

EBRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho
São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811
CEP 03059-001 | Indústria Brasileira
CNPJ.: 50.657.402/0001-31

RESPONSÁVEL TÉCNICA

Dra. Nadjara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**
11 2291 2811 ou sac@ebram.com
www.ebram.com



WIDALA, B, O e H (Febre Tifóide e Paratífóide)

REG. MS: 10159820007

Revisão: Abril/2021

SIGNIFICADO CLÍNICO. Os alimentos e água contaminados são mecanismos de contágio da febre tifóide que é uma doença bacteriana aguda, de gravidade variável que se caracteriza por febre, mal-estar, cefaléia, náusea, vômito e dor abdominal, podendo ser acompanhada de erupção cutânea. É uma doença endêmica em muitos países em desenvolvimento, particularmente, no Subcontinente Indiano, na América do Sul e Central, e África, com uma incidência (por 100.000 habitantes por ano) de 150 na América do Sul e 900 na Ásia. A doença pode ser fatal se não tratada e mata cerca de 10% de todas as pessoas infectadas.

PRINCÍPIO DO TESTE. A reação de Widal auxilia o diagnóstico da febre tifóide e paratífóide. Através de suspensões homogêneas de bacilos típicos e paratíficos "A" ou "B" colocadas in vitro em contato com o soro, diagnostica-se o agente específico causador da infecção. Empregam-se na reação de Widal, também os Antígenos "O" somático e "H" flagelar que lhe aumentam o valor diagnóstico. O soro dos doentes de febre tifóide contém anticorpos dirigidos contra os antígenos "O" e "H" de *S. typhi* ou de outras salmonelas envolvidas no processo infeccioso.

INFORMAÇÕES GERAIS.

Metodologia: Aglutinação Bacteriana
Temperatura da análise: 18 - 25°C
Amostra: soro não diluído
Interpretação: visual

REAGENTES.

- Reagente Antígeno Bacteriano** - Frascos com 3 mL (A, B, O e H) Suspensão de Salmonella em Buffer Glicina pH 8,2 e Azida Sódica 0.95 g/L
- A- Antígenos Paratyphoid A (salmonella, antígeno flagelar a)
- B- Antígenos Paratyphoid B (salmonella, antígeno flagelar b)
- O- Antígenos Typhoid O (salmonella, antígeno somático O)
- H- Antígenos Typhoid H (salmonella, antígeno flagelar d)
- Controle Positivo** - Frasco com 0,5 mL. Matriz soro animal, anticorpos Salmonella > 50 UI/mL, azida sódica 0.95 g/L
- Placa de PVC para leitura**

ESTABILIDADE E ARMAZENAGEM.

- Condições: Fechar imediatamente após o uso Não congelar
- Armazenamento: à 2 - 8 °C
- Estabilidade: até a data de validade

AMOSTRA.

Soro: 7 dias de 2- 8°C
3 meses à (- 20°C)

- Amostras contendo fibrina devem ser centrifugadas.
- Não usar amostras contaminadas, hemolisadas ou amostras lipêmicas.
- Não necessita de inativação

INTERFERÊNCIAS.

- Hemoglobina até 10 mg/dL, Lipemia até 10 g/dL, Fator Reumatóide até 300 UI/mL e Bilirrubina até 20 mg/dL não interferem na reação.

CONTROLE DE QUALIDADE. Os controles positivos e negativos (usar solução fisiológica) são recomendados para monitorar o desempenho do procedimento, assim como um teste padrão comparativo para uma interpretação melhor do resultado.

LIMITAÇÃO DO PROCEDIMENTO. O diagnóstico clínico não deve ser feito em preenchimento de um único resultado de teste, mas deve integrar dados clínicos e do laboratório.

PRECAUÇÕES.

- Usado para diagnóstico "In Vitro".
- Todos os componentes de origem humana apresentaram resultados negativos para antígeno HBs e para o anti-HIV. No entanto, devem ser tratados com precaução como potencialmente infecciosos.
- Os antígenos devem estar homogêneo antes do uso. Isto pode ser realizado por inversão cuidadosa dos frascos de reagente antes do uso. Não agitar vigorosamente.
- O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se os critérios de biossegurança de acordo com a legislação vigente.
- Seguir exatamente a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- Ler imediatamente após 1 minuto, pois a demora para leitura poderá apresentar resultado falso-positivo
- Contaminação bacteriana nos reagentes, nas amostras ou solução salina, congelamento dos antígenos e resíduos de detergente nos tubos geralmente são causas de resultados falso positivos.

