

Wellcogen Bacterial Antigen Kit

R30859602 – 30 testes

Wellcogen Bacterial Antigen Kit consiste em uma série de testes rápidos de aglutinação de látex para detecção de antígenos de estreptococos grupo B, *Haemophilus influenzae* tipo b, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* grupos A, B, C, Y ou W135 e *Escherichia coli* K1 presentes no líquido cerebrospinal (FCS) como consequência de infecção. Possui controle positivo e negativo, e controle de látex.

O kit pode ser utilizado também para testar outros fluidos corpóreos ou sobrenadantes de cultura de células sanguíneas para a maioria destes antígenos, escarro para *S. pneumoniae* e culturas em placas para *N. meningitidis* grupo B ou *E. coli* K1.

INSTRUÇÕES DE USO

Wellcogen Bacterial Antigen Kit (CÓD. 30859602) - 30 Testes

Teste de látex para detecção de antígenos de *Streptococcus* grupo B, *H. influenzae* tipo b, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* ABCY W135 e *E. coli* K1.

USO PRETENDIDO

O Wellcogen Bacterial Antigen Kit fornece uma série de testes rápidos de látex para uso na detecção qualitativa de antígenos de *Streptococcus* grupo B, *Haemophilus influenzae* tipo b, *Streptococcus pneumoniae* (pneumococos), *Neisseria meningitidis* (meningococos) grupos A, B, C, Y ou W135 e *Escherichia coli* K1 presentes no fluido cefalorraquidiano (FCS) como consequência de infecção. O kit pode ser utilizado também para testar outros fluidos corpóreos ou sobrenadantes de cultura de células sanguíneas para a maioria destes antígenos, exceto para *S. pneumoniae* e culturas em placas para *N. meningitidis* grupo B ou *Escherichia coli* K1. (Ver Tabela 1 para indicações provadas por estudo clínico).

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

Meningite tem uma grande variedade de causas potenciais, tanto infecciosa quanto não-infecciosa. Se a meningite bacteriana não for tratada rapidamente e efetivamente, esta doença pode ser fatal. A identificação rápida do agente infeccioso pode ser de grande valor para que o paciente receba uma quimioterapia apropriada e adequada. Muitas espécies de bactérias estão envolvidas na meningite. *Streptococcus* do grupo B e *E. coli* são duas das causas mais comuns de septicemia neonatal, enquanto que em grupos com mais idade os mais isolados são *H. influenzae* tipo b, *S. pneumoniae* e *N. meningitidis* grupos A, B, C, Y e W135. Estes organismos carregam antígenos polissacarídicos de superfície específicos em quantidade que se difunde em meio de cultura ou fluidos corpóreos, como FCS ou soro, e é excretada na urina. Os antígenos podem ser detectados por métodos imunológicos sensíveis, como a imunoelectroforese e aglutinação por látex.^{2,6,8,13}

PRINCÍPIO DO TESTE

Os reagentes do Wellcogen consistem de partículas de látex de poliestireno que foram revestidas com anticorpos para os antígenos bacterianos. Estas partículas de látex aglutinam na presença de antígeno homólogo suficiente. Os reagentes de *Streptococcus* e *H. influenzae* são, respectivamente, grupo B e tipo b específicos, o reagente de *S. pneumoniae* é sensibilizado com anticorpos purificados de um soro omnívalente e o reagente polivalente de *N. meningitidis* reage com antígenos grupos A, C, Y e W135. Antígeno do meningococo grupo B é mais difícil de detectar, assim como é relacionado estruturalmente e imunologicamente ao antígeno de *E. coli* K1⁹, e ambos reagem com o reagente de *N. meningitidis* grupo B.

REAGENTES - Conteúdo do Kit

Wellcogen Bacterial Antigen Kit	30 Testes
1. Látex Teste de Estrep. B	1 frasco conta-gotas (tampa rosa) 30 testes/0,7mL
2. Látex Teste de <i>H. influenzae</i> b	1 frasco conta-gotas (tampa azul claro) 30 testes/0,7mL
3. Látex Teste de <i>S. pneumoniae</i>	1 frasco conta-gotas (tampa amarela) 30 testes/0,7mL
4. Látex Teste de <i>N. meningitidis</i>	1 frasco conta-gotas (tampa cinza) 30 testes/0,7mL
5. Látex Teste de <i>N. meningitidis</i> B/E, <i>coli</i> K1	1 frasco conta-gotas (tampa marrom) 30 testes/0,7mL
6. Látex Controle	5 frascos conta-gotas (tampa azul escuro) 30 testes/0,7mL
7. Controle Positivo Polivalente	2 frascos (3,6mL cada)
8. Controle Negativo	2 frascos (3,6mL cada)
9. Cartões de Reação descartáveis	1 pacote (62 cartões)
10. Bastões de agitação descartáveis	1 pacote (~100 unidades)
11. Conta-gotas descartáveis	1 caixa

Descrição dos Reagentes, Preparação para o Uso e Condições de Armazenamento Recomendadas

Ver também PRECAUÇÕES, ADVERTÊNCIAS E RESTRIÇÕES.

