

## ANTIGENOS BACTERIANOS (AGLUTINACION EN PORTA Y TUBO)

Reactivos para la determinación de anticuerpos frente a antígenos febriles

Solo para uso in vitro en el laboratorio clínico

Conservar a 2-8°C

1 x 5 mL

## BACTERIAL ANTIGENS

### PRINCIPIO DEL METODO

Los Antígenos Bacterianos son una técnica de aglutinación en porta y en tubo para la detección y semicuantificación de anticuerpos específicos que se desarrollan durante algunas infecciones febriles de brucilla, Salmonella y Proteus. Los reactivos son suspensiones coloreadas y estandarizadas que aglutinan en presencia del correspondiente anticuerpo homólogo en las muestras ensayadas.

### SIGNIFICADO CLINICO

El diagnóstico de enfermedades febriles puede establecerse bien sea por el aislamiento del microorganismo en sangre, orina o heces o por la demostración del título de anticuerpos específicos, somáticos (O) y flagelares (H) en el suero del paciente. La determinación de estos anticuerpos forma las bases para el ensayo de Widal que establece que altos niveles de anticuerpos O y H superiores a 1/100 en suero, es indicativo de infección por estos microorganismos<sup>1-5</sup>.

### REACTIVOS

Ref.	Reactivo	Antígeno
SPAA-201	Salmonella paratyphi AH	a flagelar
SPAO-202	Salmonella paratyphi AO	1,2,12, somático
SPBH-203	Salmonella paratyphi BH	b flagelar
SPBO-204	Salmonella paratyphi BO	1,4,5,12 somático
SPCH-205	Salmonella paratyphi CH	c flagelar
SPCH-206	Salmonella paratyphi CO	6,7 somático
STYH-207	Salmonella typhi H	d flagelar
STYO-208	Salmonella typhi O	1,9,12 somático
BRAB-200	Brucella abortus (*)	somático
PROX-209	Proteus OX2	somático
PRXO-210	Proteus OX19	somático
PROK-211	Proteus OXK	somático
PPCT-301	Control + (1 mL)	
PNCT-302	Control - (1 mL)	

(\*): Adecuada también para determinación de anticuerpos anti-*Br. melitensis* y anti-*Br. suis*.

### COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

- Antígenos Bacterianos: Suspensión de Salmonellas, Brucellas y Proteus en tampón glicina, pH 8,2. Azida sódica 0,95 g/L.
- Controles: Suero animal. Azida sódica 0,95 g/L.

### CONSERVACION, PREPARACION Y ESTABILIDAD

Todos los reactivos del kit están listos para su uso, y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. Reactivos y controles listos para su uso. Agitar suavemente antes de usar. Indicadores de deterioro de los reactivos: presencia de turbidez.

### MATERIAL ADICIONAL

- Agitador rotatorio de velocidad regulable a 80-100 r.p.m.
- Estufa 37°C.

### MUESTRAS

Suero fresco. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C. Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes de usar. No utilizar muestras hemolizadas o lipémicas.

### PROCEDIMIENTO

#### Método cualitativo en porta

1. Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente.
2. Depositar 50 µL de la muestra (nota 1-2) a ensayar y una gota de cada uno de los controles Positivo y Negativo, sobre círculos distintos de un porta.
3. Homogeneizar suavemente el reactivo antes del ensayo usar, y dispensar una gota (50 µL) próxima a cada una de las gotas anteriores. Mezclar con la ayuda de un palillo.
4. Situar el porta sobre el agitador rotatorio a 80-100 r.p.m. durante 1 minuto.

#### Método semicuantitativo en porta

Las muestras positivas pueden ser tituladas. El título se define como la dilución mayor que da resultado positivo.

1. Realizar diluciones dobles de la muestra en solución salina 9 g/L.
2. Proceder para cada dilución, como en la prueba cualitativa.

