

USO PROPUESTO

Los antisueros Vision de Pro-Lab están preparados para su uso por parte del personal cualificado en la identificación serológica de organismos pertenecientes al género *Salmonella*, según la clasificación de Kauffmann- White(4).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El género *Salmonella* contiene una amplia variedad de especies patógenas que afectan al hombre y a los animales en todo el mundo. La identificación completa de *Salmonella* exige el aislamiento de cultivos, la caracterización bioquímica y la identificación serológica (serotipificación).

Los antisueros polivalentes 'O' (somáticos) de PRO-LAB están previstos para ayudar en la agrupación sérica inicial. Puede conseguirse la identificación completa de los antígenos 'O' usando antisueros específicos 'O' monovalentes (1). Puede determinarse el serotipo de los aislados de *Salmonella* mediante el uso de antisueros polivalentes y monovalentes 'H' (flagelos) (1,2).

El principio de la identificación serológica de *Salmonella* implica la mezcla del organismo sospechoso con antisuero que contenía anticuerpos específicos de *Salmonella*. Las bacterias se aglutinarán (formarán grumos) en presencia del antisuero homólogo.

REACTIVOS

Los antisueros polivalentes 'O' y 'H' de *Salmonella* se preparan en conejos usando cepas de referencia según los métodos recomendados por la Organización Mundial de la Salud (3,4) y se absorben para eliminar los anticuerpos de reacción cruzada.

Los antisueros PRO-LAB se suministran en un frasco gotero con 3,0 ml de antisuero diluido listo para usar con tiomersal al 0,01% como conservante.

PRECAUCIONES

- No utilizar los antisueros después de la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta del producto.
- Los antisueros contienen tiomersal, que es un compuesto muy tóxico basado en mercurio. Aunque la cantidad de tiomersal en los antisueros es mínima, deben tomarse precauciones de seguridad al manipular, procesar y desechar el reactivo.
- Evite la contaminación del frasco de reactivo.
- La muestra de prueba puede contener organismos patógenos para el ser humano y deben manejarse y desecharse como material infeccioso.
- El reactivo está destinado para un uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*.
- Para obtener resultados válidos deben seguirse los procedimientos, condiciones de conservación, precauciones y limitaciones especificadas en estas instrucciones de uso.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Portaobjetos o tubos de ensayo de vidrio
Solución salina normal (solución de cloruro sódico al 0,85%)
Asas desechables o de alambre
Baño maría establecido a 51°C.
Microscopio

ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Los antisueros de *Salmonella* deben ser conservados a 2-8 °C. No congelar. Conservados en estas condiciones los antisueros pueden usarse hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del producto.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA Y PREPARACIÓN DE LOS CULTIVOS

Para procedimientos concretos sobre la recogida y preparación de las muestras de los cultivos primarios, consúltese un libro de texto estándar de microbiología. Las colonias aisladas con medios de agar diferencial entérico y con sospecha de que sean *Salmonella* deben confirmarse mediante pruebas bioquímicas convencionales. En general, deben usarse medios de selectividad baja, como agar sanguíneo o agar nutritivo, para hacer crecer colonias de identificación de antígenos somáticos 'O'. Para la identificación del antígeno flagelar 'H', la preparación del cultivo se hace mejor a partir del crecimiento en fase líquida.

PROCEDIMIENTO

A. Identificación del antígeno somático y Vi de la *Salmonella* (Prueba del portaobjetos)

- Ponga dos gotas separadas de solución salina normal (cloruro sódico al 0,85%) en un portaobjetos de vidrio limpio.
- Tome una pequeña parte de una colonia sospechosa de *Salmonella* de una placa de cultivo que ha estado toda la noche y mézclela cuidadosamente con ambas gotas de solución salina normal en el portaobjetos para obtener una suspensión uniforme.
- Añada una gota de antisueros a una de las gotas de suspensión bacteriana en el portaobjetos, y a la otra (control) añádale una gota de solución salina normal.
- Mezcle el antisuero con la suspensión bacteriana usando una pinza esterilizada.
- Agite suavemente el portaobjetos hacia delante y hacia atrás durante un minuto y observe si se produce aglutinación en condiciones de iluminación normales, preferentemente usando un objetivo de bajo aumento.

B. Identificación del antígeno flagelar (H) de *Salmonella* (prueba del portaobjetos):

El procedimiento es el mismo que para la identificación del antígeno somático a excepción del uso de crecimiento en fase líquida de medio semisólido con un tubo de Craigie(1) o crecimiento en el líquido de una pendiente de agar. Si se usa cultivo en líquido, no es necesario hacer suspensiones de solución salina. Normalmente, puede conseguirse detección del antígeno flagelar mediante pruebas de aglutinación en portaobjetos, aunque algunas cepas tienen pocos flagelos y sólo pueden identificarse mediante pruebas de aglutinación en tubos.

