



Antisueros Salmonella O Difco

Antisueros Salmonella H Difco

Antisuero Salmonella Vi Difco

USO PREVISTO

Antisueros Salmonella O Difco se utilizan en las pruebas de aglutinación en portaobjetos para la identificación de *Salmonella* mediante antígenos somáticos (O).

Antisueros Salmonella H Difco se utilizan en las pruebas de aglutinación en tubo para la identificación de *Salmonella* mediante antígenos flagelares (H).

Antisuero Salmonella Vi Difco se utiliza en las pruebas de aglutinación en portaobjetos para la identificación de *Salmonella* Vi.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La especie *Salmonella* causa diversas enfermedades humanas llamadas salmonelosis. La enfermedad puede variar desde gastroenteritis leve de remisión espontánea hasta formas más graves, posiblemente con bacteriemia o fiebre tifoidea, que pueden poner en peligro la vida. La enfermedad grave y la bacteriemia se asocian principalmente con tres serotipos de *S. enterica* subespecie *enterica* (Choleraesuis, Paratyphi A y Typhi), mientras que las otras 2.300 o más cepas se asocian con gastroenteritis. La gravedad de la enfermedad diarreaica depende de la virulencia de la cepa y de la salud del anfitrión humano.

Salmonella se puede encontrar en otros seres vivos y se detecta en el intestino de muchos animales, tanto salvajes como domésticos. El microorganismo puede llegar al ser humano por contacto con el entorno o al ingerir carne roja o productos alimentarios de origen vegetal.

Todos los serotipos de *Salmonella* pertenecen a dos especies: *S. bongori*, que incluye 18 serotipos, y *S. enterica*, que incluye los restantes 2.300 o más serotipos divididos en seis subespecies^{1,2}.

Las seis subespecies de *S. enterica* son las siguientes:

S. enterica subespecie *enterica* (I o 1) *S. enterica* subespecie *diarizonae* (IIIb o 3b)

S. enterica subespecie *salamae* (II o 2) *S. enterica* subespecie *houtenae* (IV o 4)

S. enterica subespecie *arizonae* (IIIa o 3a) *S. enterica* subespecie *indica* (VI o 6)

La nomenclatura y clasificación de dichas bacterias cambian constantemente³. *Salmonella* y la antigua *Arizona* deben considerarse del mismo género, *Salmonella* ⁴. Se recomienda que los laboratorios informen los nombres de los serotipos de *Salmonella* para la subespecie *enterica*. Los nombres de serotipos ya no se escriben en cursivas y la primera letra debe ser mayúscula. Por ejemplo, la cepa que solía identificarse como *Salmonella typhimurium* ahora se conoce como *Salmonella* Typhimurium.

Los serotipos de otras subespecies de *S. enterica* (excepto algunas de las subespecies *salamae* y *houtenae*) y las de *S. bongori* no tienen nombre y se designan por su fórmula antigénica. Para obtener la información más reciente de nomenclatura, consultar las referencias correspondientes¹⁻¹⁰.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Los antígenos *Salmonella* O son antígenos somáticos (O) termoestables y se identifican primero. El antígeno Vi es un antígeno de envoltura termolábil que puede rodear a la pared celular y enmascarar la actividad del antígeno somático. Los microorganismos con el antígeno Vi no se aglutinan en antisueros O. Para determinar el antígeno O de dichos cultivos, se debe hervir una suspensión del organismo para destruir el antígeno de envoltura termolábil y luego analizarse con antisueros O. Los antígenos flagelares (H) son termolábiles y por lo general se asocian con la movilidad.

No se requiere una caracterización serológica completa de *Salmonella* para una detección satisfactoria del microorganismo cuando éste es patógeno. El uso de procedimientos de aislamiento adecuados y pruebas bioquímicas de diferenciación son de suma importancia. Los aislados posibles de *Salmonella* pueden identificarse de manera presuntiva con una identificación serológica mínima. Los aislados pueden enviarse a laboratorios que determinen el nivel de análisis necesario para completar la identificación del microorganismo.

Para obtener más información acerca de la identificación serológica de *Salmonella*, consultar las referencias correspondientes^{1-3,9,11-14}.

La identificación de la especie *Salmonella* incluye identificación tanto bioquímica como serológica. En el procedimiento de confirmación serológica, se produce una reacción en la que el microorganismo (antígeno) reacciona con el anticuerpo correspondiente. Esta reacción *in vitro* produce la formación de grumos macroscópicos denominada aglutinación. La reacción homóloga deseada es rápida, de unión fuerte (alta afinidad) y no disociativa (alta avidez).

