	<b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA PREPARACIÓN, ANÁLISIS Y VALIDACIÓN DE RESULTADOS DE PRUEBAS DE DETECCIÓN DE REACCIONES FEBRILES Y ROSA DE BENGALA EN EL LABORATORIO CENTRAL</b>	Código: IT-CH-LC-10
		Página 1 de 9
	<b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIANOSTICO Y TRATAMIENTO</b>	Fecha de Revisión: Agosto 2019
		Versión vigente: 00

## INDICE

Pág.

1.0 ALCANCE.....	1
2.0 DOCUMENTOS APLICABLES.....	1
3.0 DEFINICIONES.....	2
4.0 MATERIAL Y EQUIPO .....	4
5.0 DESARROLLO.....	5
6.0 ANEXOS.....	8
7.0 CONTROL DE CAMBIOS.....	9

### 1. Alcance:

Aplica al personal que labora en el laboratorio central del Antiguo Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde" (AHCGFAA) que procesa la solicitud, análisis de exámenes específicos para Reacciones Febriles y Rosa de Bengala así como para el personal de áreas que requieran estos estudios y que contribuyen al estudio, prevención y diagnóstico viable para el cuerpo humano y que los resultados sean, en forma precisa.

### 2. Documentos Aplicables:


- I. NOM-007- SSA-3-2011 para la Organización Funcionamiento de los laboratorios clínicos.
- I. NOM-078-SSA1-1994, que establece las especificaciones sanitarias de los estándares de calibración utilizados en las mediciones realizadas en los laboratorios de patología clínica.
- II. NOM-064-SSA-1-1993 que establece las especificaciones sanitarias de los equipos de reactivos utilizados para diagnóstico.
- III. NOM-017-STPS-2008 relativa al equipo de protección personal para los trabajadores en los centros de trabajo.
- IV. NOM-018-STPS-2015, Sistema armonizado para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo
- V. NOM-025-STPS-2008 condiciones de iluminación en los centros de trabajo.
- VI. NOM-026-STPS-2008, colores y señales de seguridad e higiene, e identificación de riesgos por fluidos conducidos en tuberías
- VII. NOM 087 ECOL SSA-1-2002 .Protección Ambiental-protección ambiental-salud ambiental-residuos peligrosos biológicos infecciosos.
- VIII. NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 Protección ambiental-salud ambiental-residuos peligrosos biológico-infecciosos-clasificación y especificaciones de manejo.

### 3.- Definiciones:

**Reacciones Febriles:** Son un conjunto de pruebas que sirven como su nombre lo indica para diagnosticar enfermedades que cursan con fiebre, como Fiebre tifoidea (Salmonella), Brucelosis (fiebre ondulante, fiebre de Malta) y Rickettsiosis (Fiebre Q, fiebre manchada de las montañas rocallosas).

Los antígenos febriles se usan para detectar anticuerpos en el suero del paciente contra la Salmonella, Brucella y Rickettsias (reacción cruzada con Proteus OX-19.)

	Elaboró	Revisó	Autorizó
COPIA NO CONTROLADA	Q.F.B. María Elena Hernández Rodríguez Adscrita a Laboratorio de Patología Clínica <i>María Elena Hernández Rodríguez</i>	Dr. Ramón Sigala Arellano Jefe del Laboratorio de Patología Clínica <i>Ramón Sigala Arellano</i>	Dr. Santiago López Venegas Jefe de la División de Servicios Auxiliares de Diagnóstico y Tratamiento] <i>Santiago López Venegas</i>

	<b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA PREPARACIÓN, ANÁLISIS Y VALIDACIÓN DE RESULTADOS DE PRUEBAS DE DETECCIÓN DE REACCIONES FEBRILES Y ROSA DE BENGALA EN EL LABORATORIO CENTRAL</b> <b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIANOSTICO Y TRATAMIENTO</b>	Código: IT-CH-LC-10
		Página 2 de 9
		Fecha de Revisión: Agosto 2019
		Versión Vigente: 00

Estas reacciones se basan en el hecho de que cuando el organismo humano es invadido por agentes infecciosos, responde produciendo anticuerpos aglutinantes contra ellos los cuales se ponen de manifiesto al entrar en contacto el anticuerpo con el antígeno específico. El título (valor) del anticuerpo depende del tipo y curso de la enfermedad. Para que los resultados tengan un valor diagnóstico el título de ellos debe aumentar, por lo que se deben tomar 2 muestras separadas por un periodo de tiempo de 4 semanas para ser comparadas.

