

## Modo de empleo

MKL Diagnostics AB  
Kung Hans Väg 3  
SE-192 68 Sollentuna  
Sweden

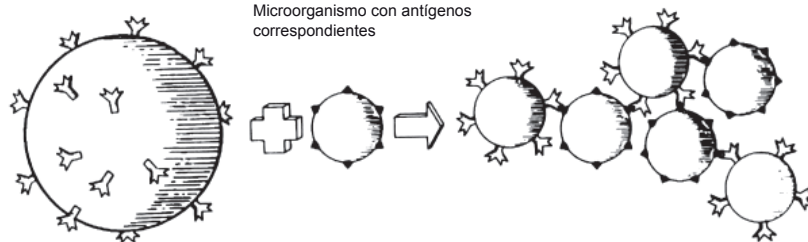


MKL Diagnostics



Anticuerpos ligados a estafilococos

Coaglutinación



### USO PROPUESTO

Phadebact Haemophilus Test está destinado a la identificación de *Haemophilus influenzae* tipo b y tipos a, c-f.

### RESUMEN Y EXPLICACION DEL ANALISIS

La mayoría de las infecciones de *Haemophilus influenzae* es causada por *H. influenzae* tipo b (1). Las variantes virulentas son casi siempre encapsuladas y casi siempre parasíticas en el ser humano y en los animales (2). *H. influenzae* es importante como causa etiológica de la infección aguda de las vías respiratorias, meningitis, otitis media y bacteremia. Estos organismos pueden ser también la causa de la endocarditis bacteriana subaguda y la artritis séptica. *H. influenzae* tipo b es responsable del 95% de las infecciones causadas por *Haemophilus spp* en niños de 6 meses a 3 años de edad (3).

La diferenciación de las especies *Haemophilus* se hace en base a la capacidad de estos organismos de producir hemólisis, la necesidad de factores de crecimiento y una atmósfera de 5% -10% de CO<sub>2</sub> para el crecimiento óptimo. Phadebact Haemophilus Test se basa en la técnica de coaglutinación y permite la identificación rápida de *Haemophilus influenzae* tipable y la diferenciación del tipo b y de los tipos a, c-f usando una técnica simple en porta.

### PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El test de coaglutinación Phadebact Haemophilus Test contiene reactivo tipo b (Type b Reagent) compuesto de anticuerpos específicos anti-tipo b y reactivo tipo a, c-f (Types a, c-f Reagent) compuesto de un pool de anticuerpos específicos anti-tipos a, c-f acoplados a la proteína A de *Staphylococci* no viables (4). Esta técnica deja libre la región Fab del anticuerpo, dándole una posición óptima de reacción con el antígeno.

Cuando una suspensión conteniendo *H. influenzae* tipo b, se mezcla con Type b Reagent, los antígenos específicos en la superficie celular reaccionan con los anticuerpos específicos correspondientes formando así una red de coaglutinación, visible a ojo desnudo. La reacción con Types a, c-f Reagent será negativa. De igual forma cuando una muestra con *H. influenzae* tipos a, c-f se mezcla con Types a, c-f Reagent se obtendrá una coaglutinación mientras que Type b Reagent dará reacción negativa. Si la muestra no contiene ninguno de los antígenos específicos tipo a, b, c, d, e y f no habrá reacción positiva con ninguno de los reactivos.

### REACTIVOS

Cada kit Phadebact Haemophilus Test contiene reactivos, suficiente para 50 determinaciones. Los reactivos son de color azul (azul de metileno) para facilitar la interpretación de los resultados.

#### Componentes de los reactivos

- Type b Reagent 1 vial
  - Antisuero específico tipo b desarrollado en conejo, acoplado a *staphylococci* no viables,
  - Types a, c-f Reagent 1 vial
  - Pool de antisueros específicos a, c, d, e y f desarrollado en conejo, acoplado a *staphylococci* no viables.
- LISTO PARA USAR.

#### Otros componentes

- Goteros
- Portas desechables
- Modo de empleo

#### Precauciones

Para diagnóstico *in vitro*.

**Atención!** Los reactivos contienen azida sódica (NaN<sub>3</sub>) como conservante. La azida sódica puede reaccionar con el plomo y el cobre de las cañerías, formando azidas metálicas altamente explosivas. Al desechar los residuos use abundante agua para evitar la formación de estas azidas. Favor de referir al procedimiento de descontaminación recomendado por CDC.

#### Preparación de los reactivos

Los reactivos están LISTOS PARA USAR.

#### Caducidad y almacenamiento

La fecha de caducidad se indica en la etiqueta exterior y en las etiquetas de los viales. Se recomienda almacenar el kit entre 2-8°C. Los reactivos no deben congelarse.