Dado que un microorganismo (antígeno) puede aglutinarse con un anticuerpo producido como respuesta a alguna otra especie, son posibles las reacciones heterólogas. Éstas se caracterizan por ser débiles y de



lenta formación. Dichas reacciones imprevistas y posiblemente impredecibles pueden causar confusión en la identificación serológica. Por consiguiente, una reacción de aglutinación homóloga positiva debería apoyar la identificación morfológica y bioquímica del microorganismo.

La aglutinación del antígeno somático en la prueba de portaobjetos aparece como una aglutinación granular firme. Las reacciones homólogas son fuertes y rápidas (3+). Las reacciones heterólogas son débiles y lentas.

La aglutinación de antígenos flagelares en la prueba en tubo aparece como una floculación no firme que puede suspenderse nuevamente con facilidad.

REACTIVOS

Antisueros Salmonella O Difco, Antisueros Salmonella H Difco y Antisueros Salmonella Vi Difco son antisueros de conejo, policlonales, liofilizados, que contienen aproximadamente 0,2% de azida sódica como conservante.

Difco Salmonella O Poly Antisueros son antisueros polivalentes. Cada antisuero es específico para determinados antígenos de serogrupo. Cuando se rehidrata correctamente y utiliza de la manera recomendada, cada frasco de **Antisueros Salmonella O Difco** o **Antisueros Salmonella Vi Difco** contiene suficiente reactivo para 60 pruebas.

Difco Salmonella O Poly A-I Antisueros y **Antisueros Salmonella Vi Difco** se preparan con cepas representativas de estos serogrupos y no se absorben. Pueden presentar reacción cruzada debido a antígenos O en común.

Difco Salmonella O Group Antisueros son específicos para los factores principales presentes en el serogrupo.

Difco Salmonella O Factor Antisueros son específicos para los factores de los serogrupos individuales. Al utilizar **Difco Salmonella O Group Antisueros**, es posible que se produzcan reacciones cruzadas porque los serogrupos pueden tener en común antígenos de grupos secundarios. **Difco Salmonella O Factor Antisueros** son absorbidos según la necesidad, lo que convierte a cada antisuero en tan específico como práctico, sin reducir las reacciones homólogas a un nivel no satisfactorio.

Difco Salmonella H Poly Antisueros son antisueros polivalentes específicos para determinados antígenos flagelares. Cada frasco de **Antisueros Salmonella H Difco** contiene suficiente reactivo para realizar 150 – 1500 pruebas, según el antisuero utilizado. **Antisueros Salmonella H Difco** son absorbidos o no, de manera

específica, para los antígenos de fase 1 o 2. **Antisueros Salmonella H Difco Spicer-Edwards** son antisueros

polivalentes combinados y antisueros complementarios adicionales para la identificación de los antígenos H más frecuentes.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

El envase de este producto contiene goma natural seca.

Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todo el proceso. Después del uso, se deberán esterilizar muestras, envases, portaobjetos, tubos y demás material contaminado en autoclave. Es necesario seguir al pie de la letra las instrucciones de uso.

ADVERTENCIA: Este producto contiene azida sódica, que es tóxica en caso de inhalación, contacto con la piel e ingestión. El contacto con ácidos libera un gas muy tóxico. En caso de contacto con la piel, lavar de inmediato el área afectada con abundante agua. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Al eliminar el material por el desagüe, utilizar un gran volumen de agua para evitar la acumulación de azidas.

Conservación: Conservar **Antisueros Salmonella O Difco, Antisueros Salmonella H Difco y Antisueros Salmonella Vi Difco**, liofilizados y rehidratados, a una temperatura de 2 – 8 °C.

Una exposición prolongada de los reactivos a temperaturas diferentes de las especificadas es perjudicial para los productos.

Deterioro del producto: La fecha de caducidad se aplica al producto conservado en su envase intacto de la forma indicada. No utilizar si el producto está aglutinado o descolorido, o si evidencia otras señales de deterioro.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Muestras clínicas: *Salmonella* puede recuperarse de medios de diferenciación selectivos tales como el agar entérico Hektoen o agar XLD. Consultar las referencias correspondientes para obtener recomendaciones específicas^{11,12}. Determinar que se haya obtenido un cultivo puro del microorganismo y que las reacciones de las pruebas bioquímicas sean acordes con la identificación del organismo como



perteneciente a la especie *Salmonella*. Una vez satisfechos estos criterios, se podrá realizar la identificación serológica.