PROCEDIMENTO PARA O MÉTODO QUALITATIVO.

Nota: Deixar todos os reagentes e as amostras atingirem a temperatura ambiente e agitar o reagente gentilmente antes do uso.

- Colocar 50µL do reagente em divisões separadas da placa, para as amostras a serem testadas, bem como para os controles positivo e negativo.
- Adicionar 50µL de cada amostra não diluída e uma gota de cada controle não diluído.
- Homogeneizar, estendendo o líquido igualmente sobre cada divisão da placa.
- Agitar a placa com suave movimento de rotação manualmente ou em agitador automático de 80-100 rpm durante 1 minuto, e observar a aglutinação sob luz incidente.
- Marcar os resultados.

Interpretação dos resultados.

Qualitativo: Examinar macroscopicamente a presença ou ausência de aglutinação logo após 1 minuto.



Amostras que apresentarem aglutinação no teste qualitativo (amostra pura) deve-se proceder o teste semi-quantitativo para confirmação.

PROCEDIMENTO PARA O MÉTODO SEMI-QUANTITATIVO.

- Identificar 8 tubos para diluição da amostra (1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640, controle negativo e positivo)
- Pipetar conforme tabela abaixo os volumes da amostra em cada divisão

TUBO	1	2	3	4	5	6
Solução Salina (mL)	1,9mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Amostra	100µL	-	-	-	-	-
Transferir (mL)		1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Diluição	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640

3. Homogeneizar a salina com a amostra do primeiro tubo e transferir 1,0mL do primeiro tubo para o segundo, homogeneizar e transferir 1,0mL da diluição para o próximo tubo e assim por diante até o sexto tubo, desprezando a última alíquota.
4. Pipetar no tubo dos controles (7 e 8), 0,9mL de salina e 100µL de cada controle.
5. Adicionar em seguida 50µL do reagente dentro de cada tubo, homogeneizar
6. Incubar todos os tubos a 37°C por 24h.

Obs.: A incubação pode ser acelerada:

- Somático: 48 - 50°C por 4 horas
- Flagelar: 48 - 50°C por 2 horas

Leitura e interpretação dos resultados. Ler os resultados observando cada tubo macroscopicamente comparando com os tubos dos controles. Controle positivo deverá apresentar aglutinação parcial ou completa e controle negativo não deverá apresentar aglutinação.

O título no método semi-quantitativo, é definido assim que a maior diluição mostrar um resultado positivo.

- 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.

VALORES ESPERADOS. Amostras com títulos entre 1:40 e 1:80 são suspeitos de doença. Amostras com títulos maiores que 1:80 (antígeno somático) e 1:160 (antígeno flagelar) juntamente com a sintomatologia clínica do paciente são considerados provas concluintes para o diagnóstico da doença.


LIMITAÇÕES DO MÉTODO.

- Resultados falso negativos podem ser obtidos na fase inicial da doença e durante o tratamento com antibióticos. Soros de pacientes sem resposta imune ou com baixa resposta também produzirão resultados falsamente negativos.
- Reações cruzadas com Brucella foram observadas em casos de infecção ou vacinação com espécies de Vibrio cholerae, Pasteurella, Proteus OX19 e Y enterolítica, sorotipo 9.
- A sensibilidade do teste é reduzida em baixas temperaturas, os melhores resultados são encontrados acima de 10°C.
- Nas áreas com prevalência de anticorpos febris alta, é recomendado a diluição da amostra 1/4 com solução de NaCl (9 g/L) antes de realizar o teste.

REFERÊNCIAS.

1. Young E.J. Clinical Disease 1995; 21: 283-290
2. Lima, A.O et al.: Métodos de laboratório aplicados à Clínica, Rio de Janeiro, 14 : 285, 1977 - 5ª edição

SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

 CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO	 REAGENTE	 FABRICADO POR
 O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES	 DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MÊS)	 NÚMERO DO LOTE
 LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)	 PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO	 NÚMERO DO CATÁLOGO
 CONTROLE	 CONTROLE NEGATIVO	 CONTROLE POSITIVO