Antes da abertura, todos os componentes devem estar armazenados a 2-8°C, assim terão atividade até a data de expiração do kit.

Látex Teste. Suspensões de partículas de látex de poliestireno em tampão contendo Bronidox[®] a 0,05% e/ou azida sódica a 0,1% como conservante. As partículas de látex são revestidas com o apropriado anticorpo de coelho, como rotulado, exceto para o reagente *N. meningitidis* grupo B/E, *coli* K1, que é revestido com anticorpo monoclonal de camundongo.

Látex Controle. Suspensões de látex similares ao Látex. Teste revestidas com uma preparação apropriada de globulina de coelho ou, no caso do látex de *N. meningitidis* grupo B/E, *coli* K1, com um anticorpo monoclonal de camundongo que cresceu contra *Bordetella bronchiseptica*.

As suspensões de látex são fornecidas já prontas para serem utilizadas e devem ser armazenadas a 2-8°C em posição vertical até a data de expiração do kit. Após armazenamento prolongado, pode ocorrer agregação ou ressecamento do látex ao redor da boca do frasco. Nestas condições, o frasco de látex deve ser agitado vigorosamente por alguns segundos até completa ressuspenção. **NÃO CONGELE.**

Controle Positivo Polivalente. Extratos de bactérias liofilizadas contendo antígenos de cepas representativas de cada espécie de bactéria para o látex fornecido.

Contém Iomersal a 0,02% quando reconstituído.

Reconstitua utilizando 3,6 mL de água destilada esterilizada. Após a adição da água, deixe o frasco em repouso por alguns minutos e, então, agite.

Controle Negativo. Solução salina glicina, pH 8.2. Contém conservante Bronidox® 0,05%. Armazene o antígeno reconstituído a 2-8°C por até 6 meses.

PRECAUÇÕES, ADVERTÊNCIAS E RESTRIÇÕES

Informações sobre Saúde e Segurança

1. Os reagentes são somente para uso diagnóstico *in vitro*.

2. De acordo com os princípios das Boas Práticas de Laboratório, é recomendado que fluidos corpóreos devem ser tratados como potencialmente infectantes e devem ser manuseados com todas as precauções necessárias.

3. Ao manusear meios de cultura sanguíneos com radiação, devem ser seguidas as regras básicas de segurança quanto à radiação. Isto inclui:

a) Material radioativo deve ser armazenado em área apropriada e em frasco aprovado.

b) O manuseio de material radioativo deve ser feito em local apropriado.

c) Não pipetar material radioativo com a boca.

d) Não se deve comer, beber ou fumar na área designada para manuseio de material radioativo.

e) Deve-se lavar as mãos após utilizar material radioativo.

f) A Comissão Nacional de Energia Nuclear deve ser consultada no que diz respeito ao descarte de material.

4. Material não-descartável deve ser esterilizado após o uso por qualquer procedimento adequado, apesar do método preferencial ser autoclavar por 15 minutos a 121°C. Materiais descartáveis devem ser autoclavados ou incinerados. Os derramamentos de materiais potencialmente infectantes devem ser removidos imediatamente com papel toalha absorvente, e as áreas contaminadas devem ser limpas com um desinfetante padrão para bactérias ou álcool a 70%. **NÃO** utilize hipoclorito de sódio. Os materiais utilizados para limpar derramamentos, incluindo luvas, devem ser descartados como rejeito potencialmente infectante.

5. Não pipete pela boca. Use luvas descartáveis e proteção para os olhos ao manusear amostras e realizar o ensaio. Lave bem as mãos ao terminar.

6. Os componentes deste kit contêm azida sódica a 0,1% como conservante. Azidas podem reagir com cobre e chumbo utilizados em alguns sistemas de encanamento formando sais explosivos. As quantidades utilizadas neste kit são pequenas, porém, ao descartar materiais que contenham azida, o encanamento deve ser lavado com grande fluxo de água.