Muestras de alimentos: Puede recuperarse *Salmonella* de diversos tipos de muestras cuando éstas se procesan para recuperar microorganismos lesionados y evitar el crecimiento excesivo de microorganismos competidores. Consultar las referencias correspondientes para obtener recomendaciones específicas acerca de los procedimientos para aislar *Salmonella* de los alimentos^{13,14}. Determinar que se haya obtenido un cultivo puro del microorganismo y que las reacciones de las pruebas bioquímicas sean coherentes con la identificación del organismo como perteneciente a la especie *Salmonella*. Una vez satisfechos estos criterios, se podrá realizar la identificación serológica.

Se debe realizar un subcultivo de la cepa aislada para las pruebas serológicas desde medios selectivos a un agar no selectivo.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: Antisueros *Salmonella* O Difco; Antisueros *Salmonella* H Difco; o Difco *Salmonella* Antisuero Vi.

Materiales necesarios pero no suministrados: Prueba en portaobjetos: solución de NaCl al 0,85% estéril; portaobjetos de aglutinación con 6,54 cm²; aplicadores; baño María (hirviendo); centrifugadora.

Tubo de ensayo: solución de NaCl al 0,85% estéril; tubos de cultivo de 12 x 75 mm y gradilla; baño María, 50 ± 2 °C; pipetas serológicas de 1 mL; formaldehído.

Preparación del reactivo: Equilibrar todos los materiales a temperatura ambiente antes de realizar las pruebas. Asegurarse de que el material de vidrio y las pipetas estén limpios y libres de residuos, como, por ejemplo, detergente.

Para reconstituir el producto, añadir 3 mL de solución de NaCl al 0,85% estéril y girar suavemente para disolver el contenido por completo. Los antisueros reconstituidos se consideran como diluciones 1:2.

Análisis de la cepa aislada para determinar la autoaglutinación

1. A partir de un cultivo de prueba en medio no selectivo, transferir un asa llena de crecimiento a una gota de solución salina estéril al 0,85% en un portaobjetos limpio, y emulsionar el organismo.
2. Girar el portaobjetos durante 1 min y luego observar para determinar si se ha producido aglutinación.
3. Si ocurre la aglutinación (autoaglutinación), el cultivo es rugoso y no se podrá analizar. Realizar un subcultivo en agar no selectivo, incubarlo y volver a analizar el organismo tal como se describe en los pasos 1 y 2.
4. Si no ocurre ningún tipo de aglutinación, realizar el análisis del organismo.

Selección de antisueros

Salmonella O Antisueros: Este Esquema I de identificación serológica (véase la Tabla 1, página 9) comienza con **Antisueros Salmonella O Difco** Poly A hasta Poly G, que incluye lo siguiente:

Antisueros de grupo Salmonella Grupos somáticos presentes

Salmonella O Antisuero Poly A A,B,D,E1 (E2,E3) *, E4,L

Salmonella O Antisuero Poly B C1,C2,F,G,H

Salmonella O Antisuero Poly C I,J,K,M,N,O

Salmonella O Antisuero Poly D P,Q,R,S,T,U

Salmonella O Antisuero Poly E V,W,X,Y,Z

Salmonella O Antisuero Poly F 51-55

Salmonella O Antisuero Poly G 56-61

* Las cepas de los grupos E2 y E3 son lisogenizadas por el bacteriófago 15, luego por el 34. Dichas cepas ahora se clasifican en el grupo E1.2

Si se produce aglutinación, utilizar **Difco** *Salmonella* O Group Antisueros individuales para determinar el serogrupo específico al que pertenece el aislado. Por motivos de eficacia, analizar primero con **Difco** *Salmonella* O Group Antisueros B, D y C1 individuales (los serogrupos más comunes).

