

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	AIREANO
NEOGRAM	ENVIROCOUNT		



M-IDENT®-CAMPYLOBACTER LÁTEX

Método de látex para la rápida detección de Campylobacter termófilos en agar o en caldo (a elegir: *Campylobacter spp.* o bien *C.jejuni*)

Introducción:

Las bacterias del genero Campylobacter son Gram-negativas, flageladas y con forma de espirilo. Este género incluye algunas especies cuya temperatura óptima de crecimiento y multiplicación es de aproximadamente 42 °C. Estas especies termófilas, y en particular *Campylobacter jejuni*, han sido reconocidas en los últimos diez años como la causa más común de enteritis bacteriana (1,2).

Los signos y síntomas clínicos de la enteritis por Campylobacter son variables. Los más destacados son dolor abdominal, que a veces puede ser lo bastante severo como para obligar a una intervención quirúrgica innecesaria, junto con diarrea, que es frecuentemente disintérica. La diarrea generalmente desaparece en 3 ó 4 días pero puede durar más tiempo o volver a aparecer . El dolor abdominal persiste después de cesar la diarrea.

Las enteritis por Campylobacter pueden llevar a complicaciones que incluyen meningitis, colecistitis, infecciones urinarias, artritis reactiva y síndrome de Guillain-Barre. La infección por Campylobacter puede ser, sin embargo, subclínica, aunque en estos casos puede haber excreción de Campylobacter por períodos largos de tiempo, un hecho que puede ser significativo para la epidemiología de la enfermedad.

La enteritis por Campylobacter es más frecuente en niños de corta edad pero son comunes también brotes de la enfermedad en adultos. En climas templados la incidencia de la enteritis por Campylobacter aumenta en verano y principios de otoño, mientras que en climas tropicales aumenta en los meses más frescos.

El diagnóstico de laboratorio de una infección por Campylobacter se realiza por aislamiento e identificación del organismo en un cultivo selectivo. El

aislamiento en cultivo normalmente necesita al menos 48 horas y pueden usarse varios procedimientos. Muchos laboratorios hacen el cultivo directamente en placas selectivas pero otros prefieren usar caldos de enriquecimiento.

Campylobacter tiene requerimientos de crecimiento complejos y la tasa de aislamiento varía según el procedimiento y la experiencia del técnico de laboratorio. La identificación final se basa en la morfología de la colonia y la tinción gram, y necesita personal experimentado.

La infección por Campylobacter puede ser tratada con antibióticos, pero en la mayoría de los casos la fase aguda ya ha pasado cuando el diagnóstico de laboratorio se comunica al clínico.

Fundamento del test:

M-IDENT ® Campylobacter es un test de aglutinación por látex **para detección específica de Campylobacter enteropatógenos.**

El test va a identificar la mayoría de los casos de la enfermedad en fase aguda, cuando se aplica directamente en una muestra de heces. M-IDENT ® Campylobacter posibilita también la identificación de Campylobacter en placas y caldos de cultivo.

Las partículas de látex empleadas están recubiertas con antisueros de conejo obtenidos frente a antígenos de serotipos seleccionados de *Campylobacter jejuni*. Al mezclarse con una suspensión que contenga estos antígenos, las partículas de látex aglutinarán rápidamente, formando grumos visibles.

Las principales ventajas de M-IDENT ® Campylobacter son:

- Diagnóstico sin cultivo en muchos casos.
- Diagnóstico 24-48 horas antes que usando los métodos clásicos.
- Rápida identificación del Campylobacter en cultivos con caldo de enriquecimiento.
- Identificación rápida; cómoda y objetiva del crecimiento de Campylobacter en placas o caldos, sin necesidad de personal experimentado.

Composición del kit:

Equipo para 50 determinaciones. (Referencia: KMB001)

- Reactivo de látex: partículas de látex recubiertas con antiseros de conejo anti-Campylobacter.
- Reactivo control positivo.
- Control negativo.
- Diluyente de la muestra.
- Portaobjetos desechables

Conservación:

Conservar el equipo en nevera a 2-8 °C. No congelar.

