos de prueba en un estante.

2. En el tubo 1, añada 950µl de solución NaCl al 0.85%.

3. En los tubos del 2-10, añada 500µl de solución NaCl al 0.85%.

4. Coloque 50µl de la muestra de suero en el tubo 1 y mezcle bien.

5. Comenzando desde el tubo 1, prepare una doble solución serial transfiriendo 500µl de un tubo al siguiente tubo. Mezcle bien en cada transferencia. Elimine 500µl del último tubo.

6. Repita paso 5 para los controles positivos y negativos.

7. En un nuevo tubo de prueba etiquetado "Control Salino", coloque 500µl de solución NaCl al 0.85%.

8. Mezclar bien los antígenos.

9. Añada una gota de antígeno a cada tubo de prueba y mezcle bien el estante. La dilución final del suero es 1:20...1:10240.

10. Incubar las muestras en baño de agua como sigue:

Antígeno	Tiempo de incubación	Temperatura
Antígenos Salmonella O	24 horas	37°C
Antígenos Salmonella H	24 horas	37°C
Antígenos Proteus	24 horas	37°C
Antígenos Brucella	24 horas	37°C

11. Al final del período de incubación, gentilmente remueva el estante del baño de agua para evitar suspensiones molestosas.

12. Examina cada tubo por turno y observe la aglutinación. Interpretar los resultados como en las pruebas cualitativas.

### Leyendo los resultados cuantitativos.

La dilución de los tubos es como sigue:

1	2	3	4	5
1:20	1:40	1:80	1:160	1:320
6	7	8	9	10
1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240

La concentración de la muestra es leída de acuerdo a la dilución del tubo de prueba con 2+ (50%) del nivel de aglutinación.

Repita la prueba si hay aglutinación en el control salino o negativo o si no hay aglutinación en el control positivo.

### NOTAS

1. En algunas áreas geográficas con una alta prevalencia de anticuerpos febriles, es recomendado diluir la muestra ¼ en NaCl 9g/l antes de realizar el ensayo.

2. El procedimiento de incubación puede acelerado incubando como sigue:

- Antígenos Somático (O) y Proteus: 48-50°C por 4 horas.

- Antígenos Flagelar (H): 48-50°C por 2 horas.

3. Un simple resultado positivo tiene menos significado que la demostración de una concentración creciente o descendiente de anticuerpos como evidencia de infección. No debe realizarse un diagnóstico clínico basado en los hallazgos de un simple resultado de una prueba, sino que deben integrarse la data clínica y de laboratorio.

4. Una reacción somática (O) se caracteriza por una aglutinación compacta, áspera, que tiende a ser difícil de dispersar, mientras que *flagelar* (H) tiene una característica floja, una aglutinación floculante.

### Limitación.

- En algunos casos de no infección, aglutinaciones no específicas pueden aparecer y reaccionar con los antígenos febriles produciendo falsos resultados.
- Algunas vacunas pueden a su vez producir aglutinaciones que reaccionan con los antígenos febriles produciendo falsos resultados.
- Los médicos deben siempre evaluar todos los hallazgos clínicos y de laboratorio antes de hacer un diagnóstico definitivo.

Enfermedad	Reactivo antígeno	Presencia de anticuerpos	Pico de producción	Concentración
Brucellosis	B. Abortus	2-3 débiles	3-5 débiles	1:80
Fiebre paratifoidea	Salmone lla Flag a	2-3 débiles	4-5 débiles	1:80
Fiebre paratifoidea	Salmone lla Flag b	2-3 débiles	4-5 débiles	1:80
Fiebre de las Montañas Rocosas	Proteus OX 19	2-3 débiles	2-r débiles	1:160
Fiebre tifoidea	Tifoidea H	2-3 débiles	4-5 débiles	1:80
Fiebre tifoidea	Tifoidea O	1-2 débiles	4-5 débiles	1:80
Tifus	Proteus OX 19	1-2 débiles	2-3 débiles	1:160

### Significativo en individuos no vacunados