Si no se produce aglutinación con *Salmonella* O Antisuero Poly A o *Salmonella* O Antisuero Poly B, analizar el aislado con **Difco** *Salmonella* Antisuero Vi. Si el resultado es positivo, calentar y repetir la prueba con **Difco** *Salmonella* Antisuero Vi. Si se produce aglutinación después de hervir con **Difco** *Salmonella* Antisuero Vi, es probable que el aislado no sea *Salmonella*. Si no se produce aglutinación con **Difco** *Salmonella* Antisuero Vi después de hervir, analizar el cultivo hervido con **Antisueros Salmonella O Difco** individuales. Si los resultados de la prueba son indeterminados, los aislados deben enviarse a un laboratorio de referencia para realizar pruebas adicionales.

Si no se produce aglutinación con *Salmonella* O Antisuero Poly C, D, E, F y G, es probable que el aislado no sea *Salmonella*.



Esquema I para el uso de Salmonella O Antisueros Poly Groups A, B, C, D, E, F y G.

Prueba con Salmonella O Antisueros Poly Groups A, B, C, D, E, F y G

Resultado de la prueba

+ – con Poly A or B

– con Poly C, D, E, F y G

Prueba con Salmonella O

Antisueros individuales Salmonella O Antisuero Vi

Resultado de la prueba

+ con un Salmonella O Antisuero (requerido)

+ –

Prueba con Calentar y repetir la prueba con

Salmonella O Antisuero Vi

Resultado de la prueba

+ –

Conclusión de la prueba o acción siguiente:

Determinar el Salmonella H Antígeno Aislado de prueba no es *Salmonella*

Analizar el cultivo hervido con Salmonella O Antisueros individuales

Aislado de prueba no es *Salmonella*

Aislado de prueba no es *Salmonella*

Salmonella O Antisuero Poly A-I y Vi, esquema II (véase Tabla 2 a continuación): Este antisuero detecta los factores 1-16, 19, 22-25, 34 y Vi. Esta combinación de factores representa los grupos A-I aislados más frecuentes y los antígenos Vi, y se utiliza para la detección sistemática de posibles aislados de *Salmonella*.

Una reacción posible indica que se necesitan más pruebas serológicas para identificar el aislado con **Difco** Salmonella O Group Antisueros. Los serogrupos más comunes son B, D y C1. Para motivos de eficacia, primero utilizar **Difco** Salmonella O Grupo Antisueros para dichos serogrupos.

Si el aislado es positivo con **Difco** Salmonella O Antisuero Poly A-I y Vi pero negativo con los antisueros somáticos específicos, analizar el aislado con **Difco** Salmonella Antisuero Vi. Si se obtiene un resultado positivo con **Difco** Salmonella Antisuero Vi, calentar y repetir la prueba con **Difco** Salmonella Antisuero Vi. Si se obtiene un resultado positivo con **Difco** Salmonella O Antisuero Vi después de hervir, es posible que el aislado no sea *Salmonella*. Si no se produce aglutinación con **Difco** Salmonella Antisuero Vi después de hervir, analizar el cultivo hervido con **Antisueros Salmonella O Difco** individuales. Si los resultados de la

prueba son indeterminados, los aislados deben enviarse a un laboratorio de referencia para realizar pruebas adicionales.

Una reacción negativa con **Difco** Salmonella O Antisuero Poly A-I y Vi indica que el aislado no pertenece a los serogrupos A-I. Si las reacciones bioquímicas son acordes con *Salmonella*, es posible que se trate de un serogrupo diferente de A-I. Se requieren más pruebas con antisueros para antígenos de otros serogrupos.

Esquema II para el uso de Salmonella O Antisuero Poly A-I y Vi.

Prueba con Salmonella O Antisuero Poly A-I y Vi

Resultado de la prueba + –

Prueba con Salmonella O Antisueros individuales

Resultado de la prueba + –

Prueba con Salmonella O Antisuero Vi

Resultado de la prueba + –

Prueba con Calentar y repetir la prueba con Salmonella O Antisuero Vi

Resultado de la prueba + –

Conclusión de la prueba o acción siguiente

Determinar el Salmonella H Antígeno

Aislado de prueba no es *Salmonella*

Analizar el cultivo hervido con Salmonella O Antisueros individuales

Aislado de prueba no es *Salmonella*

Puede ser Salmonella detectable mediante el uso de Salmonella O Antisueros Poly C, D, E, F o G.

