

Soros de Aglutinação de Salmonela

PT

1. UTILIZAÇÃO PREVISTA

Os Soros de Aglutinação de Salmonela foram concebidos para os testes de aglutinação em lâmina e em tubo para a identificação serológica das culturas de Salmonela, para fins epidemiológicos e de diagnóstico. Os soros apropriados poderão também ser utilizados como anti-soro de controlo para as Suspensões de Salmonela Coradas[®] e os anti-soros de Salmonela H poderão ser utilizados para os procedimentos de mudança de fase¹.

2. RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

O género Salmonela está classificado no esquema de Kauffmann-White em serotipos de acordo com as combinações de antígenos somáticos (O) e flagelares (H), os quais podem ser identificados através de testes de aglutinação². Ocorrerem numerosas relações antigénicas entre a Salmonela e organismos de outros géneros, de modo que os procedimentos de identificação devem incluir exames de cultura e bioquímicos para além do teste serológico. Os soros de aglutinação devem ser utilizados em testes para confirmação mas também poderão ser utilizados, com o devidocuidado, em testes de rastreio⁷.

Os soros são absorvidos para remover as aglutininas para outros antígenos de Salmonela e a beta-aglutinina α 'paracolon'. Os Soros de Aglutinação Somáticos de Salmonela (série ZC) foram concebidos para a identificação de antígenos O em testes de aglutinação em lâmina, embora também possam ser utilizados nos testes de confirmação em tubo.

Os Soros de Aglutinação Flagelares de Salmonela (série ZD) foram concebidos para ser utilizados na identificação de antígenos H. Os soros polivalentes devem ser utilizados nos testes de aglutinação em lâmina. Os soros monovalentes podem também ser utilizados para os testes em lâmina preliminares. Contudo, os resultados obtidos através destes testes deverão ser confirmados através da aglutinação em tubo.

Para o caso de serotipos H que possuam determinantes comuns (por exemplo, o grupo G: fg, gm, gp, ga, gst) os soros polivalentes designados pelas letras em maiúscula deverão reagir aproximadamente com o mesma título em testes de aglutinação em tubo com os organismos que possuam esse factor. Os soros designados por letras minúsculas deverão reagir com os organismos que possuam antígenos homólogos, com uma diluição de pelo menos dois tubos superior às diluições que possuam antígenos heterólogos com factores comuns (para obter um exemplo, consultar a Tabela 1).

Tabela 1

Padrão típico das reacções de aglutinação em tubo de trê antígenos H relacionados e anti-soros correspondentes

Antígeno	Anti-soro			
	G	fg	gm	gp
fg	1:800	1:800	<1:200	<1:200
gm	1:800	<1:200	1:800	<1:200
gp	1:800	<1:200	<1:200	1:800

3. PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

Os testes serológicos baseiam-se no facto de que os anticorpos presentes no soro, produzidos em consequência da exposição a antígenos bacterianos, aglutinarão com bactérias que possuem antígenos homólogos.

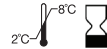
4. REAGENTES

4.1. CONTEÚDO DO KIT

Cada kit contém uma garrafa de antissoro (2ml) e Instruções de Utilização. A especificidade do antissoro é fornecida no rótulo da garrafa.

4.2. Descrição, Preparação para Utilização e Condições de Armazenamento Recomendadas

Consultar igualmente a secção **Avisos e Precauções**



Os soros devem ser armazenados a uma temperatura entre 2 e 8°C para que conservem a sua potência pelo menos até à data indicada no rótulo do frasco.

AGGLUTINATING SERUM

Os anti-soros de Salmonela são conservados com 0,5% de fenol ou com 0,1% de azida sódica. Os soros são produzidos em coelhos.

Cada frasco, equipado com borracha e conta-gotas, contém 2 ml de líquido e é fornecido pronto para utilização.

Durante o período de armazenamento, alguns soros poderão tornar-se ligeiramente turvos. Isto não indica necessariamente deterioração e, normalmente, não interfere nos resultados. Contudo, os soros poderão ser submetidos a centrifugação ou filtração por membrana (0,45 μ m) antes de serem utilizados para ficarem transparentes. Uma grande turvação indica contaminação e esses soros deverão ser descartados.

5. AVISOS E PRECAUÇÕES

IVD

Apenas para diagnóstico *in vitro*.

Para uso profissional apenas.

Este produto pode conter até 0,02% de tiomersal.

Consultar as folhas sobre dados de segurança do fabricante e o rótulo do produto para obter mais informações sobre componentes potencialmente perigosos.

