

<b>Nome do Laboratório</b>	<b>Procedimento Operacional Padrão (POP)</b>	<b>Página 1 de 4</b>
	<b>WIDAL “A”, “B”, “O” e “H”</b>	<b>POP xxx</b> <b>Revisão: 00</b>

## **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 paratifóide. Através de suspensões homogêneas de bacilos tíficos 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 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, congelação dos antígenos e resíduos de detergente nos tubos geralmente são causas de resultados falso positivos.

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

## 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.

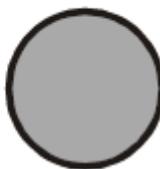
### Interpretação dos Resultados:

**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
<b>Sol. Salina</b>	1,9mL	1,0mL	1,0mL	1,0mL	1,0mL	1,0mL
<b>Amostra</b>	100µL	-	-	-	-	-
<b>Transferir</b>		1,0mL	1,0mL	1,0mL	1,0mL	1,0mL
<b>Diluição</b>	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.

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

## 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 - 5º 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](http://www.ebram.com)

	<b>Nome</b>	<b>Assinatura</b>	<b>Data</b>
<b>Elaborado por:</b>			/ /
<b>Aprovado por:</b>			/ /
<b>Implantado por:</b>			/ /
<b>Substitui POP:</b>			
<b>Revisado por:</b>			/ /
<b>Revisado por:</b>			/ /
<b>Revisado por:</b>			/ /
<b>Desativado por:</b>			/ /
<b>Razão:</b>			

<b>Número</b>	<b>Destino</b>
<b>Cópias</b>	