La reacción de Widal es un test basado en el principio de aglutinación antígeno-anticuerpo, donde se determina la presencia de anticuerpos contra el antígeno O y H de la Salmonella typhi para el serodiagnóstico de fiebre tifoidea, sin embargo debido a su falta de especificidad, debe ser interpretado en el contexto clínico del paciente. Para considerar el diagnóstico de fiebre tifoidea con un título Anti-O y Anti-H aislado, se debe conocer su prevalencia en una determinada comunidad, en términos generales, se acepta títulos anti-O y anti-H  $\geq 1:160$  -200 y  $\geq 1:50$  -100 en zonas endémicas y no endémicas, respectivamente.

I. Reacción de Widal que incluye:

- a) Antígeno tífico "O".
- b) Antígeno tífico "H".
- c) Antígeno paratífico "A".
- d) Antígeno paratífico "B".

II.- Reacción de Weil Felix que incluye:

- a) Antígeno Proteus OX19.

III. Reacción de Huddleson que incluye:

- b) Antígeno Brucella abortus.

**Condiciones de Almacenamiento:** Condiciones de las áreas de conservación de los reactivos y demás insumos para la salud las cuales están definidas con base a los resultados de los estudios de estabilidad realizadas de acuerdo a la norma oficial mexicana (NOM) vigente que corresponda.

Cuando un texto menciona una temperatura sin indicación en cifras, los términos generales utilizados tienen el significado siguiente:

**Temperatura fresca o fresco:** Entre los 15 y 30 °C y secos con humedad relativa no mayor del 65% lugar fresco y seco.


**Temperatura de refrigeración:** Entre 2 y 8°C.

**Temperatura de congelación:** Entre -25°C y -10°C.

**Temperatura ambiente:** Ventilados entre 15 y 30°C y secos con humedad relativa no mayor del 65%, lugar fresco y seco.

**Centímetro** (símbolo cm): Es una unidad de longitud. Es el segundo submúltiplo del metro y equivale a la centésima parte de él. Se trata de una unidad de longitud derivada en el Sistema Internacional de Unidades, al mismo tiempo que es la unidad de longitud básica en el Sistema Cegesimal de Unidades.

COPIA NO CONTROLADA

	<b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA PREPARACIÓN, ANÁLISIS Y VALIDACIÓN DE RESULTADOS DE PRUEBAS DE DETECCIÓN DE REACCIONES FEBRILES Y ROSA DE BENGALA EN EL LABORATORIO CENTRAL</b> <b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIANOSTICO Y TRATAMIENTO</b>	Código: IT-CH-LC-10
		Página 3 de 9
		Fecha de Revisión: Agosto 2019
		Versión Vigente: 00

**Aplicador:** Varita de madera de 15 cm de largo.

**Laminilla o Portaobjetos:** son láminas de vidrio rectangulares, donde se coloca la muestra para poder verla al microscopio, existen portaobjetos con cavidades semiesféricas que pueden ser de distinto diámetro y profundidad, se utilizan para técnicas de laboratorio en las que se hacen observaciones en vivo.

**Reactivos:** Sustancias químicas que mezclados se genera un producto o solución y que sirve para realizar pruebas en muestras biológicas y determinar una X concentración de acuerdo a la prueba a realizar.

Para ser valorada esta solución se realizan sustancias químicas con un valor X o con muestras biológicas con valores conocidos.

Esta puede ser adaptada para trabajar de forma manual o semi-automatizada o automatizada

**Valoración o titulación** es un método de análisis químico cuantitativo en el laboratorio que se utiliza para determinar la concentración desconocida de un reactivo conocido. Debido a que las medidas de volumen desempeñan un papel fundamental en las titulaciones, se le conoce también como análisis volumétrico.

**Antígeno:** Sustancia que desencadena la formación de anticuerpos y puede causar una respuesta inmunitaria.

**Anticuerpo:** También conocidos como inmunoglobulinas, abreviado Ig, son glicoproteínas del tipo gamma globulina. Pueden encontrarse de forma soluble en la sangre u otros fluidos corporales de los vertebrados, disponiendo de una forma idéntica que actúa como receptor de los linfocitos B y son empleados por el sistema inmunitario para identificar y neutralizar elementos extraños tales como bacterias virus o parásitos.

**Suero:** Sustancia acuosa que se separa de un líquido orgánico cuando este se encuentra fuera del organismo y se ha coagulado.