5.1. Informações sobre Saúde e Segurança

5.1.1 Manusear todas as bactérias em conformidade com os regulamentos locais e legais adequados.

5.1.2 Os utensílios não descartáveis devem ser esterilizados através de um procedimento adequado após a utilização, embora o método preferido seja a autoclavagem durante, pelo menos, 15 minutos a 121°C; os utensílios descartáveis devem ser submetidos a autoclave ou incinerados.

5.1.3 O derrame de materiais potencialmente infecciosos deve ser limpo imediatamente com papel absorvente e as áreas contaminadas esfregadas com um desinfetante antibacteriano normal ou álcool a 70%. Os materiais utilizados para limpar líquidos

derramados, incluindo luvas, devem ser descartados como sendo potencialmente infecciosos.

5.1.4 Não pipetar com a boca. Utilizar luvas descartáveis e protecção para os olhos durante o manuseamento das amostras e durante o ensaio. Lavar bem as mãos depois de terminar o procedimento.

5.1.5 Os anti-soros somáticos de Salmonela contêm fenol a 0,5% e os anti-soros flagelares de Salmonela contêm 0,1% de azida sódica. Embora a sua concentração seja reduzida, ambos são tóxicos por ingestão e em contacto com a pele. Evitar a ingestão dos reagentes. Se qualquer destes reagentes entrar em contacto com a pele ou os olhos, lavar imediatamente toda a área com grandes quantidades de água.

5.1.6 De acordo com os princípios das Boas Práticas Laboratoriais, recomenda-se vivamente que as amostras e os reagentes sejam tratados como material potencialmente infeccioso e manuseados com as devidas precauções.

5.2. Precauções Analíticas

5.2.1 Não utilizar os anti-soros depois de findo o prazo de validade. A contaminação microbiológica dos anti-soros deve ser evitada, uma vez que poderá conduzir a resultados erróneos e reduzir o tempo de vida do produto.

5.2.2 Não alterar os procedimentos de teste, os tempos de incubação nem as temperaturas. Não diluir.

5.2.3 Após a utilização, voltar a colocar os soros à temperatura de armazenamento recomendada.

6. RECOLHA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

Recomenda-se a utilização de culturas frescas em meios não selectivos como, por exemplo, agar nutritivo.

Para obter detalhes sobre a recolha e a preparação de amostras, dever-se-á consultar um manual padrão.

7. PROCEDIMENTO

Materiais Fornecidos

Os anti-soros são fornecidos em frascos equipados com borracha e conta-gotas.

Materiais Necessários mas Não Fornecidos

- Solução salina a 0,85%.
- Lâminas de vidro.
- Ansa microbiológica e bico de Bunsen.
- Fonte de luz sobre fundo escuro.
- Tubos de ensaio e suporte.
- Banho de água com termómetro.
- Cronómetro.
- Pipetas.
- Suspensões coradas (SS05 / R30952901 & SS07 / R30953101) prontas para serem utilizadas como controlos.
- Centrífuga.
- Mistura de solução salina/formalina a 0,5% ou caldo formalinizado.

7.1. Procedimento de Teste

Teste de Aglutinação em Lâmina

Etapas	Colocar duas gotas separadas (40 μ l cada) de solução salina a 0,85% numa lâmina de vidro. Emulsionar partes da cultura a ser testada com uma ansa com cada gota de solução salina a 0,85% para obter uma suspensão suave e razoavelmente densa.
Etapas	Para uma suspensão como controlo colocar uma gota (40 μ l) de solução salina a 0,85% e misturar. Adicionar à outra suspensão, colocar uma gota (40 μ l) de anti-soro não diluído e misturar.
Etapas	Agitar a lâmina ligeiramente durante um minuto e observar a aglutinação usando iluminação indirecta contra um fundo escuro. Para uma desinfecção e eliminação em segurança, descartar a lâmina utilizada.

Teste de Aglutinação em Tubo

É possível utilizarem-se suspensões vivas como antígenos, mas dever-se-á ter cuidado para evitar infecções no laboratório. O antígeno para os testes de aglutinação de antígenos H em tubo poderá ser preparado suspendendo os organismos numa mistura de solução salina/formalina a 0,5%, ou adicionando formalina às culturas em caldo³. As colónias retiradas de meios de isolamento primários poderão revelar-se insatisfatórias para uso na determinação do serotipo H devido à fraca motilidade dos organismos. Isto poderá ser melhorado elaborando uma subcultura numa *slope* de ágar humedecido, em 0,5% de ágar num prato de Petri ou em 0,2% de ágar num tubo de Craigie e recolhendo a extremidade mais proeminente da cultura após a incubação.