7. O Controle Positivo Polivalente contém Iomersal. Apesar da concentração ser baixa, sabe-se que o Iomersal é tóxico se ingerido e ao contato com a pele.

8. Quando utilizados de acordo com os princípios das Boas Práticas de Laboratório, com bons padrões de higiene e conforme as instruções contidas nestas Instruções de Uso, os reagentes fornecidos não são considerados nocivos à saúde.

Precauções Analíticas

1. Não utilize os reagentes após a data de expiração fixada no kit.

2. Reagentes de látex devem estar na temperatura ambiente (15 a 30°C) antes do uso. Reagentes de látex que apresentam sinais de agregação ou grumos antes do uso podem ter sido congelados e não devem ser utilizados.

3. Ao utilizar frascos conta-gotas é importante mantê-los na posição vertical e que a gota se forme no bico do frasco. Se o bico permanecer molhado será formado um volume errado na ponta do bico; se isto ocorrer seque o bico antes de continuar.

4. Os reagentes fornecidos em cada kit são equivalentes no desempenho e não devem ser utilizados em conjunto com reagentes de outros kits com número de lote diferente.

5. Não toque as áreas de reação nos cartões.

6. Agitadores mecânicos podem ser utilizados neste ensaio. As seguintes características foram consideradas satisfatórias:

i) Agitadores planos a 150 rpm e com um diâmetro orbital de 3,0 a 3,4 cm. O cartão deve ser retirado do agitador e agitado antes da leitura.

ii) Agitadores orbitais (também conhecidos como agitadores dimensionais) operando a 25 rpm com um ângulo de rotação de aproximadamente 9-10,5 graus ou operando a 18 rpm com um ângulo de rotação de 16-17,5 graus.

PROCEDIMENTO MATERIAIS FORNECIDOS, VER CONTEÚDO DO KIT.

Materiais Necessários mas não Fornecidos

Banho de água fervente.

Centrífuga do laboratório ou filtros de membrana (0,45 µm).

Agitadores (opcional).

COLETA E ARMAZENAMENTO DA AMOSTRA

a) **Amostras de Fluido Corpóreo** (FCS, soro, urina, por exemplo) devem ser testadas logo após a coleta. Se o fluido não pode ser testado imediatamente, ele pode ser armazenado durante uma noite a 2-8°C, ou por períodos maiores se congelado a -20°C. Se for necessária uma análise bacteriológica na amostra, esta deve ser feita antes do teste de látex para evitar contaminação da amostra.

b) **Culturas de Células Sanguíneas** devem ser amostradas e testadas após incubação a 37°C por 18 a 24 horas e/ou assim que for observado um crescimento de bactérias.

c) **Amostras de escarro** (*S. pneumoniae*) devem ser testadas logo após a coleta.

d) **Culturas em placas** (*N. meningitidis* B/E, *coli* K1). Colônias isoladas que cresceram em meio de ágar enriquecido (sangue, ágar chocolate) devem ser testadas após incubação a 37°C durante uma noite. Uma cepa Gram deve ser utilizada para auxiliar na interpretação dos resultados do teste de látex.

PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS CLÍNICAS

a) **Amostras de fluido corpóreo** devem ser aquecidas antes do teste pelo procedimento Wellcogen para minimizar reações não-específicas.⁵ Os procedimentos seguintes são recomendados:

1) Para FCS e urina, aqueça a amostra por 5 minutos em banho de água fervente. Resfrie a amostra até temperatura ambiente e clarifique por centrifugação ou filtração por membrana antes do teste. Para uma máxima sensibilidade, amostras de urina podem ser concentradas até 25 vezes num concentrador Minicon[®] B-15 (Amicon Corp., Lexington, Mass., USA). Clarifique como descrito acima antes do teste.

2) Para soro, aqueça a amostra por 5 minutos em banho de água fervente após a adição de 3 volumes de etilenodiaminotetracético dissodico (EDTA) 0,1 M, pH 7,4 para cada 1 volume de soro e clarifique como descrito acima.

b) **Culturas de células sanguíneas.** Centrifugue uma amostra de 1 a 2 mL para precipitar as células vermelhas do sangue, por exemplo, a 1000g por 5 a 10 minutos. Faça o teste de látex no sobrenadante.

Se ocorrer uma reação não-específica com o sobrenadante da cultura de células sanguíneas (ver Interpretação dos Resultados), aqueça a amostra em banho de água fervente por 5 minutos, resfrie até temperatura ambiente, clarifique por centrifugação e repita o teste.

