



WIDAL A, B, O e H

(Febre Tifóide e Paratifóide)

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 paratifóide. Através de suspensões homogêneas de bacilos típicos e paratípicos "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 D)
- 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 vidro 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: 8 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:

Não interferência até:
 Hemoglobina 10 mg/dL
 Lipemina 10 g/dL
 Fator Reumatóide 300 UI/mL
 Bilirrubina 20 mg/dL

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 2 minutos, pois a demora para leitura poderá apresentar resultado falso-positivo

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

- 1 - Colocar 50µL do reagente em divisões separadas da placa, para as amostras a serem testadas, bem como para os controles positivo e negativo.
- 2 - Adicionar 50µL de cada amostra não diluída e uma gota de cada controle não diluído.
- 3 - Homogeneizar, estendendo o líquido igualmente sobre cada divisão da placa.
- 4 - Agitar a placa com suave movimento de rotação manualmente ou em agitador automático de 80-100 rpm durante 2 minutos, e observar a aglutinação sob luz incidente.
- 5 - Marcar os resultados.

Interpretação dos Resultados:

Qualitativo: Examinar macroscopicamente a presença ou ausência de aglutinação logo após 2 minutos .



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

Procedimento para o Método Semi-Quantitativo:

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

Tubos	1	2	3	4	5	6
Sol. Salina	1,9 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
A m o s t r a	1 00 µL	-	-	-	-	-
T r a n s f e r i r		1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
D i l u i ç ã o	1/2 0	1/4 0	1/8 0	1/1 60	1/3 20	1/6 40

- 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 100uL de cada controle.
- 5 -Adicionar em seguida 50uL 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:

Ler os resultados observando cada tubo sob macroscopicamente comparando com os tubo dos controles. Controle positivo deverá apresentar aglutinação parcial ou completa, e controle negativos 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 juntamente com a sintomatologia clínica do paciente são considerados provas concluintes para o diagnósticos 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 falso 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 (9g/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
3. Vogel, H et al., J Amer. J. Clin. Path., 53, 932, 1970.
4. David R et al. Current Opinion in Infectious Disease 1994; 7: 616-623
5. Coulter JBS. Current Pediatrics 1996; 6: 25-29
6. Angerman HS. J Reprod Med 1980; 25:63

WIDAL A, B, O e H

REAÇÃO DE WIDAL

Teste em placa por aglutinação para febre tifóide e paratífóide.

Ebram Produtos Laboratoriais Ltda.
Rua Júlio de Castilhos nº 500 – Belenzinho
São Paulo – SP – CEP 03059-001
Indústria Brasileira
@ Marca Registrada
CNPJ: 50.657.402/0001-31
Resp. Téc.: Dra. Nadjara Novaes
CRF-SP.: 37.451
Nº Reg. MS: 10159820007
Departamento de Assistência ao Cliente
Telefone: (0**11) 2291-2811
e-mail: sac@ebram.com
www.ebram.com

ed: jul/2010