El equipo no deberá utilizarse después de la fecha de caducidad indicada en el envase. (1 año desde fabricación)

Observaciones:

1. Todos los reactivos suministrados en este equipo contienen 0,1 % de azida sódica como conservante, que puede formar azidas metálicas explosivas en contacto con utensilios de plomo y cobre. Al desechar por las cañerías, dejar correr abundante agua para impedir la formación de estos compuestos explosivos.
2. El control positivo de Campylobacter ha sido inactivado durante el proceso de fabricación, sin embargo deberá manipularse como si fuera potencialmente infeccioso.
3. M-IDENT ® Campylobacter debe ser usado siguiendo las instrucciones incluidas en el kit. No diluir. No mezclar reactivos de diferentes lotes. No usar un kit después de la fecha de caducidad.

Procedimiento de trabajo:

Los reactivos deberán estar a temperatura ambiente antes de su uso.

Controles:

Un control positivo (*Campylobacter.jejuni* MKTA 33291) debe utilizarse para asegurar que el reactivo de látex conserva su actividad. Dispensar dos gotas de 50 µl de látex en dos círculos del porta. Colocar una gota del control + en un

círculo y una gota del control - en el otro y mezclarlas respectivamente cada una en su círculo. La presencia de aglutinación con el control + y la ausencia con el control-, son indicativas de un correcto funcionamiento de los reactivos.

NOTA: TODA AGLUTINACIÓN CON FONDO LECHOSO DEBE INTERPRETARSE COMO NEGATIVA (LAS COLONIAS/ PRODUCTOS MUCOSOS O CARTILAGINOSOS FORMAN GRUMOS PERO NO AGLUTINAN)!

Método directo

- a) Añadir 0,1 g/0,1 ml de la muestra fresca de heces a 1,0 ml de diluyente de muestra y agitar brevemente. Dejar sedimentar las partículas grandes.
- b) Coger dos gotas de 50 µl del sobrenadante y dispensarlas en dos círculos separados en el porta provisto en el equipo.
- c) Usando el gotero provisto, dispensar 1 gota del reactivo de látex al lado de una gota de la muestra. De la misma forma dispensar 1 gota de látex control en la segunda gota de la muestra.
- d) Utilizar un palillo para mezclar cada dos gotas. Extender la mezcla por todo el área del círculo.
- e) Girar el porta lentamente durante dos minutos como máximo y observar si se produce aglutinación.

Interpretación de resultados

Reactivo látex	Látex control	Interpretación
+	-	Muestra positiva
-	-	Muestra negativa o posible presencia de <i>Campylobacter</i> por debajo del umbral de sensibilidad del látex. La muestra debe ser cultivada.
+	+	Aglutinación no específica, la muestra debe ser considerada como negativa y cultivada.

Método para medio sólido o caldos de cultivo

Las muestra que dan un resultado negativo por el test directo, deben ser cultivadas en placas de agar selectivo o caldos de cultivo de los siguientes tipos:

- a) Caldo de enriquecimiento. (MICROKIT DMT024)
- b) Agar selectivo libre de sangre. (MICROKIT DMT184 + SBH020)

Después de la inoculación las placas deben ser incubadas 18-24 horas. El caldo de enriquecimiento, 48 horas.

Preparación de muestras

-A partir del caldo de enriquecimiento: pipetear 50 µl de caldo en dos círculos del porta.

-A partir de la placa de agar: Dispensar 50 µl de diluyente de la muestra en los dos círculos del porta. Utilizando una varilla mezcladora, emulsionar varias colonias de morfología sospechosa. Si hay poco crecimiento bacteriano, tomar una parte más extensa de la superficie del agar. Mezclar las colonias en las dos gotas del diluyente de la muestra hasta formar una suspensión uniforme.