- c) **Amostras de escarro** (*S. pneumoniae*). Foram utilizados diferentes métodos para preparação da amostra^{7, 12}, mas o seguinte método é recomendado:
 - 1) Encha três placas de Petri com solução salina fisiológica.
 - 2) Selecione porções purulentas da amostra de escarro e transfira para a primeira placa de Petri utilizando uma alça de inoculação. Agite em solução salina para retirar a saliva.
 - 3) Transfira os fragmentos de escarro para a segunda placa de Petri, agite para lavar e, então, transfira para a terceira placa de Petri para lavar de modo similar.
 - 4) Prepare uma lâmina com cepa Gram a partir dos fragmentos e examine microscopicamente com um aumento de 100x. Amostras de boa qualidade contendo >50 leucócitos e <5 células epiteliais escamosas devem ser tratadas para detecção de antígenos; outras amostras podem ser tratadas mas os resultados podem não ser representativos do trato respiratório inferior. Os fragmentos lavados podem ser utilizados como cultura, se desejado.
 - 5) Transfira os fragmentos de escarro lavados para um tubo de ensaio. Adicione um volume igual de solução de trabalho Sputolysin® (Calbiochem Corporation, La Jolla, USA), agite em vórtex por aproximadamente 30 segundos e deixe em repouso a temperatura ambiente por pelo menos 15 minutos.
 - 6) Aqueça por 5 minutos em banho de água fervente.
 - 7) Resfrie até atingir temperatura ambiente e clarifique por centrifugação. Realize o teste de látex no sobrenadante.
 - 8) **Culturas em placas** (*N. meningitidis* B/E, *coli* K1). Teste diretamente placa de cultura.

PROCEDIMENTO DO TESTE

É recomendável que a seção Precauções Analíticas seja lida cuidadosamente antes de se realizar o teste.

Amostras de fluido corpóreo, extratos de escarro e sobrenadantes de cultura de células sanguíneas:

NOTA: Se houver um volume limitado de amostra teste disponível, este deverá ser testado com os Látex Testes primeiro, e se for obtido um resultado positivo, a amostra deve ser testada com o Látex Controle apropriado. Se houver amostra suficiente, esta deve ser testada contra o Látex Teste e o Látex Controle simultaneamente.

PASSO 1	Tratar a amostra como descrito.
PASSO 2	Agitar os reagentes de látex.
PASSO 3	Colocar 1 gota de LÁTEX TESTE ou de LÁTEX CONTROLE em círculos separados no Cartão de Reação. Assegure-se que os frascos conta-gotas estejam na posição vertical para dispensar uma gota precisa. (Ver Precauções Analíticas)
PASSO 4	Utilizando um conta-gotas descartável, dispensar 1 gota (aproximadamente 40 µL) de AMOSTRA TESTE próximo a cada gota de látex.
PASSO 5	MISTURAR o conteúdo de cada círculo com um bastão de agitação e espalhar para cobrir toda a área do círculo. Usar um bastão para cada círculo e descartar após o uso.
PASSO 6	AGITAR o cartão vagorosamente e OBSERVAR se há aglutinação por 3 minutos, segurando o cartão a uma distância normal de leitura (25 a 35 cm) dos olhos. Não usar lentes de aumento. Pode ser utilizada agitação mecânica (3 minutos) (Ver Precauções Analíticas). Os padrões obtidos são claros e podem ser reconhecidos em condições normais de iluminação. Descartar os Cartões de Reação utilizados.
PASSO 7	

Culturas em placas (somente Wellicogen *N. meningitidis* B/E, *coli* K1)

PASSO 1	Agitar os reagentes de látex.
PASSO 2	Para cada cultura a ser testada, colocar 1 gota de LÁTEX TESTE em um círculo do Cartão de Reação e 1 gota do LÁTEX CONTROLE num círculo separado. Nota: é essencial utilizar o LÁTEX CONTROLE para culturas suspeitas de <i>E. coli</i> .
PASSO 3	Com um bastão de agitação pegar um pouco da cultura, tocando-a com a parte plana do bastão. Como referência, uma quantidade equivalente a 1 colônia grande deve ser coletada.
PASSO 4	EMULSIFICAR a amostra de cultura na gota do LÁTEX TESTE esfregando com a parte plana do bastão. Esfregar bem, mas não vigorosamente para não danificar a superfície do cartão. Espalhar o látex para cobrir ao máximo o círculo. Descarte o bastão de agitação. Utilizando um bastão separado, EMULSIFICAR uma amostra de cultura similar no LÁTEX CONTROLE .
PASSO 5	AGITAR o cartão vagorosamente e OBSERVAR se há aglutinação por 20 segundos, segurando o cartão a uma distância normal de leitura (25 a 35 cm) dos olhos. Não usar lentes de aumento. Os padrões obtidos são claros e podem ser reconhecidos em condições normais de iluminação.
PASSO 6	
PASSO 7	Descartar os Cartões de Reação utilizados.

