

Suero aglutinante de Salmonella

ES

1. UTILIDAD

El suero aglutinante de Salmonella se utiliza en ensayos de aglutinación en tubos y en portaobjetos para la identificación serológica de cultivos de Salmonella con fines epidemiológicos y diagnósticos. Con el ensayo Suspensiones de Salmonella teñidas se pueden utilizar los sueros adecuados como antisueros de control⁸. Asimismo, el antisuero frente al antígeno H de la Salmonella se puede utilizar en los procedimientos de cambio de fase¹.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

El esquema de Kauffmann-White subdivide el género Salmonella en serotipos siguiendo las combinaciones de antígenos somáticos (O) y flagelares (H), que se identifican mediante ensayos de aglutinación². Debido al amplio número de relaciones antigénicas que tienen lugar entre la Salmonella y organismos de otros géneros, los procedimientos de identificación deben incluir cultivo y análisis bioquímicos además de ensayos serológicos. El suero aglutinante se debe usar en ensayos confirmatorios y, con la precaución necesaria, se puede utilizar en los ensayos de cribado⁷.

El suero se absorbe para eliminar las aglutininas de otros antígenos de Salmonella y las α aglutininas "paracolón". El suero aglutinante somático de Salmonella (serie ZC) se usa para la identificación de los antígenos O en los ensayos de aglutinación en portaobjetos, aunque también se puede usar en los ensayos confirmatorios en tubo.

El suero aglutinante flagelar de Salmonella (serie ZD) se utiliza en la identificación de los antígenos H. En los ensayos de aglutinación en portaobjetos se debe usar el suero polivalente. En ensayos preliminares en portaobjetos se puede usar suero monovalente, si bien los resultados obtenidos se deben confirmar mediante ensayos de aglutinación en tubo.

En el caso de los serotipos H con determinantes comunes (por ejemplo, el grupo G: fg, gm, gp, gq, gst), los sueros polivalentes denominados con mayúsculas deben reaccionar con organismos que posean el mismo factor hasta aproximadamente el mismo título en un ensayo de aglutinación con tubos. El suero denominado con letra minúscula debe reaccionar en organismos que posean antígenos homólogos hasta en una dilución al menos 2 tubos superior que la de aquellos antígenos heterólogos con factores comunes (consulte la tabla 1).

Tabla 1

Reacciones de aglutinación en tubos de 3 antígenos H relacionados y sus antisueros correspondientes

Antígeno	Antisuero			
	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. PRINCIPIOS BIOLÓGICOS DEL PROCEDIMIENTO

Las pruebas serológicas se basan en el hecho de que los anticuerpos del suero, producidos al verse expuestos a los antígenos bacterianos, se aglutinan con las bacterias que cuentan con antígenos homólogos.

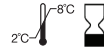
4. REACTIVOS

4.1. CONTENIDO DEL KIT

Cada kit contiene un frasco de antisuero (2 ml) y las instrucciones de uso. La especificidad de los antisueros se muestra en la etiqueta del frasco.

4.2. Descripción, preparación para el uso y almacenamiento

Si desea más información, consulte el apartado **Advertencias y precauciones** en este folleto



Si se almacena a una temperatura entre 2° y 8°C, el suero permanece activo al menos hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del frasco.



El antisuero de Salmonella se conserva con fenol al 0,5% o con azida de sodio al 0,1%. El suero se produce en conejos.

Cada frasco, provisto de dispensador y cuentagotas, contiene 2 ml de solución y se suministra listo para su uso.

Durante el almacenamiento el suero puede adquirir una ligera turbidez, la cual no interfiere necesariamente en los resultados ni implica su deterioro. Antes del uso, clarifique el suero mediante centrifugación o filtración (con un filtro de membrana de 0,45 µm). Por el contrario, un aspecto intensamente turbio es señal de contaminación y el suero se debe desechar.

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES



Sólo para uso en diagnóstico *in vitro*.

Sólo para uso profesional.

Este producto puede contener hasta el 0,02% de tiomersal.

Para más información sobre los componentes potencialmente peligrosos, consulte la hoja de seguridad de datos del fabricante y el etiquetado de los productos.

5.1. Precauciones de Seguridad

5.1.1 Manipule las muestras bacterianas de acuerdo con las normas de seguridad y las precauciones de manipulación vigentes.

5.1.2 Después del uso, los materiales no desechables se deben esterilizar. El método adecuado es la esterilización con autoclave a una temperatura de 121°C durante al menos 15 minutos. Los materiales desechables se deben esterilizar con autoclave o incinerar.

5.1.3 Las salpicaduras de los materiales potencialmente infecciosos se deben eliminar inmediatamente con papel absorbente y se debe limpiar la zona contaminada con un desinfectante bactericida adecuado o con

alcohol al 70%. Los materiales utilizados para limpiar las salpicaduras, incluidos los guantes, se deben eliminar junto con los desechos potencialmente infecciosos.

5.1.4 No pipetee con la boca. Utilice guantes desechables y protección para los ojos cuando manipule las muestras y realice el ensayo. Lávese bien las manos cuando haya terminado el análisis.