Etapas	Preparar uma suspensão ligeira de bactérias (aproximadamente 10 ⁹ organismos por ml).
Etapas	Efectuar diluições em série de anti-soro em volumes de 0,5 ml, em relações de 1 em 10 a 1 em 320 para determinar os factores O e Vi e de 1 em 25 a 1 em 800 para determinar os factores H.
Etapas	Colocar 0,5 ml da suspensão de antígeno em cada tubo. Isto duplica a diluição do anti-soro.
Etapas	Incluir também um tubo de controlo contendo apenas a suspensão e a solução salina.
Etapas	Inverter os tubos ao contrário para misturar os conteúdos. Incubar os tubos de factor O a 50°C durante quatro horas, os tubos de factor Vi a 37°C durante duas horas e posteriormente durante 18 horas a uma temperatura entre 2 e 8°C [permitir que estes aqueçam até atingirem a temperatura ambiente (18 a 30°C) antes de proceder à leitura]. Por fim, incubar os tubos de factor H a 50°C durante duas horas.
Etapas	Inverter os tubos e observar se há aglutinação utilizando uma luz de fundo forte.

Reversão da Fase

Muitos serotipos de Salmonela possuem antígenos H difísicos. Frequentemente, ambas as fases são visíveis numa dada cultura.No entanto, se apenas for detectada uma fase poderá ser necessário isolar e identificar a fase alternada. Isto poderá ser conseguido através da elaboração de uma subcultura ou subculturas sucessivas em 0,5% de ágar numa placa de Petri

ou em 0,2% de ágar num tubo de Craigie¹ contendo 1% do soro de aglutinação para a fase identificável, testando a parte mais proeminente acentuada do crescimento da cultura, após a incubação, para detectar a fase alternada.

8. RESULTADOS

Agglutinação em Lâmina

A agglutinação deverá ser forte e nitidamente visível no espaço de um minuto. Não deverá existir agglutinação visível no controlo de solução salina; caso seja observada agglutinação no controlo, tal significa que a suspensão não é adequada para ser testada através deste método.

Agglutinação em Tubo

Numa reacção Vi positiva dever-se-á observar uma agglutinação granular evidente: uma agglutinação H apresenta um aspecto flocular característico. Poderá ocorrer alguma transparência do fluido e um sedimento que sobe como uma massa granular e que depois desce novamente para o fundo do tubo quando este é agitado rapidamente com o dedo. Numa reacção negativa e no controlo de solução salina, o aspecto da suspensão deverá permanecer inalterado e apresentar uma turbulência típica quando o tubo for agitado. Se houver agglutinação no controlo de solução salina, a suspensão é grosseira e não é adequada para a agglutinação em tubo. O título é a diluição do soro no último tubo que apresenta agglutinação. Os títulos iguais ou próximos dos valores indicados no rótulo do produto indicam que o antigénio é do mesmo serotipo que o anti-soro.

Quando os soros são utilizados como controlos para a actividade de Suspensões Coradas, dever-se-á seguir o procedimento descrito nas Instruções para Utilização que acompanham as Suspensões de Salmonela Coradas O e H. Dever-se-á obter um título entre duas diluições em série, tal como descrito no rótulo do frasco.

9. CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se que teste o produto, durante a sua utilização, com culturas positivas e negativas. As Tabela 2, mostram, exemplos de culturas positivas.

Se algum dos anti-soros exibir agglutinação com uma cultura negativa conhecida ou não exibir qualquer agglutinação com uma cultura positiva conhecida, deverá ser descartado.

Tabela 2: Intervalo de Controlos Positivos em culturas de Salmonelas O (ZC)

Código	NCTC REF	Espécie de Salmonela	Estrutura antigénica ^a
ZC18/R30957401	6021	<i>Citrobacter ballerupensis</i>	–
ZD10/R30160701	3072	<i>Salmonella anatum</i>	3,10:eh:1,6
ZD11/R30160801	5727	<i>Salmonella abortusequi</i>	4,12:enx:–
ZD12/R30160901	6020	<i>Salmonella telaviv</i>	28:y:enz ₁₅
ZD14/R30161101	9890	<i>Salmonella milwaukee</i>	43:fg:–
ZD15/R30161201	9918	<i>Salmonella godesberg</i>	30:gm:–
ZD16/R30161301	9676	<i>Salmonella dublin</i>	1,9,12:gp:–
ZD17/R30161401	10480	<i>Salmonella moscow</i>	9,12:gq:–
ZD18/R30161501	3158	<i>Salmonella senftenberg</i>	1,3,19:gst:–
ZD19/R30161601	3048	<i>Salmonella typhimurium</i>	4,5:i:1,2
ZD22/R30161901	5787	<i>Salmonella newbrunswick</i>	3,15:lv:1,7
ZD23/R30162001	5793	<i>Salmonella worthington</i>	1,13,23:z:lw
ZD24/R30162101	9606	<i>Salmonella rowbarton</i>	16:mt:–
ZD36/R30163301	3048	<i>Salmonella typhimurium</i>	4,5:i:1,2
ZD37/R30163401	7409	<i>Salmonella donna</i>	30:lv:1,5
ZD38/R30163501	5785	<i>Salmonella newington</i>	3,15,34:eh:1,6
ZD39/R30163601	6480	<i>Salmonella florida</i>	1,6,14,25:d:1,7