CONTROLE DE QUALIDADE

De tempos em tempos é aconselhável que se verifique o desempenho das suspensões de látex utilizando uma gota de Controle Positivo Polivalente, ou no lugar da amostra teste ou adicionada a ela após verificada nenhuma reação em 3 minutos. Aglutinação definitiva deve ser obtida com todos os reagentes de Látex Teste. Se for necessária uma amostra de controle negativo, amostras de fluido corpóreo normal devem ser guardadas para este propósito, de preferência devem ser armazenadas em alíquotas congeladas a -20°C, ou pode ser utilizado meio de cultura de células sanguíneas não-inoculado. As suspensões de látex devem ser sempre inspecionadas quanto a agregação quando colocadas no Cartão de Reação, e se houver evidência de autoaglutinação, a suspensão não deve ser utilizada.

RESULTADOS

Leitura de Resultados

Uma reação positiva é indicada pelo desenvolvimento de um padrão aglutinado dentro de 3 minutos (20 segundos para teste de colônias) de mistura do látex com a amostra teste, apresentando grumos claramente visíveis de partículas de látex (Figura 1). A velocidade de aparição e a qualidade da aglutinação dependem da característica do antígeno, variando de grandes grumos que aparecem dentro de poucos segundos de agitação a pequenos grumos que se desenvolvem lentamente. Na identificação de culturas, a maioria das reações positivas será quase instantânea.

Uma reação negativa o látex não aglutina e a aparência leitosa permanece praticamente a mesma durante todo o teste (Figura 2). Note, porém, que alguns traços de granulação podem ser detectados num padrão negativo, dependendo da acuidade visual do operador. Na identificação de culturas, algumas cepas podem causar uma agregação "fina e comprida" do látex com um fundo leitoso, isto pode ser interpretado como uma reação negativa.

NOTA: As partículas de látex utilizadas no Teste Wellicogen *N. meningitidis* B/E, *coli* K1 e nas suspensões de Látex Controle não são as mesmas que aquelas utilizadas para os outros reagentes e dão uma aglutinação mais fina.

Figura 1

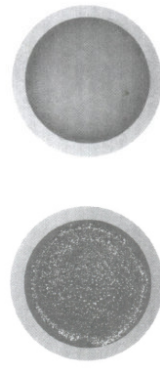


Figura 2

Interpretação dos Resultados

Resultado Positivo

Aglutinação clara de um único Látex Teste acompanhado de reações negativas com outros reagentes Látex Teste e Látex Controle indica a presença e identificação de antígeno bacteriano na amostra teste. Como regra geral um resultado positivo com Wellicogen *N. meningitidis* B/E, *coli* K1 contra uma amostra neonatal sugere uma infecção por *E. coli* K1, com pacientes com mais idade, é mais provável o meningococo grupo B.

Infecções por estreptococos grupo B ocorre primeiramente em recém-nascidos. Resultados positivos obtidos com amostras de fluido corpóreo de pacientes com mais de seis meses de idade devem ser interpretados com cautela. Resultados positivos obtidos com sobrenadantes de cultura de células sanguíneas de pacientes com qualquer idade podem ser significantes.

Resultado Negativo

Reações negativas com todos os reagentes de Látex Teste indicam ausência de um nível detectável de antígenos bacterianos no fluido teste – não elimina a possibilidade de uma infecção causada por esses organismos, e se os sintomas persistirem é aconselhável a realização do teste em amostras subsequentes ou alternativas, ou após a concentração da urina.

Com uma cultura, a falta de aglutinação nos reagentes Wellicogen *N. meningitidis* B/E, *coli* K1 indica que provavelmente não é *N. meningitidis* grupo B ou *E. coli* K1.

