

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®-SALMONELLA LÁTEX

Látex para detección y confirmación
de Salmonella en caldo de enriquecimiento

INTRODUCCION:

El género Salmonella contiene cerca de 2.400 serotipos, que causan gastroenteritis agudas frecuentemente asociadas a intoxicaciones alimentarias.

Gracias a su elevado valor predictivo de resultados negativos, MICROKIT SALMONELLA es ideal para screening de muestras en la industria alimentaria. El kit detecta la mayoría de los más comunes serotipos de Salmonella, incluidas S. enteritidis y S. typhimurium. Aunque reacciona preferentemente con los antígenos flagelares, también detecta la mayoría de cepas inmóviles de Salmonella S. pullorum y S. gallinarum. No precisa aparataje alguno, y el procedimiento es muy simple, sin manipulaciones complicadas.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD:

La sensibilidad detectada es del 100%; es decir, no hay falsos negativos!; por tanto, el valor predictivo negativo del kit en caldos de enriquecimiento es del 100%. En algunos casos, se detectan falsos positivos dado que no hay Salmonella pero el kit señala que sí la hay. La especificidad es del 97,2%, con un valor predictivo positivo en caldos de enriquecimiento del 98,2%. Ver “Estudios sobre la capacidad confirmativa de MICROKIT-SALMONELLA en medios selectivos”, SANCHIS, J. XI Congreso Nacional de Microbiología de los Alimentos, Pamplona, 9/98, basada en un estudio intercolaborativo realizado ese mismo año en España.

MODO DE EMPLEO:

A) REALICE UN CORRECTO ENRIQUECIMIENTO DE LA MUESTRA:

Para conseguir un límite de detección igual a 1 célula de Salmonella en 25 gramos de muestra (o en más si se siguen las proporciones 1:10 en Agua Peptonada Tamponada), lo más fundamental es realizar un correcto enriquecimiento. Para ello hay que realizar entre 2 y 3 fases, en función del tipo de muestra:

1-Preenriquecimiento. Es siempre imprescindible para revitalizar las células dañadas subletalmente. Se homogeneizan 25 g de muestra en 225 ml de Agua Peptonada Tamponada (o bien 50 g en 450 ml, 1000 g en 4000 ml...). Se incuba “overnight” (18 horas) a 37°C.

2-Enriquecimiento selectivo. Disminuye el nivel de flora acompañante y permite el crecimiento más contundente de Salmonella. Según diversos autores y numerosas casas comerciales con sistemas rápidos, sólo resulta imprescindible cuando la flora acompañante (recuento total de aerobios mesófilos) de la muestra supera las 10^4 cfu/g. Para ello se transfieren sólo 0,1 ml del Agua Peptonada Tamponada preenriquecida a 10 ml de caldo Rappaport Vassiliadis, caldo Mueller Kauffmann Tetracionato, Caldo Selenito Cistina y/o Caldo Salmonella-Shigella (recomendamos el uso de 2 de los 4 caldos indicados para captar todo tipo de cepas de Salmonella). Se incuba 18-24 horas a 42°C. Si el nivel de flora acompañante es inferior, puede ahorrarse este paso.

3-Post-enriquecimiento. Es siempre recomendable para obtener resultados óptimos con todo tipo de kits rápidos; e imprescindible si se parte directamente del preenriquecimiento. Permite a las Salmonella alcanzar su óptimo somático y flagelar tras haber estado reproduciéndose intensamente en los pasos anteriores. Transferir 1 ml del pre-enriquecimiento o del enriquecimiento selectivo a un tubo con 9 ml de Agua Peptonada Tamponada. Se incuba 6-8 horas a 37°C. Agitar y utilizar directamente el kit.

Si se han seguido correctamente los pasos antedichos, una célula de Salmonella se ha convertido en 10^6 – 10^9 células por ml final, que es un valor 100-100.000 veces superior al necesario para detectarlo nítidamente con M-IDENT ® Salmonella látex.

