

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

MCC P/A	COSMETIKIT®	DRY PLATES®	MUGPLUS
CRIOTECA®	CHROMOSALM	DESINFECTEST®	CCCNT
PLAQUIS®	KITPRO-PLUS	CROMOKIT®	MBS
M-IDENT®	SEILAGUA®	SALMOQUICK	AIRESANO
NEOGRAM	ENVIROCOUNT		

ANTISUEROS

PARA SALMONELLA, E.COLI, VIBRIO, SHIGELLA

INTRODUCCION

Para uso en identificaciones inmunológicas de los miembros del género Salmonella (o Escherichia coli, Vibrio cholerae, Shigella, para los que también sirve lo dicho a partir de aquí). Basados en el test de aglutinación bacteriana.



El género Salmonella contiene una amplia variedad de especies patógenas que afectan al hombre y a los animales en todo el mundo. Sin embargo, la identificación completa de Salmonella requiere aislamiento en cultivos, caracterización bioquímica y serotipado.

Los antisueros PROLAB y MUREX polivalentes se preparan mezclando el antisuero no absorbido de modo que den fuertes reacciones de aglutinación con las cepas correspondientes. Estos antisueros polivalentes sirven para guiar el diagnóstico, pero la identificación del grupo sólo puede realizarse con los antisueros monovalentes somáticos (O ó Vi) adicionales.

El serotipo de las Salmonella también se determina con el uso de antisueros polivalentes flagelares (H) en test de aglutinación, al contener éstos los anticuerpos contra antígenos flagelares asociados con el grupo somático del aislamiento. Los antisueros monovalentes flagelares (H) se utilizan para establecer la fórmula antigénica del aislamiento.

Todos estos antisueros se fabrican en conejos, de acuerdo con la WHO (World Health Organization) utilizando cultivos específicos de referencia y

absorbidos por otros cultivos heteroespecíficos, para eliminar anticuerpos que reaccionan con antígenos homólogos.

El principio utilizado es la mezcla del microorganismo sospechoso con el antisuero que contiene aglutininas específicas de Salmonella. Las bacterias aglutinarán ("CLUMPING") en presencia del antisuero homólogo y no aglutinarán en presencia de otros antisueros heterólogos.

Los antisueros contienen 0,01% de thiomerosal como conservante y se comercializan en goteros de 2 ó 3 ml listos para su empleo.

La estabilidad es de hasta cerca de dos años desde fabricación, y viene marcada en cada gotero. Éste debe mantenerse bien cerrado, al abrigo de la luz y a 2-5°C. Si se enturbia es porque algunos microorganismos han sido capaces de crecer con los antígenos como fuente de alimentación y en presencia del conservante. En tal inusual caso, filtrar de forma aséptica por 0,2 µm para recuperar la esterilidad y controlar la eficacia con cepas de referencia.

Más de 100 referencias disponibles (ver catálogo actualizado de precios MICROKIT)

MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO:

- Portaobjetos de vidrio desengrasados
- Pipetas
- Solución Salina (0,85% ClNa en agua) (FPL112)
- Tubos
- Asas de siembra de plástico o palillos de madera
- Cepas de referencia CRIOSTRAINS, de trabajo o cuantitativas para validar los reactivos una vez llegados a fábrica o tras almacenamientos prolongados o inadecuados.
- Participación en servicios intercomparativos como SEILA para validar los procedimientos y los operarios.

PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Las colonias aisladas en medios selectivos o diferenciales para Enterobacterias, que tengan las características típicas de Salmonella se clasifican clásicamente con screening de pruebas bioquímicas. Si los antisueros que se van a usar son flagelares (H) es mejor partir de medios no agarizados, donde las bacterias hayan desarrollado mejor sus flagelos.

MODO DE EMPLEO Y LECTURA DE RESULTADOS

A-Identificación de antígenos somáticos O y Vi en porta

1- Añada dos gotas separadas de solución salina en un portaobjetos de vidrio bien limpio.

2- Mezcle con un palillo o asa, sendas colonias de no más de 24 horas, para obtener una suspensión homogénea en cada gota.

3- Añada una gota de antisuero cerca de una de las suspensiones, sin tocarla para no contaminar el gotero. En la otra suspensión añada una gota de solución salina, que servirá como control negativo.

4- Mezcle la primera suspensión con la gota de antisuero, mediante un palillo.

5- Agite en forma de vaivén el porta durante 1 minuto. Se consideran positivos los resultados cuando se forman, bajo condiciones normales de buena luz, gránulos en la gota con antisuero y no se forman en la gota control.

B-Identificación de antígenos flagelares H en porta

El procedimiento es el mismo que en el caso anterior, con la única salvedad de que se utilizará como muestra la fase líquida de un medio semisólido o de un agar inclinado. Si se usa a partir de un medio líquido, no hay necesidad de utilizar solución salina.

C-Identificación de antígenos somáticos (O), Vi y flagelares (H) en tubo

1- Prepare una suspensión densa de la bacteria en solución salina. Hervir 10 minutos para la identificación con antisueros O o Vi. Prepare caldos de cultivo para la identificación de antígenos H añadiendo 0,5% de formol en solución salina, y diluya hasta alcanzar una concentración ligera, alrededor de 10^9 bacterias/ml.

2- Antes de usar, diluya los antisueros en solución salina a razón 1:5.

3- Añada una o dos gotas de solución salina en un tubo de vidrio y otro tanto del suero diluido en otro tubo. Los tubos serán de fondo redondo, de 9 x 85 mm aproximadamente.

4- Añada el mismo volumen de la suspensión bacteriana a cada uno de los dos tubos.

5- Incubar en un baño de agua a 51°C durante 2 horas, en el caso de identificación flagelar, y durante 5-8 horas en el caso de identificación somática o del antígeno Vi.

6- Observar la aglutinación en los tubos, contra un fondo negro y bajo luz intensa. Los precipitados o aclaramientos del líquido no son positivos. Considerar positiva sólo la aparición de gránulos

7- Remitirse al esquema de Kauffman-White (1.966, The bacteriology of Enterobacteriaceae. The Williams & Wilkins Co., Baltimore) para identificar el serotipo.

LIMITACIONES Y PRECAUCIONES

1- La muestra puede contener microorganismos patógenos y debe manejarse como material potencialmente infeccioso.

2- Un control salino debe ser incluido en cada prueba para asegurar la especificidad de la reacción.

3- Ciertas cepas sufren autoaglutinación en el test de porta. Estos falsos positivos suelen aglutinar en el control de solución salina.

4- Se recomienda chequear la correcta actividad del antisuero con cepas control de referencia, de estructura antigénica conocida.

NOTAS SOBRE LOS ANTISUEROS DE VIBRIO

El antisuero polivalente se usará en test en porta, los monovalentes se pueden usar, además, en test en tubo, aunque en porta dan menos reacciones cruzadas entre ambos. No se pueden distinguir las variedades El Tor de otros Vibrio cholerae. El conservante utilizado es 0,5% de fenol.

VER TAMBIEN SUEROS (SUSPENSIONES COLOREADAS) PARA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS DE SALMONELLA EN SUEROS DE PERSONAS Y ANIMALES PORTADORES



El usuario es el único responsable de la destrucción de los microorganismos generados en el interior del kit durante su uso, de acuerdo con la legislación medioambiental vigente. Sumerja en lejía o alcohol, o mejor autoclávalos, antes de desecharlos a la basura. Mantener fuera del alcance de los niños. No ingerir.

Distribuido en exclusiva en el sector agroalimentario por MICROKIT, desde 1992. Revisado en Mayo-2020