Resultados Não-Interpretáveis

Aglutinação de mais de um reagente Látex Teste ou Látex Controle correspondentes indica uma reação não-específica. Na maioria dos casos, reações não-específicas com fluidos corpóreos podem ser eliminadas aquecendo e clarificando a amostra³ (ver Preparação das Amostras Clínicas). Se ocorrer uma reação não-específica com o sobrenadante de cultura de células sanguíneas, aqueça a amostra num banho de água fervente por 5 minutos, resfrie até atingir temperatura ambiente, clarifique por centrifugação e repita o teste.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. Infecções por estreptococos grupo B ocorrem primeiramente em recém-nascidos. Resultados positivos obtidos com amostras de fluido corpóreo de pacientes com mais de seis meses de idade devem ser interpretados com cautela. Resultados positivos obtidos com sobrenadantes de cultura de células sanguíneas de pacientes com qualquer idade podem ser significantes.
2. Um resultado positivo no teste depende da presença de um nível detectável de antígeno no fluido corpóreo, amostra de escarro ou meio de cultura de células sanguíneas. Testes realizados diretamente nas amostras clínicas têm a intenção de monitorar e devem aumentar, e não substituir, procedimentos de cultura.
3. Estudos clínicos limitados estão disponíveis para a detecção de antígeno em urina ou soro utilizando Wellicogen *N. meningitidis* B/E, *coli* K1 (Tabela 6). Não há estudos clínicos disponíveis para a detecção de antígeno na urina ou soro utilizando Wellicogen *N. meningitidis* B/E, *coli* K1 (Tabela 6). Entretanto, antígenos foram encontrados em amostras ACY W135 de urina^{1, 4, 10, 11}.
4. Foram encontrados alguns exemplos de bactéria não-relacionada que possui antígenos comuns e, como em qualquer sistema de teste imunológico, a possibilidade de ocorrer reações cruzadas no teste de látex não pode ser descartada^{1, 4, 10, 11}.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DO DESEMPENHO

- 1) **Fluidos corpóreos e Culturas de células sanguíneas**
Estudos clínicos foram realizados em 15 centros utilizando amostras de fluido corpóreo (recém coletado e congelado) e sobrenadantes de culturas sanguíneas. Foram utilizadas técnicas de cultura tradicionais e radiométricas nos estudos de cultura de células sanguíneas. Amostras de fluido corpóreo armazenadas não foram tratadas com calor como descrito na Preparação de Amostras Clínicas. Testes laboratoriais extensivos têm demonstrado que não há perda significante de antígeno após o aquecimento por esse procedimento.
- 2) **Sensibilidade**
A sensibilidade de cada látex no kit foi estabelecida a partir de testes em amostras de culturas positivas para o organismo homólogo ou para aquele onde houvesse evidência de infecção (diagnóstico clínico mais outro teste positivo para antígeno).

As Tabelas 2 a 6 mostram os números de cada tipo de amostra testada com o látex individuais junto com o número de resultados positivos obtidos. A sensibilidade de cada látex na detecção de antígeno bacteriano em FCS foi de 67% (12/18) para Wellicogen Estrep. B. 97%

(87/80) para Wellcogen *H. influenzae* b. 88% (45/51) para Wellcogen *S. pneumoniae*. 71% (29/41) para Wellcogen *N. meningitidis* ACY W135 e 64% (7/11) para Wellcogen *N. meningitidis* B/E. coli K1.

Especificidade

A especificidade de cada um dos reagentes Wellcogen foi avaliada utilizando-se fluido corpóreo (recém coletado e congelado) e amostras de cultura de células sanguíneas de pacientes com meningite bacteriana ou asséptica e outras condições não-relacionadas.

Os organismos isolados a partir das amostras infectadas foram *H. influenzae* b, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* incluindo grupos A, B, C, Y, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus epidermidis*, estreptococos alfa-hemolíticos, estreptococos grupo A beta-hemolíticos, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas*, *Streptococcus sanguis*, *Toxoplasma gondii* e uma bactéria coliforme.

A especificidade em todos os cinco látex Wellcogen em testes no FCS foi maior que 98% (57/58). Detalhes do número de amostras testadas e a especificidade de cada Wellcogen com cada tipo de amostra são apresentados nas tabelas 2-6.

2) Amostras de escarro (*S. pneumoniae*)

Num estudo onde o Wellcogen *S. pneumoniae* foi comparado à cultura em 129 amostras de escarro a sensibilidade do Wellcogen *S. pneumoniae* foi de 94% (33/35) e a especificidade foi de 80% (61/76). Quinze amostras de escarro deram um resultado positivo com Wellcogen *S. pneumoniae* quando o resultado da cultura foi negativo, todas as amostras foram também positivas em outro teste de detecção de antígeno. Além disso, houve onze amostras que deram resultados não-específicos.

Outros estudos utilizando o Wellcogen *S. pneumoniae* para testar amostras de escarro^{3,7,12} deram resultados semelhantes.