5.1.5 El antisuero somático de Salmonella contiene fenol al 0,5% y el antisuero flagelar de Salmonella azida sódica al 0,1%. Aunque la concentración es baja, ambas sustancias son tóxicas por ingestión y en contacto con la piel. No ingiera los reactivos. Si cualquiera de los reactivos entra en contacto con la piel o los ojos, lávese inmediatamente y bien con agua abundante.

5.1.6 Manipule las muestras y los reactivos como si fueran materiales potencialmente infecciosos siguiendo los Procedimientos Normalizados de Trabajo.

5.2. Precauciones de manipulación

5.2.1 No utilice los antisueros transcurrida la fecha de caducidad. Se debe evitar la contaminación microbiológica de los antisueros, ya que puede provocar resultados erróneos y afectar al rendimiento de los reactivos.

5.2.2 No modifique el procedimiento del ensayo, la temperatura ni el tiempo de incubación. No se debe diluir.

5.2.3 Inmediatamente después del uso, almacene los sueros bajo las condiciones antes indicadas.

6. RECOGIDA, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Se recomienda utilizar cultivos recientes en medios no selectivos, tales como agar nutriente.

Para más información sobre la recogida y la preparación de las muestras, se debe consultar un libro especializado.

7. PROCEDIMIENTO

Materiales Suministrados

Los antisueros se suministran en frascos con dispensador y cuentagotas incorporados.

Materiales necesarios pero no suministrados

- Solución salina al 0,85%.
- Portaobjetos de vidrio.
- Asa inoculadora bacteriológica y mechero de Bunsen.
- Superficie oscura con luz indirecta.
- Tubos de ensayo y gradillas.
- Baño termostático ajustable con termómetro.
- Cronómetro.
- Pipetas.
- Las suspensiones teñidas (SS05 / R30952901 & SS07 / R30953101) se suministran como controles.
- Centrífuga.
- Solución salina con formol al 0,5% o caldo de cultivos con formol.

7.1. Procedimiento del ensayo

Ensayos de aglutinación en portaobjetos

Paso 1	Dispense 2 gotas (40 µl cada una) de solución salina al 0,85% en un portaobjetos de vidrio. Con un asa inoculadora emulsiona partes del cultivo con cada gota de solución salina al 0,85% para obtener una suspensión homogénea y densa.
Paso 2	Añada, como control, una gota (40 µl) de solución salina al 0,85% a una suspensión y mezcle. Añada a la otra suspensión una gota (40 µl) de antisuero sin diluir y mezcle.
Paso 3	Agite suavemente el portaobjetos durante 1 minuto y examine la aglutinación sobre una superficie oscura con luz indirecta. Deseche el portaobjetos utilizado según las disposiciones vigentes de desinfección y de desecho.

Ensayo de aglutinación en tubo

Se pueden usar suspensiones vivas como antígenos, si bien se debe actuar con precaución para no contaminar el laboratorio. El antígeno para los ensayos de aglutinación en tubos del antígeno H se puede preparar mediante la suspensión de organismos en solución salina con formol al 0,5% o usando caldo de cultivo con formol³. Debido a la escasa motilidad de los organismos, las colonias extraídas de medios primarios de aislamiento pueden no ser adecuadas para determinar el serotipo H. Esto se puede mejorar con subcultivos en agar inclinado húmedo, con agar al 0,5% en una placa de Petri o con agar al 0,2% en un tubo de Craigie y tomando la línea de crecimiento del cultivo tras la incubación.

Paso 1	Prepare una suspensión que contenga pocas bacterias (aproximadamente 10 ⁹ organismos/ml).
Paso 2	Prepare diluciones seriadas de antisuero en volúmenes de 0,5 ml, desde 1:10 hasta 1:320 para la determinación de los factores O y Vi, y desde 1:25 hasta 1:800 para los factores H.
Paso 3	Añada en cada tubo 0,5 ml de la suspensión de antígenos. Esto dobla la dilución del antisuero.
Paso 4	También se debe incluir un tubo de control que contenga sólo suspensión y solución salina.
Paso 5	Golpee suavemente los tubos para mezclar el contenido. Incube los tubos del factor O durante 4 horas a una temperatura de 50°C, los tubos del factor Vi primero durante 2 horas a una temperatura de 37°C y después durante 18 horas a una temperatura entre 2° y 8°C (antes de realizar la lectura los tubos deben alcanzar una temperatura ambiente entre 18° y 30°C) y los tubos de factor H durante 2 horas a una temperatura de 50°C.
Paso 6	Golpee los tubos y examine la aglutinación utilizando una superficie oscura con luz indirecta.

Cambio de fase

Numerosos serotipos de la Salmonella poseen antígenos H bifásicos. Con frecuencia, ambas fases se observan en un cultivo. No obstante, si sólo se detecta una fase, puede ser necesario aislar e identificar la otra. Esto puede conseguirse realizando subcultivos o subcultivos reiterados sobre una placa de Petri con agar al 0,5% o en un tubo de Craigie¹ con agar al 0,2% con un 1% de suero aglutinante para la fase identificada, y analizando tras la incubación la línea de crecimiento obtenido para la fase sin identificar.