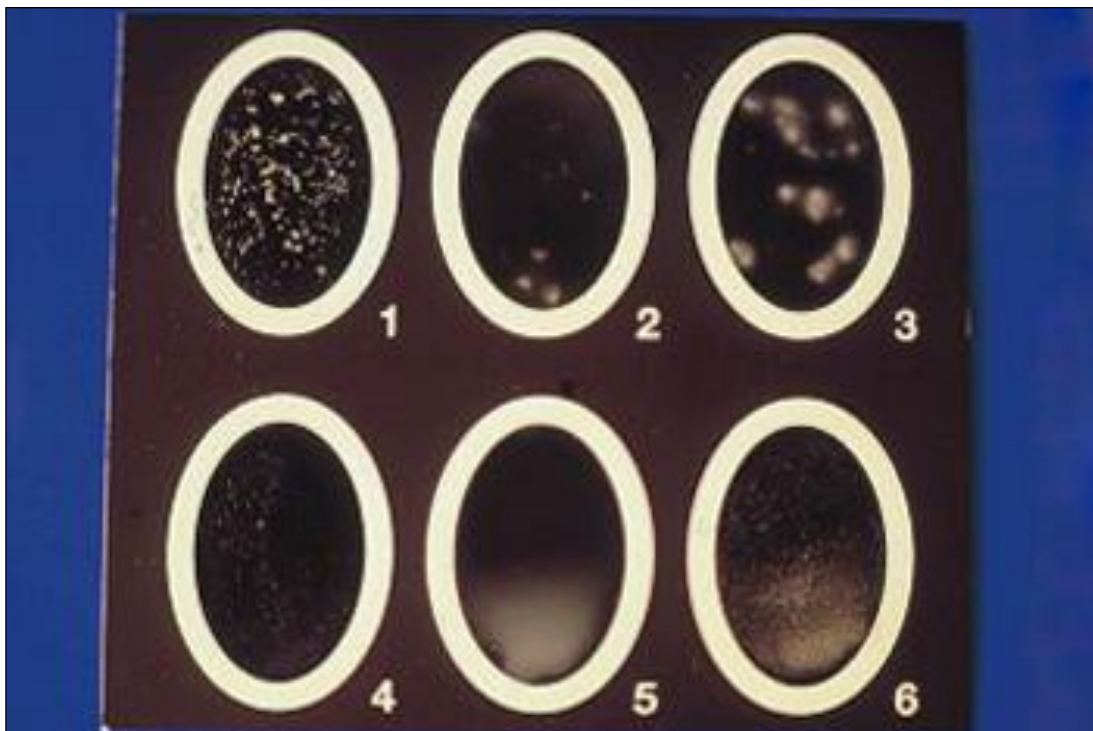
B) ENSAYO CON MICROKIT-SALMONELLA:

- 1) Agitar contundentemente el caldo de enriquecimiento y tomar una gota con una pipeta Pasteur.
- 2) Añadir la gota en un círculo de una tarjeta.
- 3) Agitar contundentemente el reactivo látex y añadir una gota sobre el mismo círculo, sin permitir que el gotero se acerque al caldo para que no se contamine. Mezclar con un palillo. Mover en vaivén la tarjeta (3 vueltas son suficientes).
- 4) Observar si hay aglutinación antes de dos minutos.
- 5) Desechar la tarjeta por inmersión prolongada en un desinfectante.

NOTA: Al trabajar con alimentos en polvo, añadir una gota de la solución del alimento en caldo de enriquecimiento, en un círculo de una tarjeta y confirmar que no hay autoaglutinación.

C) INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

Toda aglutinación observada dentro de los dos primeros minutos se considera resultado positivo, y demuestra la presencia de Salmonella en la muestra. No debe interpretarse como aglutinación la adherencia del látex a fibras o partículas.



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).

Toda ausencia de aglutinación indica la ausencia de Salmonella en el caldo de enriquecimiento, siempre que el control positivo haya aglutinado al mezclarlo con una gota del látex. Realice un control positivo al recibir el kit y siempre que lo considere oportuno. ¡NOTA: toda aglutinación con fondo lechoso debe interpretarse como negativa (las colonias/productos mucosos o cartilagosos forman grumos, pero no son aglutinaciones)!

D) CONTROLES:

Añadir una gota de látex en una gota de solución salina, en el mismo círculo de una tarjeta. Mezclar y observar que no debe haber aglutinación durante los dos primeros minutos. De lo contrario, alguno de los dos se ha contaminado. Preparar una solución densa de una Salmonella conocida ; p.e. una suspensión de células muertas de Salmonella con los antígenos no desactivados (SS05 *S.enteritidis* o bien SS07 *S.typhimurium*) o mejor la cepa inocua *Salmonella abony* (CRIOSTRAIN MKTN 6017). O bien el Control positivo de Salmonella inactivada, incluido en el kit desde Marzo de 2003 (manejar con cuidado, como si se tratase de cepa patógena). Depositar una gota sobre un círculo de una tarjeta y observar que no debe haber autoaglutinación durante los dos primeros minutos. En tal caso, añadir una gota de látex (con cuidado de no contaminar el gotero) en el mismo círculo y mezclar con un palillo. Observar al cabo de 30 segundos y antes de dos minutos, que debe haber aglutinación.