3) Culturas em placas (*N. meningitidis* B/E. coli K1)

Culturas de *N. meningitidis* e de *E. coli* que cresceram em meio de ágar enriquecido foram testadas em laboratórios hospitalares e no Murex Biotech. Todas as culturas de *N. meningitidis* grupo B e *E. coli* K1 foram corretamente identificadas. Não houve reações cruzadas com outros grupos de *N. meningitidis* ou outros antígenos *E. coli* K (Tabela 7). Uma alta proporção das culturas de *E. coli* com outros antígenos K que foram testados deram reações não-específicas (Tabela 7).

Tabela 1
Amostras que foram avaliadas com reagentes de látex Wellcogen individuais

Amostra	Wellcogen		<i>N. meningitidis</i> B/E. coli K1
	Estrep. B	<i>S. pneumoniae</i> W135	
FCS	+	+	+
Soro	+	+	+
Urina	+	+	+
Cultura de células sanguíneas	+	+	+
Escarro	-	+	-
Colônias de bactérias	-	-	+

Explicação

+ Estudo disponível para provar estes dados.

+* Estudo limitado no presente.

- Não há estudos no presente.

Tabela 2
Resultados de estudos clínicos com Wellcogen Estrep. B

Amostra	Sensibilidade ^a		Especificidade ^b
	Nº testado	Nº positivo	
FCS	18	12	58
Soro	19	13	7
Urina	20	17	22
Cultura de células sanguíneas	9	9	369

^a estreptococos grupo B beta-hemolítico isolado/indicado (diagnóstico clínico/outra teste de antígeno).

^b Bactéria sem ser Estrep. B/ não há crescimento.

^c *E. coli* isolada

^d *P. mirabilis* isolada.

^e *Staph. Epidermidis*; estrep. grupo A beta-hemolítico; *E. coli* + Enterococos;

Staph. Epidermidis + Enterococos isolados.

Tabela 3
Resultados de estudos clínicos com Wellcogen *H. influenzae* b

Amostra	Sensibilidade		Especificidade
	Nº testado	Nº positivo	
FCS	90	87	37,5 ^b
Soro	21	20	0
Urina	10	10	236
Cultura de células sanguíneas	54	54	1566 ^c

^a Uma amostra adicional de FCS deu uma reação não-específica.

^b Uma amostra asséptica; *E. coli* isolada de outra amostra.

^c Dois sobrenadantes de cultura de células sanguíneas adicionais deram reações não-específicas.

^d Uma amostra asséptica. Outras amostras cresceram: *Staph. Aureus*; *E. coli* + *Staph. Albus*; *K. oxytoca*; estreptococos alfa-hemolítico.

Tabela 4
Resultados de estudos clínicos com Wellcogen *S. pneumoniae*

Amostra	Sensibilidade		Especificidade
	Nº testado	Nº positivo	
FCS	51	45	483 ^a
Soro	6	6	13
Urina	105	46	320 ^c
Escarro	35	33	76
Cultura de células sanguíneas	113	109	1512

^a Uma amostra adicional de FCS deu uma reação não-específica.

^b *Enterobacter aerogenes*; bactéria coliforme.

^c Três amostras de urina adicionais deram reações não-específicas.

^d Todos positivos em outro teste de detecção de antígeno.

^e *Pseudomonas*; *Strep. sanguis*; *Staph. epidermidis* + Enterococos; *Strep. viridans* isolado de 4 amostras.

Tabela 5
Resultados de estudos clínicos com Wellcogen *N. meningitidis* ACY W135

Amostra	Sensibilidade		Especificidade
	Nº testado	Nº positivo	
FCS	41 ^a	29	423
Soro	5	3	36
Urina	0	-	229 ^b
Cultura de células sanguíneas	7	7	1615

^a Inclui 8 grupos A, 25 grupo C e 1 grupo Y (o restante não foi colocado em grupos).

^b *K. aerogenes*; *E. coli*.

^c Cinco amostras de urina adicionais deram reações não-específicas.

^d *Strep. sanguis*; *Staph. epidermidis* + Enterococos.

Tabela 6
Resultados de estudos clínicos com Wellcogen *N. meningitidis* B/E. coli K1

Amostra	Sensibilidade		Especificidade
	Nº testado	Nº positivo	
FCS	11	7	128
<i>N. meningitidis</i> B	6	4	128
Soro	2	1	3
Urina	2	1	7
Cultura de células sanguíneas	7	5	461

^a Amostras armazenadas congeladas. Todas as outras amostras foram testadas recém coletadas.

^b Culturas aeróbias e anaeróbias (estreptococos A beta-hemolítico) para o mesmo paciente; estafilococos com coagulase negativo.