Controlo negativo para todos os códigos ZC e códigos ZD: *Hafnia alvei* NCTC 8535

*organismo da categoria 3

NOTA: todas as culturas pertencem à categoria 2 excepto indicação em contrário, Conforme as directrizes do Advisory Committee on Dangerous Pathogens (ACDP).

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

A extensão do exame serológico dependem do propósito da investigação. Para obter evidência serológica da presença de uma Salmonela, as culturas devem ser testadas com soros polivalentes O, soros polivalentes H e soros Vi. Se for necessário realizar análises mais pormenorizadas, o procedimento normal é determinar o antigénio O utilizando os soros apropriados e em seguida testar o antigénio H mais provável, tal como indicado pelo esquema de Kauffmann-White^{2,4,5,6}.

11. LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Embora seja impraticável fornecer soros de factor único para todos os antigénios de Salmonela conhecidos, existe uma grande variedade de soros disponíveis, suficiente para identificar a maior parte de tipos de salmonela isolados, com elevado grau de exactidão.

Os anti-soros facultam apenas identificação serológica; a identificação completa de um organismo deve ser feita em conjunto com testes bioquímicos.

Embora os soros tenham sido absorvidos para minimizar as reacções cruzadas, a possibilidade de ocorrência de reacções cruzadas com outros antigénios de Salmonela ou organismos relacionados de outras espécies não pode ser completamente excluída.

12. RESULTADOS/CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPERADOS

Agglutinação visível na presença de antigénios homólogos (consultar o rótulo da garrafa quando à especificidade do antissoro). Ver as limitações do procedimento.

13. BIBLIOGRAFIA









- Cruickshank, R., Duguid** et al (1975). Medical Microbiology, 12th Edition, Volume 2, page 417. Churchill Livingstone, London.
- Edwards, P.R. and Ewing, W.H.** (1972). Identification of Enterobacteriaceae. 3rd Edition. Burgess Publishing Co., Minneapolis.
- Farmer, J.J.** (1975). Formalinized bacterial “antigens” as a potential infection hazard. J. Clin. Microbiol., **2**, 359.
- Kauffmann, F.** (1966). The Bacteriology of Enterobacteriaceae. Munksgaard, Copenhagen.
- Nomenclature Committee of the International Assoc. of Microbiologists (Suppl. to 6th Report) (1958). Int. Bull. Bact. Nomencl. and Tax., **8**, 79.
- Serological Reagents for Bacterial Diagnosis. Mon. Bull. Min. Hlth. (1961). **20**,134.
- Taylor, J.** (1967). The isolation and identification of salmonellae. A.C.P. Broadsheet No. 58.
- Remel Stained Salmonella Suspension, Instructions for Use.
- Kauffman-White Scheme.

14. EMBALAGEM

REF R30957401/ZC18	Salmonella Vi	2ml
R30160701/ZD10	Salmonella eh-H.....	2ml
R30160801/ZD11	Salmonella enx-H	2ml
R30160901/ZD12	Salmonella enz ₁₅ -H.....	2ml
R30161101/ZD14	Salmonella fg-H.....	2ml
R30161201/ZD15	Salmonella gm-H.....	2ml
R30161301/ZD16	Salmonella gp-H.....	2ml
R30161401/ZD17	Salmonella gq-H.....	2ml
R30161501/ZD18	Salmonella gst-H	2ml
R30161601/ZD19	Salmonella i-H.....	2ml

R30161901/ZD22	Salmonella lv-H	2ml
R30162001/ZD23	Salmonella lw-H	2ml
R30162101/ZD24	Salmonella mt-H	2ml
R30163301/ZD36	Salmonella 1,2-H.....	2ml
R30163401/ZD37	Salmonella 1,5-H.....	2ml
R30163501/ZD38	Salmonella 1,6-H.....	2ml
R30163601/ZD39	Salmonella 1,7-H.....	2ml

Legenda dos símbolos

	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Consulte as instruções para utilização
	Limites de temperatura
	Contém ou está presente látex de borracha natural
	Código do lote
	Prazo de validade
	Fabricante



IFU X9423C, Revista junho 2016



Remel Europe Ltd.
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT
UK

Para obter assistência técnica, entrar em contacto com o distribuidor local.