**Homogenizar:** Proceso por el que se hace que una mezcla presente las mismas propiedades en toda la sustancia.

**Centrífuga:** Movimiento de rotación, tiene el objeto de separar los componentes que constituyen una sustancia.

**Revoluciones por minuto (RPM):** Es una unidad de frecuencia que se usa también ara expresar velocidad angular.


**Lipémico:** Suero que tiene un aspecto lechoso a causa de una gran concentración de grasas.

**Rotación:** Giro o vuelta de una cosa alrededor de su propio eje.

#### 4.- Material y Equipo:

- Aplicadores de Madera.
- Placas de Vidrio marcada con pequeños círculos en series de cinco.


COPIA NO CONTROLADA

	<b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA PREPARACIÓN, ANÁLISIS Y VALIDACIÓN DE RESULTADOS DE PRUEBAS DE DETECCIÓN DE REACCIONES FEBRILES Y ROSA DE BENGALA EN EL LABORATORIO CENTRAL</b> <b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIANOSTICO Y TRATAMIENTO</b>	Código: IT-CH-LC-10
		Página 4 de 9
		Fecha de Revisión: Agosto 2019
		Versión Vigente: 00

- Antígenos en suspensión:
  - a) Antígeno "O" Salmonella typhi.
  - b) Antígeno "H" Salmonella typhi.
  - c) Antígeno Salmonella paratyphi "A".
  - d) Antígeno Salmonella paratyphi "B".
  - e) Antígeno Brucella abortus.
  - f) Antígeno Proteus OX-19.
  
- Suero control positivo título 1:20.
- Suero Control negativo (no muestra titulación).
- Antígeno Tamponado de Brucella.
- Control Positivo de Brucella.
- Control Negativo de Brucella.
- Pipetas automáticas de 5 a 50µL.
- Pipeta automática de 20 a 200 µL.
- Agitador Mecánico Orbital.
- Centrifuga.


5. Desarrollo:		
No.	Responsables	Descripción de la Actividad
<b>5.1 PREPARACION DE MATERIAL CONTROLES Y MUESTRAS</b>		
5.1.1	QFB/TCL	Extrae del refrigerador los reactivos y controles para atemperar durante 15 minutos: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Antígeno "O" Salmonella typhi.</li> <li>• Antígeno "H" Salmonella typhi.</li> <li>• Antígeno Salmonella paratyphi "A".</li> <li>• Antígeno Salmonella paratyphi "B".</li> <li>• Antígeno Brucella abortus.</li> <li>• Antígeno Proteus OX-19.</li> <li>• Suero control positivo título 1:20.</li> <li>• Suero Control negativo (no muestra titulación).</li> <li>• Antígeno Tamponado de Brucella.</li> <li>• Control Positivo de Brucella.</li> <li>• Control Negativo de Brucella.</li> </ul> <b>*Nota:</b> Se agitan ligeramente para homogenizar.
5.1.2	QFB/TCL	Prepara Placas de Vidrio marcada con pequeños círculos en series de cinco para cada uno de los pacientes. <b>*Nota:</b> Se anota previamente el antígeno que le corresponda a cada serie.
5.1.3	QFB/TCL	Recoge muestras de pacientes de recepción y de los cubículos 2, 3, 4, 5 y 6 del área de flebotomía. <b>*Nota:</b> Las muestras de los cubículos corresponden a pacientes de consulta externa y de recepción a pacientes hospitalizados.
5.1.4	QFB/TCL	Identifica las muestras mediante la etiqueta de código de barras colocado en el tubo correspondiente a cada paciente.

COPIA NO CONTROLADA

	<b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA PREPARACIÓN, ANÁLISIS Y VALIDACIÓN DE RESULTADOS DE PRUEBAS DE DETECCIÓN DE REACCIONES FEBRILES Y ROSA DE BENGALA EN EL LABORATORIO CENTRAL</b>	Código: IT-CH-LC-10
		Página 5 de 9
		Fecha de Revisión: Agosto 2019
	<b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIANOSTICO Y TRATAMIENTO</b>	Versión Vigente: 00