C. Identificación de los antígenos somático, Vi y H de la *salmonella* (prueba en tubo):

- Preparación de las suspensiones celulares para las pruebas: prepare una suspensión densa de las bacterias en solución salina normal y hágala hervir durante 10 minutos, o use células deshidratadas con alcohol resuspendidas en solución salina normal a un tubo 2 de Brown para la identificación de antígenos somáticos. Prepare un cultivo de caldo muerto con formol para la identificación del antígeno 'H'. Suspensa las colonias sospechosas 'Vi' en solución salina normal al 0,5% a un tubo 2 de Brown

- para la identificación de los antígenos 'Vi'.
- Dilución de antisueros: Para usar antisueros de *Salmonella* PRO-LAB en un tubo de ensayo, cada antisuero debe diluirse 1:5 en solución salina normal antes de su uso.
- Añada 150 ul de solución salina normal a un tubo de ensayo de vidrio y en otro tubo, añada un volumen igual de antisuero diluido.
- Añada un volumen igual de suspensión celular preparada previamente a cada tubo.
- Incube en baño maría a 51°C durante 2 horas en el caso de la identificación del antígeno flagelar o durante 5 a 18 horas en el caso de la identificación del somático o 'Vi'.
- Observe los tubos para su aglutinación.

D. Identificación del antígeno flagelar de *Salmonella* (H) usando los sueros diagnósticos rápidos de *Salmonella*:

Se usan los sueros diagnósticos rápidos de *Salmonella* en combinación para determinar el grupo flagelar.

- Para el procedimiento para la identificación de antígeno flagelar (H) de la *Salmonella* usando la prueba de portaobjetos, consúltese el procedimiento B.
- Para el procedimiento para la identificación del antígeno flagelar (H) de la *Salmonella* usando el tubo de ensayo, consúltese el procedimiento C.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- Para el procedimiento A o B:**
Una aglutinación clara (grumos granulares) en 60 segundos, sin aglutinación en el control con solución salina (autoaglutinación) se considera como un resultado positivo. Los resultados positivos pueden confirmarse mediante pruebas de aglutinación en tubo.
- Para el procedimiento C:**
Los "grumos" granulares observados en el tubo son considerados como un resultado positivo para la identificación del antígeno 'O', mientras que un aspecto más flocular observado usando una luz brillante frente a un fondo oscuro se considera como un resultado positivo para la identificación del antígeno 'H'.
- Para el procedimiento D:**
 - Se interpretan los resultados positivos para la prueba de portaobjetos como en 1.
 - Los resultados positivos se interpretan para la prueba del tubo como en 2.
 - Para la interpretación de los resultados para los sueros 1, 2 y 3 de Diagnóstico rápido de la *Salmonella* como panel, consulte la siguiente gráfica:

Grupo flagelar de la <i>Salmonella</i>	
Sueros	b d E G k L r
Suero 1 de Diagnóstico rápido de la <i>Salmonella</i>	+ + + - - - +
Suero 2 de Diagnóstico rápido de la <i>Salmonella</i>	+ - + - + + -
Suero 3 de diagnóstico rápido de la <i>Salmonella</i>	- + + + + - -

LIMITACIONES DE LOS PROCEDIMIENTOS

1. Los antisueros deben usarse sólo para la identificación de cultivos que se han caracterizado previamente de forma bioquímica como *Salmonella*. La presencia de antígenos similares sobre la superficie de las bacterias distintas de la *Salmonella* no han sido probados y pueden dar resultados falsos.
2. Las cepas burdas se autoaglutinarán, dando resultados falsos positivos. Por tanto, debe incluirse un control de solución salina normal en cada prueba para asegurar la especificidad de la reacción.
3. Se recomienda comprobar la potencia de los antisueros de *Salmonella* con cultivos de trabajo de estructura antigénica conocida.
4. A pesar de que la mayoría de las cepas de salmonella que posean los antígenos apropiados pueden aglutinarse con el antisuero homólogo debido a pequeñas diferencias como por ejemplo la expresión antigénica entre cepas del mismo serotipo y colonias individuales a causa de variaciones en la forma (ref 5), en la mayoría de los casos la aglutinación no puede garantizarse.
5. La sensibilidad de la prueba de portaobjetos puede quedar reducida si se utilizan volúmenes mayores de 10 µl.