Antisueros de factor de grupo y de un solo factor para Salmonella O: Utilizar **Difco** Salmonella O Group Antisueros seleccionados para identificación adicional de aislados. Son posibles las reacciones cruzadas entre los serogrupos con antígenos en común. Véase esta lista parcial de **Difco** Salmonella O Group Antisueros como ejemplo:

Salmonella O Antisuero Group A Factors 1, 2, 12; Salmonella O Antisuero Group B Factors 1, 4, 5, 12;



Salmonella O Antisuero Group B Factors 1, 4, 12, 27

Los factores 1 y 12 se producen en combinación con otros antígenos y pueden causar reacciones cruzadas. La potencia de las reacciones ayuda en la interpretación. Una aglutinación de 3+ o mayor, de formación rápida, indica una reacción homóloga.

Utilizar los **Difco** Salmonella O Factor Antisueros seleccionados. Para lograr una identificación adicional del aislado, se utilizan antisueros absorbidos específicos para un antígeno identificable en un serogrupo determinado. En el ejemplo anterior, se podrían utilizar los **Difco** Salmonella O Factor Antisueros:

Salmonella O Antisuero Factor 2; Salmonella O Antisuero Factor 4; Salmonella O Antisuero Factors 4, 5; Salmonella O Antisuero Factor 5

Antisueros polivalentes para Salmonella H: La identificación adicional de un aislado de *Salmonella* incluye la caracterización de los antígenos flagelares. Se puede realizar la determinación de serogrupo con los siguientes **Difco** Polyvalent H Antisueros:

Antisueros de grupo polivalentes para Salmonella H Antígenos flagelares presentes

Salmonella H Antisuero Poly a-z Grupos EN,G,L,Z4, 1 complejos y a-k,r-z,z6,z10,z29

Salmonella H Antisuero Poly A Grupos a,b,c,d,i,z10,z29

Salmonella H Antisuero Poly B Grupos eh,en,enz15, complejo G

Salmonella H Antisuero Poly C Grupos k,l,r,y,z,z4

Salmonella H Antisuero Poly D Grupos z35,z36,z37,z38,z39,z41,z42

Salmonella H Antisuero Poly E 1 complejo z6

Los antisueros de antígeno H absorbidos específicos para determinados antígenos o complejo de antígenos pueden utilizarse para realizar una identificación adicional del aislado.

Antisueros de antígeno H absorbidos y no absorbidos: La identificación completa de un aislado de *Salmonella* conlleva el análisis de antígenos de fase 1 y 2 mediante el antisuero de antígeno H. Para el patrón de complejos de análisis y procedimientos, consultar las referencias correspondientes9.

Salmonella H Antisueros Spicer-Edwards: Antisueros Salmonella H Difco Spicer-Edwards se utiliza para la detección sistemática e identificación de las cepas de *Salmonella* más frecuentes, mediante una combinación de antisueros de complejos específicos y polivalentes.

Tabla 3. – Identificación de Salmonella H mediante Salmonella H Antisueros 2 Spicer-Edwards. H Antígeno(s) Salmonella H Antisueros Spicer-Edwards H Antígeno(s) Salmonella H Antisueros Spicer-Edwards

1 2 3 4 1 2 3 4

a + + + - k - + + +

b + + - + r - + - +

c + + - - y - + - -

d + - + + z - - + +

e, h + - + - Z4

Complex** - - + -

G Complex* + - - + z10 - - - +

i + - - - z29 - + + -

* El componente de complejo G de Salmonella H Antisueros Spicer-Edwards 1 y 4 reacciona con los antígenos

f,g; f,g,s; f,g,t; g,m; g,m,q; g,m,s; g,m,s,t; g,m,t; g,p; g,p,s; g,p,u; g,q; g,s,t; g,t; m,p,t,u y m,t.

** El componente de complejo Z4 reacciona con z4,z23; z4,z24 y z4,z32.

Observar que no hay antígenos con resultado positivo para los cuatro Salmonella H Antisueros Spicer-Edwards.

Los antígenos que reaccionen con los cuatro sueros deben verificarse para determinar su uniformidad.

Método de prueba del portaobjetos

Antisueros para Salmonella O y Vi

Utilizar este procedimiento para analizar el aislado con cada antisuero seleccionado.

1. Colocar 1 gota (35 µL) de cada antisuero a ser analizado en un portaobjetos de aglutinación.

2. Desde un medio de agar sólido, transferir una parte de un asa entera de una colonia aislada al área de reacción anterior y mezclar bien.

3. **Control negativo:** Colocar 1 gota de solución de NaCl al 0,85% estéril en un portaobjetos de aglutinación.

