

Nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão (POP) WIDAL "A", "B", "O" e "H"	Página 1 de 4 POP xxx Revisão: 00
----------------------------	--	--

WIDAL "A", "B", "O" e "H"

SIGNIFICADO CLÍNICO

Os alimentos e água contaminados são mecanismos de contágio da febre tifoide 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

A reação de Widal auxilia o diagnóstico da febre tifóide e paratífóide. 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 tifoide contém anticorpos dirigidos contra os antígenos "O" e "H" de *S. typhi* ou de outras salmonelas envolvidas no processo infeccioso.

REAGENTES:

Kit para 60 testes por sorotipo

- **Widal "A"** - Frascos com 3 mL. Suspensão de Salmonella em Buffer Glicina pH 8,2 e Azida Sódica 0.95 g/L. Antígenos Paratyphoid A (salmonella, antígeno flagelar a).
- **Widal "B"** - Frascos com 3 mL. Suspensão de Salmonella em Buffer Glicina pH 8,2 e Azida Sódica 0.95 g/L. Antígenos Paratyphoid B (salmonela, antígeno flagelar b).
- **Widal "O"** - Frascos com 3 mL. Suspensão de Salmonella em Buffer Glicina pH 8,2 e Azida Sódica 0.95 g/L. Antígenos Typhoid O (salmonella, antígeno somático O).
- **Widal "H"** - Frascos com 3 mL. Suspensão de Salmonella em Buffer Glicina pH 8,2 e Azida Sódica 0.95 g/L. Antígenos Typhoid H (salmonella, antígeno flagelar D).

• Placas de leitura

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Relógio
- Tubos de ensaio para titulações
- Estantes para tubos de ensaio
- Salina 0,85%
- Pipetas sorológicas
- Ponteiras
- Espátulas descartáveis

ARMAZENAMENTO

- A temperatura de armazenamento deverá ser 2º a 8ºC, exceto as placas que podem ser armazenados à temperatura ambiente.
- Manter ao abrigo da luz e evitar umidade
- Não congelar
- Os produtos são estáveis até a data de validade que consta no rótulo do produto

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.

Nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão (POP) WIDAL “A”, “B”, “O” e “H”	Página 2 de 4 POP xxx Revisão: 00
----------------------------	--	--

AMOSTRAS

Soro: 7 dias entre 2 - 8°C e 3 meses a -20°C.

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

PROCEDIMENTO

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 1 minuto, 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 1 minuto.

POSITIVO
HÁ AGLUTINAÇÃO



NEGATIVO
NÃO HÁ AGLUTINAÇÃO



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	1,9mL	1,0mL	1,0mL	1,0mL	1,0mL	1,0mL
Amostra	100µL	-	-	-	-	-
Transferir		1,0mL	1,0mL	1,0mL	1,0mL	1,0mL
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:

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.

Nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão (POP) WIDAL “A”, “B”, “O” e “H”	Página 3 de 4 POP xxx Revisão: 00
----------------------------	--	--

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.

VALORES DE REFERÊNCIA

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 PROCEDIMENTO

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

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.

GARANTIA DE QUALIDADE

Este produto é garantido pela Ebram Produtos Laboratoriais Ltda se conservado na temperatura recomendada, utilizado durante o prazo de validade e seguindo recomendações do rótulo e dessa instrução de uso.

REFERÊNCIAS

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

INFORMAÇÕES DO FABRICANTE

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 Longen
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

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por:			__/__/__
Aprovado por:			__/__/__
Implantado por:			__/__/__
Substitui POP:			
Revisado por:			__/__/__
Revisado por:			__/__/__
Revisado por:			__/__/__
Desativado por:			__/__/__
Razão:			

	Número	Destino
Cópias		