		*Nota: El análisis de Reacciones Febriles y Rosa de Bengala se realiza en suero. (Ver Anexo 1).						
5.1.5	QFB/TCL	<table border="1"> <thead> <tr> <th>¿MUESTRA CORRECTA?</th> <th>ENTONCES</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SI</td> <td>Continua en 5.1.6</td> </tr> <tr> <td>NO</td> <td>Solicita nueva muestra y registra las observaciones correspondientes en el sistema informático.</td> </tr> </tbody> </table>	¿MUESTRA CORRECTA?	ENTONCES	SI	Continua en 5.1.6	NO	Solicita nueva muestra y registra las observaciones correspondientes en el sistema informático.
		¿MUESTRA CORRECTA?	ENTONCES					
		SI	Continua en 5.1.6					
NO	Solicita nueva muestra y registra las observaciones correspondientes en el sistema informático.							
5.1.6	QFB/TCL	Centrifuga las muestras de pacientes durante 10 min. A 3500 rpm.						
5.1.7	QFB/TCL	Comprueba que el suero sea perfectamente claro, No Lipémico.						
		<table border="1"> <thead> <tr> <th>¿SUERO ÓPTIMO?</th> <th>ENTONCES</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SI</td> <td>Continua en 5.2.1</td> </tr> <tr> <td>NO</td> <td>Solicita nueva muestra, registra las observaciones correspondientes en el sistema informático.</td> </tr> </tbody> </table>	¿SUERO ÓPTIMO?	ENTONCES	SI	Continua en 5.2.1	NO	Solicita nueva muestra, registra las observaciones correspondientes en el sistema informático.
		¿SUERO ÓPTIMO?	ENTONCES					
SI	Continua en 5.2.1							
NO	Solicita nueva muestra, registra las observaciones correspondientes en el sistema informático.							
<b>5.2 ANALISIS Y VALIDACION DE RESULTADOS PARA MUESTRAS DE REACCIONES FEBRILES.</b>								
5.2.1	QFB/TCL	<ol style="list-style-type: none"> <li>Deposita en los círculos de la placa una gota 0.08 ml de suero del paciente de izquierda a derecha.</li> <li>Agrega una gota de antígeno en cada una de las cantidades de suero, mezcla con un aplicador de madera limpio.</li> <li>Agita la placa por rotación a 120 revoluciones por minuto durante dos minutos.</li> <li>Hace la lectura bajo la fuente de luz indirecta observar la aglutinación macroscópica y reporta los resultados de la siguiente manera: <ul style="list-style-type: none"> <li>Suero 0.08 ml. Corresponde a un título de 1:20</li> <li>Suero 0.04 ml. Corresponde a un título de 1:40</li> <li>Suero 0.02 ml. Corresponde a un título de 1:80</li> <li>Suero 0.01 ml. Corresponde a un título de 1:160</li> <li>Suero 0.005 ml. Corresponde a un título de 1:320</li> </ul> </li> </ol> <p>*Nota: Los títulos de 1:20 hasta 1:80 son considerados <b>Negativos</b> a partir del título: 1:160 son considerados <b>Positivos</b>.</p>						
5.2.2	QFB/TCL	Abre la interfaz del sistema informático. Verifica la lista de trabajo entrando con la clave RF. Reporta y valida los resultados de cada paciente en forma manual.						
<b>5.3 ANALISIS Y VALIDACION PARA LA PRUEBA DE ROSA DE BENGALA</b>								
5.3.1	QFB/TCL	Prepara la placa de vidrio para cada paciente marcado con tres círculos de 2 cm de diámetro. Marca cada uno de los círculos para control negativo, control positivo y paciente.						
5.3.2	QFB/TCL	Homogeniza suavemente los controles y deposita 30µL del control positivo y negativo respectivamente y en el tercer círculo el suero del paciente correspondiente.						
5.3.3	QFB/TCL	Homogeniza suavemente el antígeno rosa de bengala 8% concentración celular. Deposita 30µL en los tres círculos.						

COPIA NO CONTROLADA

	<b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA PREPARACIÓN, ANÁLISIS Y VALIDACIÓN DE RESULTADOS DE PRUEBAS DE DETECCIÓN DE REACCIONES FEBRILES Y ROSA DE BENGALA EN EL LABORATORIO CENTRAL</b> <b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIANOSTICO Y TRATAMIENTO</b>	Código: IT-CH-LC-10
		Página 6 de 9
		Fecha de Revisión: Agosto 2019
		Versión Vigente: 00

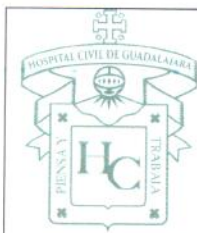
		Mezcla el suero y el antígeno en forma circular.
5.3.4	QFB/TCL	Levanta la placa y realiza movimientos rotatorios de 10 a 12 durante 4 minutos.
5.3.5	QFB/TCL	Realiza la lectura colocando la placa sobre un fondo blanco y hace incidir una luz indirecta en la placa de vidrio. El resultado de la lectura del diagnóstico se informa como positivo o negativo. Observa grumos de aglutinación que pueden ser grandes o pequeños: Reacción <b>Positiva</b> , ausencia de grumos: Reacción <b>Negativa</b> . (Ver anexo 4).
5.3.6	QFB/TCL	Abre la interfaz del sistema informático. Verifica la lista de trabajo entrando con la clave: RB Reporta y valida los resultados de cada paciente en forma manual.
5.3.7	QFB/TCL	Recoge y guarda el material respectivamente.
5.4.1	QFB/TCL	Limpia su área de trabajo dejarlo en óptimas condiciones de higiene y aseo. Limpia la mesa de trabajo, lo realiza utilizando hipoclorito de sodio al 5% en una dilución de 1:10 de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Coloca los materiales de desecho en los contenedores especiales. (Ver anexo 1). Del Manual de procedimientos de bioseguridad dad en las diferentes áreas del laboratorio de patología clínica (BM-CH-LC-01).