Colocar 1 gota de cada **Difco** Salmonella O Antisuero a ser analizado en un portaobjetos de aglutinación y mezclar bien.



4. **Control positivo:** Colocar 1 gota de cada **Difco** Salmonella O Antisuero a ser analizado en un portaobjetos de aglutinación. Añadir 1 gota de **Difco** QC Antígeno Salmonella apropiado o de cultivos de referencia de identificación serológica conocida.
5. Girar el portaobjetos durante 1 min y efectuar la lectura para determinar si se ha producido aglutinación. Los resultados se deben leer en el plazo de 1 min.

Preparación de la prueba en tubo

1. **Salina formalinizada al 0,6%:** Preparar añadiendo 6 mL de formaldehído cada 1.000 mL de solución de NaCl al 0,85% estéril.
2. **Organismo de prueba:** A menudo es necesario incrementar la movilidad del organismo de prueba. Con este fin, se deben realizar varias transferencias consecutivas del Motility GI Medium.
 - Inocular el tubo levemente por debajo de la superficie del medio con una aguja de inoculación.
 - Incubar a 35 – 37 °C durante 18–20 h.
 - Transferir sólo los organismos que han migrado al fondo del tubo.
 - Cuando el organismo se desplace satisfactoriamente 50-60 mm por el medio en un plazo de 18 – 20 h, estará listo para su utilización.
 - Se recomienda un caldo de infusión como el caldo de infusión de ternera para el cultivo de *Salmonella* móvil antes del análisis. Debe inocularse e incubarse a 35 °C durante 24 h. Se puede utilizar caldo de infusión de cerebro y corazón con incubación a una temperatura de 35 °C durante 4 – 6 h. Si se utiliza caldo de soja tríptico, incubar a 35 °C durante 24 h.
 - Preparar la suspensión del organismo de prueba utilizando volúmenes iguales de cultivo de caldo y solución salina formalinizada al 0,6%. La densidad final de esta suspensión de prueba debe ser equivalente al patrón de turbidez N° 3 de McFarland.
3. **Control positivo:** No se encuentran disponibles antígenos de *Salmonella* H de control de calidad preparados comercialmente. El usuario debe mantener cultivos de referencia de identificación serológica conocida para su uso con fines de control de calidad. Preparar el antígeno utilizando serotipos conocidos y siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. (Véase **Organismo de prueba**, anteriormente en el documento.)
4. **Antisueros para Salmonella H:** Los antisueros reconstituidos se consideran como diluciones de trabajo 1:2. Preparar las diluciones de la manera siguiente y utilizar en el día de preparación. Desechar cualquier porción no utilizada.
 - La mayoría de los **antisueros para Salmonella H:** Preparar una dilución de 1:250 añadiendo 0,1 mL de antisuero reconstituido a 25 mL de solución de NaCl al 0,85%. Después de mezclar cantidades iguales (0,5 mL) de antisuero diluido y aislado de prueba, la dilución final es de 1:1.000.
 - **Salmonella H Antisueros x, z13, z15 y z28:** Preparar una dilución de 1:125 añadiendo 0,1 mL de antisuero reconstituido a 12,5 mL de solución de NaCl al 0,85%. Después de mezclar cantidades iguales (0,5 mL) de antisuero diluido y aislado de prueba, la dilución final es de 1:500.
 - **Salmonella H Antisuero Poly a-z:** Preparar una dilución de 1:25 añadiendo 0,1 mL de antisuero reconstituido a 2,5 mL de solución de NaCl al 0,85%. Después de mezclar cantidades iguales (0,5 mL) de antisuero diluido y aislado de prueba, la dilución final es de 1:100.

Procedimiento de prueba en tubo

Antisueros para Salmonella H

1. Preparar un tubo de ensayo de 12 x 75 mm para cada muestra a analizar.
2. **Antisuero diluido:** Dosificar 0,5 mL en cada tubo.
3. **Aislado de prueba:** Añadir 0,5 mL al tubo correspondiente.
4. **Control positivo:** Añadir 0,5 mL de control positivo de antígeno a un tubo con 0,5 mL de antisuero.
5. **Control negativo:** Añadir 0,5 mL de solución de NaCl al 0,85% a un tubo con 0,5 mL de aislado de prueba.
6. Incubar todos los tubos en baño María a 50 ± 2 °C durante 1 h.
7. Efectuar una lectura para determinar floculación (aglutinación).
8. Repetir la prueba en tubo con un organismo de prueba con fase inversa. (Véase el procedimiento para **Inversión de fase** a continuación.)