Tabela 7
Identificação de culturas utilizando Wellcogen *N. meningitidis* B/E. coli K1

Cultura ^a	+		-
	Nº testado	Nº positivo	
<i>N. meningitidis</i> grupo A	0	0	16
<i>N. meningitidis</i> grupo B	10	10	0
<i>N. meningitidis</i> grupo C	0	0	18
<i>N. meningitidis</i> grupo 29E	0	0	8
<i>N. meningitidis</i> grupo W135	0	0	7
<i>N. meningitidis</i> grupo X	0	0	4
<i>N. meningitidis</i> grupo Y	0	0	5
<i>N. meningitidis</i> grupo Z	0	0	3
<i>E. coli</i> K1	7	7	0
<i>E. coli</i> - outros antígenos	0	0	13 ^b

^a Culturas identificadas por aglutinação em lâmina.

^b 10 culturas adicionais deram reações não-específicas.

Bibliografia:

- Argaman, M., Liu, T. Y. and Robbins, J.B. (1974). Polyrithitol-phosphate: an antigen of four gram-positive bacteria cross-reactive with the capsular polysaccharide of *Haemophilus influenzae* type B. *J. Immunol.*, **112**, 649.
- Baker, C.J. and Rench, M.A. (1983). Commercial latex agglutination for detection of group B streptococcal antigen in body fluids. *J. Pediatr.*, **102**, 393.

- ⁹ Boersma, W.G., Lowenberg, A., Holloway, Y., Kuitschruiter, H., Snijder, J.A.M. and Koeter, G.H. (1991). Rapid detection of pneumococcal antigen in pleural fluid of patients with community acquired pneumonia. *Submitted for publication.*
- ¹⁰ Bovre, K., Bryn, K., Closs, O., Hagen, N. and Froholm, L.O. (1983). Surface polysaccharide of *Moraxella non-liquefaciens* identical to *Neisseria meningitidis* group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation. *NIPH Annals*, **6**, 66.
- ¹¹ Doskeland, S.O. and Bertdal, B.P. (1980). Bacterial antigen detection in body fluids: methods for rapid antigen concentration and reduction of nonspecific reactions. *J. Clin. Microbiol.*, **11**, 380.
- ¹² Feigin, R.D., Wong, M., Shackelford, P.G., Stechenberg, B.W., Dunkle, L.M. and Kaplan, S. (1976). Countercurrent immunoelectrophoresis of urine as well as of CSF and blood for diagnosis of bacterial meningitis. *J. Pediatr.*, **89**, 773.
- ¹³ Holloway, Y., Boersma, W.G., Kuitschruiter, H. and Snijder, J.A.M. (1991). Minimum number of pneumococci required for capsular antigen to be detectable by latex agglutination. *Fur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **112**, 567.
- ¹⁴ Kaldor, J., Asznovicz, R. and Buist, D.G.P. (1977). Latex agglutination in diagnosis of bacterial infections, with special reference to patients with meningitis and septicemia. *Amer. J. Clin. Pathol.*, **68**, 284.
- ¹⁵ Kasper, D.L., Winkelhake, J.L., Zollinger, W.D., Brandt, B.L. and Artenstein, M.S. (1973). Immunochemical similarity between polysaccharide antigens of *Escherichia coli* 07: K1 (L), NM and group B *Neisseria meningitidis*. *J. Immunol.*, **110**, 262.
- ¹⁶ Lee, C.J. and Koizume, K. (1981). Immunochemical relations between pneumococcal group 19 and *Klebsiella* capsular polysaccharides. *J. Immunol.*, **127**, 1619.
- ¹⁷ Robbins, J.B., Myerowitz, R.L., Whisnant, J.K., Argaman, M., Schneerson, R., Handzel, Z.T. and Gotschlich, E.C. (1972). Enteric bacteria cross-reactive with *Neisseria meningitidis* groups A and C and *Diplococcus pneumoniae* types I and III. *Infect. Immun.*, **6**, 651.
- ¹⁸ Whitby, M., Kristinsson, K.G. and Brown, M. (1985). Assessment of rapid methods of pneumococcal antigen detection in routine sputum bacteriology. *J. Clin. Pathol.*, **38**, 341.
- ¹⁹ Whittle, H.C., Tugwell, P., Egler, L.J. and Greenwood, B.M. (1974). Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. *Lancet*, **ii**, 619.

EDIÇÃO INSTRUÇÃO DE USO: JUNHO/2003
 LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E VALIDADE: VIDE RÓTULOS DOS FRASCOS E KIT