#### Método semicuantitativo en tubo

1. Diluir las muestras de suero 1/20 y los Controles 1/10 con solución salina 9 g/L.
2. Preparar, para cada antígeno a ensayar, una fila de tubos que contenga 1 mL de cada dilución de suero y efectuar para cada muestra de suero series de dobles diluciones en solución salina.
3. Homogeneizar suavemente el reactivo antes del ensayo usar, y dispensar una gota (50 µL) de la suspensión apropiada sobre cada uno de los tubos anteriores.
4. Agitar e incubar los tubos a 37°C durante 24 horas (Nota 3).

### LECTURA E INTERPRETACION (Nota 4)

#### Método aglutinación en porta

Examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de retirar el porta del agitador, y comparar los resultados con los Controles positivo y negativo.

Los resultados obtenidos en el método de titulación en porta, son aproximadamente equivalentes a los que se obtendrían en el método de aglutinación en tubo con diluciones del suero de 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 y 1/320 respectivamente. Cualquier resultado positivo, es aconsejable confirmar el título mediante el método de aglutinación en tubo.

#### Método de aglutinación en tubo

Examinar macroscópicamente el modelo de aglutinación (Nota 5) y comparar los resultados con los obtenidos en los tubos control.

El control positivo debe mostrar aglutinación parcial o completa. El Control negativo no debe mostrar ningún tipo de aglutinación.

Se considera como resultado positivo cualquier grado de aglutinación parcial o completa, con diversos grados de clarificación del sobrenadante. El título de la muestra se define como la dilución mayor que muestra resultado positivo.

### CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar el control positivo y negativo para controlar la funcionalidad de los reactivos, así como modelo de comparación para la interpretación de los resultados.

### VALORES DE REFERENCIA

Son indicativos de infección reciente:

*Salmonellas*: Títulos  $\geq 1/80$  (somáticos) y  $\geq 1/160$  (flagelares).

*Brucellas*: Títulos  $\geq 1/80$ .

*Proteus*: Títulos de OX19  $\geq 1/80$ , OX2  $\geq 1/20$  y OXK  $\geq 1/80$ .

El nivel normal de anticuerpos febriles varía ampliamente según los diferentes países y comunidades. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### CARACTERISTICAS DEL METODO

**Sensibilidad analítica:** No existe referencia internacional para la estandarización de la sensibilidad de estos reactivos, por lo que se utiliza un control interno constituido por suero animal que contiene anticuerpos frente a cada uno de los antígenos citados anteriormente y que ha sido titulado con reactivos comerciales de calidad reconocida.

**Interferencias:** Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (10 g/L) y lípidos (10 g/L), no interfieren. Los factores reumatoides (300 UI/mL), interfieren. Otras sustancias pueden interferir<sup>6</sup>.

### NOTAS

1. En los ensayos de anticuerpos anti-Brucella, se recomienda reducir la muestra a 20 µL para evitar el efecto prozona.
2. En determinadas áreas geográficas, con elevada prevalencia de enfermedades febriles, se recomienda diluir la muestra 1/4 en CINA 9 g/L antes de realizar el ensayo en porta.
3. Se puede acelerar los tiempos de incubación a 48-50°C: 4 h. Antígenos somáticos (O) y Proteus, o 2 h Antígenos flagelares (H).
4. Un resultado positivo aislado es menos significativo que una variación de títulos obtenidos en ensayos realizados a distintos intervalos de tiempo. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados del laboratorio, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.
5. La aglutinación somática se caracteriza por ser fina y granular, de formación lenta y difícilmente disgregable. La aglutinación flagelar es algodonosa, de formación rápida y fácilmente disgregable.

### BIBLIOGRAFIA

1. Edward J Young. Clinical Infectious Diseases 1995; 21: 283-290.
2. Coulter JBS. Current Pediatrics 1996; 6: 25-29.
3. David A et al. Current Opinion in Infectious Diseases 1994; 7: 616-623.
4. David R et al Current Opinion in Infectious Diseases 1993; 6: 54-62.
5. Bradley D Jones. Annu Rev Immunol 1996; 14: 533 - 61.
6. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test. AACC Press, 1995.