Inversión de fase

1. Preparar medio de inversión de fase para Motility GI Medium según las instrucciones.
2. Preparar el antisuero contrario a la fase deseada. Por ejemplo, la incubación de *Salmonella* Typhimurium fase 1[i] en GI Motility Medium con antisuero i permite el crecimiento y la propagación de *S. Typhimurium* fase 2 [1,2].
3. Añadir 1 mL de una dilución 1:10 de antisuero a 25 mL de GI Motility Medium estéril y mezclar bien. Verter en una placa de Petri estéril y dejar solidificar.
4. Inocular perforando el borde del medio solidificado.



5. Incubar a 35 – 37 °C durante 24 h.
6. Transferir el crecimiento del borde de propagación frente al sitio de inoculación a un medio líquido para análisis según los pasos en la sección **Procedimiento de prueba en tubo: Antisueros para Salmonella H**.
7. Si la movilidad no es aceptable, realizar otra pasada por el Motility GI Medium.

Salmonella H Antisuero Spicer-Edwards

1. Preparar el organismo de prueba y la dilución de antisuero 1:2 según se ha descrito anteriormente en Preparación de la prueba en tubo.
2. **Dilución de antisuero de 1:1.000 final:** Preparar añadiendo 0,1 mL de antisuero reconstituido (dilución de trabajo de 1:2) a 25 mL de solución de NaCl al 0,85%.
3. Preparar 4 tubos de cultivo de 12 x 75 mm para cada organismo de prueba.
4. **Salmonella H Antisueros Spicer-Edwards 1-4:** Añadir 0,5 mL de antisuero diluido en los tubos de ensayo.
5. **Organismo de prueba:** Agregar 0,5 mL a cada tubo.
6. Incubar los tubos en baño María a 50 ± 2 °C durante 1 h.
7. Quitar del baño María. Evitar agitar en exceso cuando los tubos se encuentren en el baño María o cuando se los extraiga del mismo antes de efectuar la lectura de las reacciones.
8. Efectuar una lectura para determinar floculación (aglutinación).

Control de calidad del usuario: En el momento de uso, aplicar controles tanto homólogos como heterólogos para comprobar el rendimiento del antisuero, las técnicas y la metodología. **Difco** QC Antígenos Salmonella puede utilizarse como control homólogo. Para más instrucciones, consultar el folleto de **Difco** QC Antígenos Salmonella.

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI (antes NCCLS) y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

Resultados

Prueba en portaobjetos

1. Leer y registrar los resultados de la siguiente forma:
4+ 100% de aglutinación (fondo de transparente a ligeramente lechoso). 1+ 25% 25% de aglutinación (fondo turbio).
3+ 75% de aglutinación (fondo ligeramente turbio). – Sin aglutinación.
2+ 50% de aglutinación (fondo moderadamente turbio).
2. El control positivo debe indicar una aglutinación de 3+ o mayor.
3. El control negativo no debe mostrar ningún indicio de aglutinación.
4. Para las cepas aisladas del análisis, un valor de aglutinación de 3+ o mayor indica un resultado positivo.
5. Una aglutinación parcial (menos de 3+) o demorada debe considerarse como reacción negativa.
6. Si se requiere una identificación de antígeno de *Salmonella* H, continuar en la sección siguiente.

Prueba en tubo

1. Leer y registrar los resultados de la siguiente forma:
4+ 100% de aglutinación (fondo de transparente a ligeramente lechoso). 1+ 25% 25% de aglutinación (fondo turbio).
3+ 75% de aglutinación (fondo ligeramente turbio). – Sin aglutinación.
2+ 50% de aglutinación (fondo moderadamente turbio).
 2. El control positivo debe indicar una aglutinación de 3+ o mayor en la dilución de prueba de rutina.
 3. El control negativo no debe mostrar ningún indicio de aglutinación.
- Al utilizar **Difco** Salmonella H Spicer-Edwards, comparar los resultados con los patrones de floculación (aglutinación) del esquema de Spicer-Edwards (véase la Tabla 3, arriba).