#### COLECCION Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Favor de referir a un manual estándar de microbiología concerniente a la colección y manipulación de especímenes. Muestras para investigación pueden colectarse de cualquier parte del cuerpo donde hayan organismos viables. Si el transporte de la muestra al laboratorio es compulsivo, la torunda deberá inocularse o sumergirse en medio tal como Stuart's. Las muestras deberán llegar al laboratorio en el lapso de 24-48 horas. No se necesitan aditivos o conservantes para el transporte o cultivo. Las muestras de pacientes bajo tratamiento con antibiótico puede contener muy poca o ninguna bacteria viable.

#### PROCEDIMIENTO

**Materiales suministrados**  
Ver REACTIVOS.

#### Materiales requeridos pero no suministrados

- Cultivos primarios
- Asas de inoculación desechables o equivalente
- Reloj con lectura fácil de minutos

#### Parámetros del análisis

Temperatura de la reacción	temperatura ambiente
Volumen de los reactivos	una gota
Duración de la reacción	1 minuto

#### Preparación de las muestras

Favor de referir a un manual estándar de microbiología concerniente a la preparación de cultivos primarios.

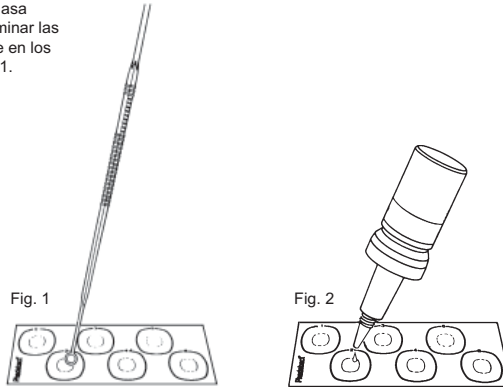
#### Procedimiento del ensayo

**Nota!** Agite bien los reactivos antes de usar.

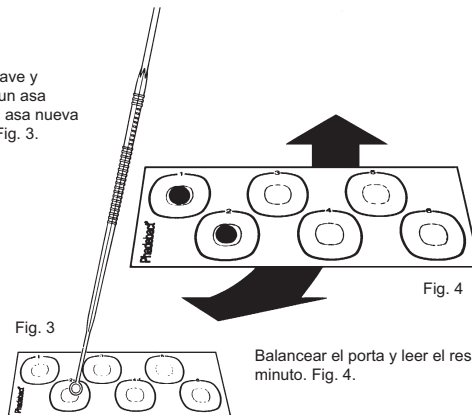
Marcar dos óvalos del porta con Type b Reagent y Types a, c-f Reagent por cada muestra.

Poner una gota de Type b Reagent y una gota de Types a, c-f Reagent en los óvalos marcados del porta. Fig. 2.

Coleccionar las colonias con un asa desechable o equivalente. Diseminar las colonias suave y completamente en los óvalos marcados del porta. Fig. 1.



Mezclar las gotas suave y completamente con un asa desechable. Usar un asa nueva para cada reactivo. Fig. 3.



Balancear el porta y leer el resultado en el lapso de un minuto. Fig. 4.

#### Test directo de líquido ceforraquídeo (CSF)

Favor de referir a Phadebact® CSF Test para la identificación de *H. influenzae* por test directo en líquido ceforraquídeo.

#### Estabilidad de la reacción final

La reacción de coaglutinación es estable, pero las buenas prácticas de laboratorio señalan que los resultados deben leerse en el lapso de 1 minuto, mientras la mezcla aún está húmeda (observe que la desecación de los reactivos puede ser malinterpretada como reacción positiva).

#### Calibración

No es necesario ningún tipo de calibración.

#### Control de calidad

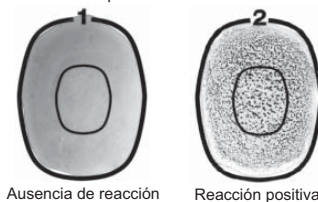
##### Control positivo

Cepas conocidas de *H. influenzae* tipo b (p. ej. ATCC 10211) y *H. influenzae* tipos a, c-f (p. ej. ATCC 9006 (tipo a)) deben usarse como control. Las cepas de control se procesan del mismo modo que las muestras desconocidas en el test.

##### Control negativo

El uso simultáneo de ambos reactivos con la muestra, da un control negativo intrínseco ya que las infecciones mixtas son poco comunes. Si la muestra desconocida es *Haemophilus influenzae* tipo b, la coaglutinación con Type b Reagent será evidente. La reacción con Types a, c-f Reagent será negativa (la reacción será significativamente más débil).

#### Aspecto de la reacción



#### RESULTADOS

##### Resultado positivo Tipo b

Una reacción significativamente más intensa de la muestra con Type b Reagent en comparación con Types a, c-f Reagent significa que el organismo es *Haemophilus influenzae* tipo b.

**Resultado positivo Tipos a, c-f**

Una reacción significativamente más intensa de la muestra con Types a, c-f Reagent en comparación con Type b Reagent significa que el organismo es *Haemophilus influenzae* tipos a, c-f.