REFERENCIAS

1. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae, 4th Ed. Elsevier Science Publishing Co., New York.
2. Spicer, C.C. 1956. J. Clin. Path. 9:378.
3. World Health Organization, Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Antigenic formulae of the salmonella serovars 1992. WHO International *Salmonella* Centre, Institut Pasteur, Paris.
4. Kauffmann, F. 2001. The Bacteriology of Enterobacteriaceae. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
5. Bergan T. (Ed). 1984. Methods in Microbiology. Vol 15. Serology of *Salmonella*. Lindberg A, Minor L. 1-141.

REACTIVOS DISPONIBLES

Antisueros somáticos polivalentes O:

PL.6000 Polivalente O A - I + Vi
PL.6002 Polivalente O A - S

Antisuero somático O monovalente:

PL.6010 Grupo A, Factor 2
PL.6011 Grupo B, Factor 4
PL.6012 Grupo B, Factor 5
PL.6013 Grupo C, Factor 6,7
PL.6014 Grupo C2, Factor 8
PL.6015 Grupo D, Factor 9
PL.6016 Grupo B/D, Factor 12
PL.6017 Grupo E, Factor 3,10,15,19,34
PL.6018 Grupo E1, Factor 10
PL.6019 Grupo E2, Factor 15
PL.6020 Grupo E4, Factor 19
PL.6021 Grupo E3, Factor 34
PL.6022 Grupo F, Factor 11
PL.6023 Grupo G, Factor 13,22,23
PL.6024 Grupo G1, Factor 22
PL.6025 Grupo G2, Factor 23
PL.6027 Grupo C3, Factor 20
PL.6029 Grupo I, Factor 16
PL.6030 Grupo J, Factor 17
PL.6031 Grupo K, Factor 18
PL.6032 Grupo L, Factor 21
PL.6033 Grupo M, Factor 28
PL.6034 Grupo N, Factor 30
PL.6035 Grupo O, Factor 35

PL.6036 Grupo P, Factor 38
PL.6037 Grupo Q, Factor 39
PL.6038 Grupo R, Factor 40
PL.6039 Grupo S, Factor 41
PL.6040 Vi
PL.6041 Factor 55

Antisueros de Flagelos H polivalentes:

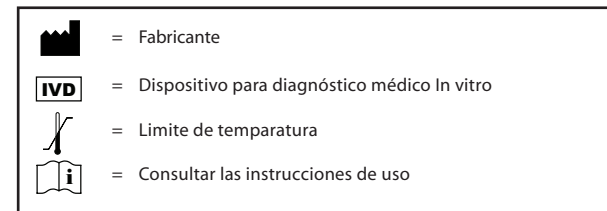
PL.6100 Polivalente H
PL.6101 Fase 2 polivalente H, Factores 1,2,5,6,7,z6

Antisueros de H de flagelos monovalentes:

PL.6110 Factor a
PL.6111 Factor b
PL.6112 Factor c
PL.6113 Factor d
PL.6114 Complejo E eh, enx, enz15
PL.6115 Factor eh
PL.6116 Factor enx
PL.6117 Factor enz15
PL.6118 Factor h
PL.6120 Factor z15
PL.6121 Complejo G
PL.6122 Factor gm
PL.6123 Factor gp
PL.6124 Factor p
PL.6125 Factor u
PL.6126 Factor s
PL.6127 Factor m
PL.6128 Factor t
PL.6129 Factor f
PL.6131 Factor q
PL.6133 Factor i
PL.6134 Factor k
PL.6135 Complejo L
PL.6136 Factores l, w
PL.6137 Factores l, v
PL.6138 Factor w
PL.6139 Factor v
PL.6140 Factor z13
PL.6141 Factor z28
PL.6142 Factor r
PL.6143 Factor y
PL.6144 Factor z
PL.6145 Complejo Z4
PL.6146 Factor z23
PL.6147 Factor z24
PL.6148 Factor z32
PL.6149 Factor z10
PL.6151 Factor z29
PL.6153 Factor 2
PL.6154 Factor 5
PL.6155 Factor 6
PL.6156 Factor 7
PL.6157 Factor z6

Sueros diagnósticos rápidos de *Salmonella*:

PL.6200 Suero diagnóstico rápido de *Salmonella* 1
PL.6201 Sueros diagnósticos rápidos de *Salmonella* 2
PL.6202 Sueros diagnósticos rápidos de *Salmonella* 3



Las instrucciones de uso se tradujeron de manera profesional del inglés. En caso de ambigüedad o discrepancia evidente, por favor, diríjase al servicio de atención al cliente de Pro-Lab.