E) USO PARA CONFIRMACIÓN DE COLONIAS PRESUNTIVAS:

Mediante un palillo, suspender una colonia sospechosa en una gota de solución salina previamente añadida a un círculo de la tarjeta, hasta obtener una solución homogénea y densa. Para evitar la formación de grumos es mejor repartir la colonia sobre el círculo en seco e ir mezclando poco a poco con el palillo la solución salina. Tratar la misma como si del caldo de enriquecimiento se tratase (ver B).

PRECAUCIONES:

Al trabajar con posibles patógenos, deben extremarse las precauciones dentro de las más fundamentales normas GLP: No pipetear con la boca; todo el material utilizado debe autoclavarse después de su utilización; use los portas bien limpios; evite la contaminación cruzada de reactivos; no use kits caducados... La solución salina isotónica contiene Azida Sódica como conservante, que es irritante para piel y mucosas y puede formar compuestos explosivos cuando se pone en contacto con plomo o cobre.

Deje que los reactivos se atemperen de la nevera al ambiente del laboratorio justo antes de usarlos.

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 como SEILALIMENTOS, SEILAGUA O SEILAPARFUM para validar los procedimientos y los operarios

LIMITACIONES DE USO:

Algunos microorganismos oxidasa positivos pueden dar resultados falsamente positivos, por lo que un paso previo con tiras de citocromo-oxidasa (MICROKIT KOT050) eliminará este problema, al ser Salmonella oxidasa negativa. Cultivos viejos de ciertas enterobacterias diferentes a la Salmonella pueden dar lugar a falsos positivos, por lo que utilizando cultivos frescos se eliminará este problema. La identificación positiva se considera presuntiva, por lo que todo resultado positivo se confirmará con subcultivos e identificación bioquímica de colonias. Sin embargo todo resultado negativo es confirmativo, pues no se ha encontrado un solo caso de Salmonella presente, que se detecte como negativa con MICROKIT SALMONELLA (No se han encontrado falsos negativos).

BIBLIOGRAFIA:

- Vassiliadis, P. (1.983). The Rappaport-Vassiliadis enrichment medium for the isolation of Salmonellas, an overview. J. Appl. Bacteriol. 54 (69-76).
- Sperber, W. and Deibel R.H. (1.969). Accelerated procedure for Salmonella detection in dried foods and feeds involving only broth cultures and serological reactions. Applied Microbiol. 17 (533-539).
- Todd L.S. et al. (1.987). Assesment of an enzyme immunoassay for the detection of Salmonellas in foods and animal feeding stuffs. Epidem Int. 98.

PRESENTACION Y CONSERVACION:

El kit se suministra en cajas con todo lo necesario para realizar 50 test. Ref.: KMB501

Debe almacenarse a 4-8 °C, sin congelar.

OTROS LÁTEX DE SCREENING PARA LISTERIA Y PARA CAMPYLOBACTER!

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. Destruir por inmersión en lejía. Mantener fuera del alcance de los niños. No ingerir.

Si desea seguir el Reglamento UE 2-2019 que entrará en vigor en 2021 mediante el cual los lobbies del laboratorio han conseguido barrer la innovación, al exigirnos a los inventores de productos/métodos para industria alimentaria, el inviable pago de cientos de miles de € a AOAC, AFNOR o similar por cada referencia innovadora; nos puede pedir las galerías de identificación de Gram negativos (Ref: 245000 o bien Enterotubos 49578619), y seguir la ISO 6579 al pie de la letra, ya que de este modo no son métodos alternativos y por tanto ningún inspector ni auditor puede impedirle emplearlos. Pero lamentablemente perderá el valor añadido de este kit: su extraordinario ahorro de tiempo en la obtención de resultados fiables y ahorro de dinero en stock de sus fabricados. La mejor solución sería hacer sus análisis siguiendo al pie de la letra la ISO 6579 o bien externalizar una proporción residual pero razonable de sus análisis a un lab.externo vinculante, para presentar sus informes a inspección de Sanidad, y así poder seguir usando internamente en paralelo este kit en esas y en las demás muestras, para la mejora y rapidez de sus resultados de autocontrol. A fin de cuentas, este reglamento que corta de cuajo el I+D que no provenga de multinacionales, no es nada nuevo: los kits de autocontrol nunca han servido para obtener resultados oficiales, pero ayudan a la industria a tomar las mejores decisiones para la rapidez y fiabilidad en la liberación de sus lotes.