**Resultado negativo**

La ausencia de reacción con por lo menos uno de los reactivos indica que la muestra no está infectada con *H. influenzae* tipable, o que la cantidad de antígeno es insuficiente. Repetir el test usando una cantidad mayor de antígeno.

**Resultados indeterminados**

El resultado es indeterminado si la coagulación con ambos reactivos es de igual intensidad. En este caso el espécimen no podrá ser identificado con Phadebact Haemophilus Test. Use un test (bioquímico) diferente.

**LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**

Los métodos inmunológicos como el de coagulación, usados en la identificación de *H. influenzae*, contienen anticuerpos dirigidos contra los antígenos capsulares de *H. influenzae*. Por esta razón las especies de *Haemophilus spp* desposeídas de cápsula no reaccionan en el test inmunológico. Ciertos tipos de *S. pneumoniae* tienen antígenos similares al de *H. Influenzae* tipo b lo cual ocasiona reacción cruzada.

**CARACTERISTICAS DEL ENSAYO****Sensibilidad y especificidad**

La especificidad y sensibilidad de Type b Reagent y Types a, c-f Reagent contra *Haemophilus influenzae* se estableció utilizando un total de 859 muestras inclusive cultivos stock (5).

Tipo b Reagent Sensibilidad: 98.8% (No ensayos=83) Especificidad: 97.6% (No ensayos=776)  
Tipos a, c-f Reagent Sensibilidad: 97.3% (No ensayos=37) Especificidad: 96.6% (No ensayos=822)

Especies Bacterianas	No. ensayos	No. de cepas aggl. en ambos reactivos	No. de cepas coaggl. tipo b	Tipos a, c-f
<i>H. influenzae</i> , Tipo b	83	0	82	1
<i>H. influenzae</i> , Tipos a, c-f	37	0	1	36
<i>H. influenzae</i> , no tipable	156	5	0	0
<i>H. parainfluenzae</i>	210	0	0	6
<i>H. parahemolyticus</i>	4	0	0	0
<i>H. aphrophilus</i>	1	0	0	0
Streptococci, Grupos A,B,C,G	54	9	0	0
Streptococci, Grupo D	58	1	0	0
Streptococci, alpha-hemolítico	83	1	0	0
<i>S. pneumoniae</i>	93	0	0	3*
<i>N. meningitidis</i>	14	1	0	0
<i>Neisseria spp</i>	2	0	0	0
<i>Moraxella spp</i>	1	0	0	0
<i>S. aureus</i>	34	0	0	0
<i>S. epidermidis</i>	29	1	0	0

\**S.pneumoniae* tipos 11b, 11c y 38

**GARANTIA**

Los resultados presentados aquí han sido obtenidos siguiendo exactamente el procedimiento descrito. Cualquier cambio o modificación en el procedimiento no recomendado por MKL Diagnostics AB puede afectar los resultados, en cuyo caso MKL Diagnostics AB declina toda responsabilidad de garantía expresada, implícita o establecida por la ley, inclusive la responsabilidad implícita para venta o condiciones de uso. En dicho caso MKL Diagnostics AB y sus distribuidores autorizados, no se harán responsables por cualquier daño directo, indirecto o por consecuencia.

**Referencias:**

1. *Weinstein, L: Haemophilus infections. Principles of internal medicine. Ed. Harrison, T R New York (McGraw-Hill), 1977.*
2. *Murray P R, Barron E Jo, Pfaller M A, Tenover F C, Tenover R H: Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. ASM Press, Washington DC, 1995.*
3. *Weinstein L: Type b Haemophilus influenzae infections in adults. N Eng J Med 4, (1970), pp 221-222.*
4. *Christensen P, Kahlmeter G, Jansson S & Kronvall G: New method for the serological grouping of streptococci with specific antibodies absorbed to Protein-A containing staphylococci. Infect Immun 7 (1973), pp 881-885.*
5. Data on file, MKL Diagnostics AB.

**PRODUCTOS****Phadebact® COA System**

Phadebact® Streptococcus Tests  
Phadebact® Streptococcus Respiratory Test  
Phadebact® Strep A Test  
Phadebact® Strep B Test  
Phadebact® Strep D Tests  
Phadebact® Strep F Test  
Phadebact® Strep Positive Controls  
Phadebact® Pneumococcus Test  
Phadebact® Haemophilus Test  
Phadebact® GC Positive Controls  
Phadebact® CSF Test  
Phadebact® CSF Positive Controls  
Phadebact® Extraction Solutions  
Phadebact® Monoclonal GC Test  
Phadebact® ETEC-LT Test  
Phadebact® Salmonella Test  
Phadebact® Staph Aureus Test

**Near Patient Testing**

Phadirect® Strep A  
Phadirect® Rapid CRP Test

Para otros idiomas: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)

For other languages: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)  
Für andere Sprachen: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)  
Pour d'autres langues: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)  
Per altre lingue: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)  
Andre sprog, se venligst: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)  
Για άλλες γλώσσες: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)  
På andra språk: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)