#### 6. Anexos:



Anexo 1: Tomada la imagen de: Apuntes de Análisis Clínicos Q.B. Beatriz Eugenia Bayardo P.

COPIA NO CONTROLADA



**INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA PREPARACIÓN,  
ANÁLISIS Y VALIDACIÓN DE RESULTADOS DE  
PRUEBAS DE DETECCIÓN DE REACCIONES FEBRILES  
Y ROSA DE BENGALA EN EL LABORATORIO CENTRAL  
DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIANOSTICO Y  
TRATAMIENTO**

Código: IT-CH-LC-10

Página 7 de 9

Fecha de Revisión:  
Agosto 2019

Versión Vigente: 00

Los siguientes datos son de utilidad en la realización de pruebas serológicas con los antígenos febriles:

Antígeno	Patología	Tiempo del título máximo	Título significativo
Tífico "O"	Fiebre tifoidea	3-5 semanas	1:80* Sobre 1:160 es indicativo
Tífico "H"	Fiebre tifoidea	4-5 semanas	1:180
Paratífico "A"	Fiebre paratifoidea	3-5 semanas	1:80*
Paratífico "B"	Fiebre paratifoidea	3-5 semanas	1:80*
B. abortus	Brucelosis	3-5 semanas	1:80 Sobre 1:160 es indicativo
Proteus OX19	Tifus	2-3 semanas	1:160 y más alto
Proteus OX19	Fiebre exantemática de las Montañas Rocosas	2-3 semanas	1:160 - 1:320
Leptospira	Leptospirosis	1-2 semanas	1:100
P. tularensis	Tularemia	4-8 semanas	1:160


\* Significativo en individuos no vacunados.

**Anexo2:** Tomada la imagen de: Apuntes de Análisis Clínicos Q.B. Beatriz Eugenia Bayardo P.

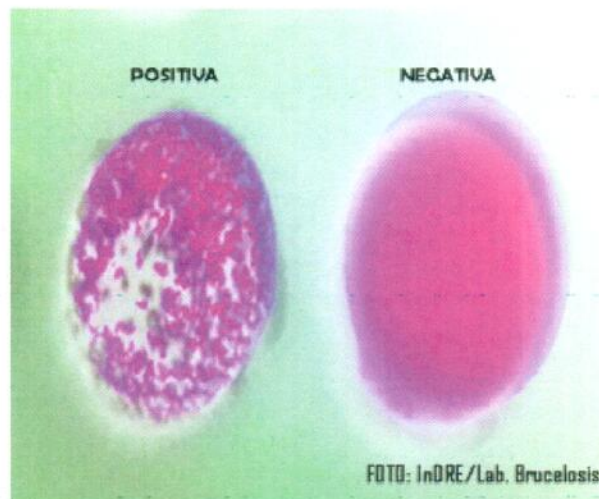
**Anexos3:** Se obtiene del catálogo que recomienda el material con las especificaciones para recolección y procesamiento de muestras para Reacciones Febriles



COPIA NO CONTROLADA

	<b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA LA PREPARACIÓN, ANÁLISIS Y VALIDACIÓN DE RESULTADOS DE PRUEBAS DE DETECCIÓN DE REACCIONES FEBRILES Y ROSA DE BENGALA EN EL LABORATORIO CENTRAL</b> <b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIANOSTICO Y TRATAMIENTO</b>	Código: IT-CH-LC-10
		Página 8 de 9
		Fecha de Revisión: Agosto 2019
		Versión Vigente: 00

**Anexo 4:** Reacción para Rosa de bengala.



**Anexo 4:** Se obtiene de imagen Instituto de Diagnóstico y referencia Laboratorio Brucelosis.

**7. Control de Cambios:**

Versión Vigente	Fecha	Motivo
00	Agosto 2019	Alta de Documento

COPIA NO CONTROLADA