RESULTADOS

Aglutinación en portaobjetos

La aglutinación debe ser densa y claramente visible en 1 minuto. En la solución salina de control no se debe apreciar aglutinación. Si ésta se produce, la suspensión no es adecuada para el análisis con este método.

Aglutinación en tubo

En una reacción Vi positiva se observa claramente una aglutinación granular: la aglutinación del antígeno H tiene un aspecto flocular característico. Es posible que el líquido se haya aclarado y que se haya formado un sedimento con el aspecto de una masa granular que se eleva y, a continuación, desciende hasta el fondo del tubo cuando se golpea el tubo con un dedo. En una reacción negativa y en el control de solución salina la suspensión no debe cambiar de aspecto y se produce un remolino característico cuando se agita el tubo. Si se ha producido aglutinación en el control de solución salina, la suspensión no es homogénea y no es válida para la aglutinación en tubo. El título es la dilución de suero en el último tubo que presenta aglutinación. Un título igual o semejante al que figura impreso en la etiqueta del frasco indica que el antígeno es del mismo serotipo que el antisuero.

Si se utilizan sueros de control para la identificación de las suspensiones teñidas, se deben seguir las instrucciones descritas en el folleto del ensayo Suspensiones de Salmonella O y H teñidas⁸. Se debe obtener un título comprendido entre 2 diluciones seriadas de las que figuran en la etiqueta del frasco.

8. CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda probar el producto con cultivos negativos y positivos conocidos durante su uso. Ejemplos de cultivos positivos) se muestran en las tabla 2.

Si un antisuero se aglutina con un cultivo identificado como negativo o si no se aglutina con un cultivo identificado como positivo, se debe desechar.

Tabla 2: Cultivos de control positivo

Nº de lista	Referencia	Especies de Salmonella	Estructura antigénica ⁹
	NCTC		
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:lv
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

Control negativo para todos los números de lista de las series ZC y ZD: *Hafnia alvei* NCTC 8535

*organismo del grupo 3

NOTA: Si no se indica lo contrario, todos los cultivos pertenecen al grupo 2 según las normativas ACDP.

9. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La profundidad del análisis serológico depende del propósito de la investigación. Para obtener una prueba serológica de la presencia de Salmonella, se deben analizar los cultivos con suero polivalente

O, suero polivalente H y suero Vi. En caso de que se necesite un análisis más detallado, el antígeno O se suele determinar usando el suero adecuado y, a continuación, se realizan análisis para detectar el antígeno H más apropiado, tal y como se indica en el esquema de Kauffmann-White^{2,4,5,6,9}.

10. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Aunque es prácticamente imposible conseguir suero de reacción individual para cada antígeno conocido de Salmonella, se cuenta con un amplio número de sueros disponibles, el suficiente como para identificar con un alto grado de exactitud a la mayoría de los tipos aislados de Salmonella.

El antisuero proporciona sólo una identificación serológica. Una identificación completa de un organismo se debe realizar sólo si se utilizan ensayos bioquímicos adicionales.

Aunque se haya absorbido el suero para minimizar posibles reacciones cruzadas, no se puede excluir completamente la posibilidad de reacciones cruzadas con otros antígenos de Salmonella u otros organismos relacionados a la especie.

11. RESULTADOS ESPERADOS / CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Aglutinación visible en presencia de antígenos homólogos (véase la especificidad de los antisueros en la etiqueta del frasco). Véanse las limitaciones del procedimiento.

12. BIBLIOGRAFÍA









- ¹ Cruickshank, R., Duguid *et al* (1975). *Medical Microbiology*, 12th Edition, Volume 2, page 417. Churchill Livingstone, London.
- ² Edwards, P.R. and Ewing, W.H. (1972). *Identification of Enterobacteriaceae*. 3rd Edition. Burgess Publishing Co., Minneapolis.
- ³ Farmer, J.J. (1975). Formalinized bacterial "antigens" as a potential infection hazard. *J. Clin. Microbiol.*, **2**, 359.
- ⁴ Kauffmann, F. (1966). *The Bacteriology of Enterobacteriaceae*. Munksgaard, Copenhagen.
- ⁵ Nomenclature Committee of the International Assoc. of Microbiologists (Suppl. to 6th Report) (1958). *Int. Bull. Bact. Nomencl. and Tax.*, **8**, 79.
- ⁶ Serological Reagents for Bacterial Diagnosis. *Mon. Bull. Min. Hlth.* (1961). **20**,134.
- ⁷ Taylor, J. (1967). The isolation and identification of salmonellae. A.C.P. Broadsheet No. 58.
- ⁸ Remel Stained Salmonella Suspension, Instructions for Use.
- ⁹ Kauffman-White Scheme.

13. ENVASE

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

Leyenda de los 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 X9423 Revisado en junio de el año 2016



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

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