Aglutinación del reactivo de látex

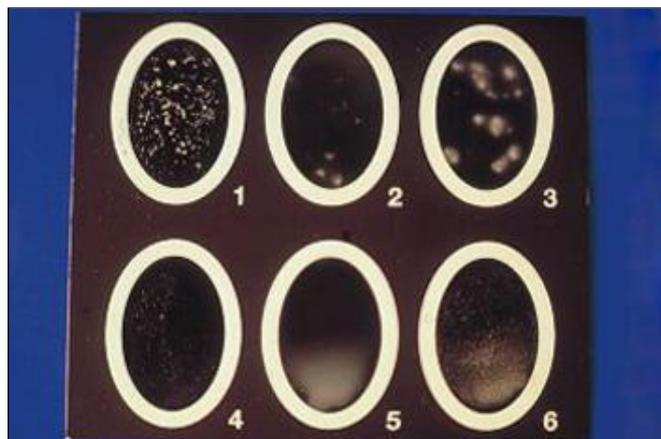
-Añadir una gota de látex control a una de las suspensiones bacterianas y una gota del reactivo de látex a la otra.

-Girar el porta lentamente durante dos minutos como máximo y observar si se produce aglutinación.

Interpretación de resultados

Reactivo látex	Látex control	Interpretación
+	-	Presencia de Campylobacter (ver nota 5).
-	-	Ausencia de Campylobacter (ver nota 5).
+	+	Aglutinación no específica, la muestra deberá ser evaluada por otro método.

1, 4: Positivos, fuerte y suave (grumos sin fondo lechoso). 5, 6: Negativo (fondo lechoso, sin o con aglutinación). 2, 3: Negativo falsamente positivo (restos de colonias, pelusas, grumos difusos con aspecto lechoso).



Precauciones/Notas

1. Cuando se usa el método directo en la fase aguda (diarrea), un resultado positivo indica gran probabilidad de la presencia de Campylobacter en gran

número. Sin embargo, un resultado negativo no debe ser considerado como indicativo de la ausencia de *Campylobacter*. Las muestras negativas deben ser cultivadas.

2. Los resultados de M-*Campylobacter* deben ser considerados en el contexto de todos los datos de laboratorio disponibles.
3. M-Ident *Campylobacter* es una ayuda para el diagnóstico de la enteritis aguda por *Campylobacter*. Las muestras de heces recogidas más de 10 días después del cese de los síntomas (generalmente de 5 a 7 días después de finalizar la diarrea) son generalmente negativas por el procedimiento de cultivo de 24 horas descrito anteriormente.
4. Indicaciones de deterioro. Debe sospecharse un deterioro del reactivo si:
 - No hay reacción de aglutinación entre el reactivo de látex y el control positivo o si esta reacción se hace mucho más lenta.
 - El látex control reacciona con el control positivo
 - El reactivo de látex se decolora o forma grumos que no se deshacen al agitar
5. Una concentración de sólo 10^2 ufc/ml de *C.jejuni* da lugar a aglutinación en el 100% de los casos, mientras *C.coli*, *C.doylei*, *C.upsaliensis*, *C.laridis*, *C.fetus* y *Helicobacter pylori* dan lugar a aglutinación sólo a una concentración superior a 10^5 ufc/ml, por lo que ajustando con patrones MacFarland podemos usar el kit para *C.jejuni*, o para todo el grupo *Campylobacter*.
6. Utilice cepas de reserva (CRIOSTRAINS), de trabajo o cuantitativas para validar los reactivos una vez llegados a fábrica o tras almacenamientos prolongados o inadecuados. Participe en servicios intercomparativos para validar los procedimientos y los operarios

Bibliografía

1. Skirrow, M.B. (1977) *Campylobacter* enteritis: a "new" disease Br. Med. J. 29-11.
2. Walker, R.I., Caldwell, M.B., Lee, E.C., Guerry, P., Trust, J.T. and Ruiz-Palacios, G.M. (1988). Pathophysiology of *Campylobacter* Enteritis. Microbiology Reviews 50. 81-94.
3. *Campylobacter* "Epidemiology Pathogenesis and Biochemistry" 1982. Edited by D.G. Newell, MTP Press Ltd.

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.

Fabricado en la UE para MICROKIT ,. desde 1995. Revisado en Mayo-2020

¡OTROS KITS DE SCREENING PARA SALMONELLA (SALMOQUICK) Y PARA LISTERIA (LISTERIQUICK)!