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Para una identificación final, se requiere la caracterización completa de los antígenos O y H de un aislado de *Salmonella*. Debido a la complejidad de los procedimientos de laboratorio, la identificación con antisueros polivalentes puede ser suficiente para la mayoría de los laboratorios.
2. Los aislados posiblemente de *Salmonella* que presenten discordancias en las reacciones bioquímicas y las pruebas de antígenos O y H deben remitirse a un laboratorio de referencia para análisis adicionales.
3. El calor excesivo proveniente de fuentes externas (asa bacteriológica caliente, llama del mechero, fuente de luz, etc.) puede impedir la formación de una suspensión uniforme del microorganismo o causar la evaporación o precipitación de la mezcla de análisis. Pueden ocurrir reacciones positivas falsas.
4. Efectivamente ocurren cepas aisladas de cultivos rugosos, las cuales se aglutinarán espontáneamente, lo que causa la aglutinación de la reacción de control negativo (autoaglutinación). Es necesario seleccionar y analizar colonias uniformes en los procedimientos serológicos.



5. En el procedimiento de aglutinación en portaobjetos para el análisis de antígeno O, se recomienda que se analicen varias colonias y que se utilicen antisueros polivalentes no absorbidos seguidos de antisueros de un factor absorbidos. Por ejemplo, las colonias de un cultivo 1,2,12 en una placa de agar presentarán diversos niveles de cada antígeno. Un antisuero 1,2,12 absorbido de anticuerpos 1 y 12 será altamente específico, pero mostrará aglutinación débil o nula con las colonias que tienen menos del antígeno 2 y más del antígeno 1 y 12. El uso de **Difco** Salmonella O Antisuero Group A no absorbido, factores 1,2,12, para analizar varias colonias presuntas en una placa, seguido del análisis con **Difco** Salmonella O Antisuero absorbido, factor 2, otorga el equilibrio necesario de sensibilidad y especificidad.
6. Las reacciones de aglutinación de 3+ o mayor se interpretan como reacciones positivas. Las reacciones cruzadas que generan aglutinación de 1+ o 2+ son posibles, dado que existen antígenos somáticos en común entre diferentes grupos como antígenos de grupos secundarios.
7. Pueden existir antígenos en común entre diversos serogrupos "O" de *Salmonella*. Por ejemplo, **Difco** Salmonella O Antisuero Poly A contiene, entre otros, aglutininas para factor 1, dado que los cultivos con factor 1 se utilizaron en la inmunización. Se puede esperar que este antisuero polivalente reaccione con cultivos diferentes a los contenidos en los serogrupos "O" A, B, D, E y L debido al antígeno 1 en común (los organismos en el grupo G1, G2, H, R, T, etc., que contienen el factor 1).
8. **Difco** Salmonella O Antisuero Poly A-I y Vi se ha preparado con miembros representativos de aquellos grupos somáticos y no se ha absorbido. Es evidente que este suero puede reaccionar y reaccionará con grupos O de *Salmonella* más elevados.
9. La técnica de aglutinación en tubo se recomienda para el análisis de antígeno H porque pueden ocurrir reacciones cruzadas con antígenos somáticos en las diluciones utilizadas en la técnica en portaobjetos.
10. En la prueba en tubo, es necesario asegurarse de preparar la dilución adecuada para un antisuero determinado. Se utilizan diversas diluciones para antisueros distintos. Consulte los detalles en la sección

Preparación de la prueba en tubo.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Salmonella O Antisueros y Salmonella Antisuero Vi: La sensibilidad de **Antisueros Salmonella O Difco** y **Salmonella Antisuero Vi** se determina al demostrar la reactividad correspondiente, como se define en la sección Resultados, Prueba en portaobjetos, frente a un conjunto de cultivos homólogos de *Salmonella* (véase la Tabla 4, a continuación). La especificidad se determina al demostrar la falta de reactividad frente a grupos no relacionados (heterólogos) de *Salmonella*.

Antisueros para Salmonella H

La sensibilidad de **Antisueros Salmonella H Difco** se determina al demostrar la reactividad correspondiente, como se define en la sección Resultados, Prueba en portaobjetos, frente a un conjunto de cultivos homólogos de *Salmonella* (véase la Tabla 5, página 14). La especificidad se determina al demostrar la falta de reactividad frente a grupos no relacionados (heterólogos) de *Salmonella*.

DISPONIBILIDAD:

229471 Salmonella O Antisuero Group A Factors 1, 2, 12 A
228141 Salmonella O Antisuero Factor 2
229481 Salmonella O Antisuero Group B Factors 1,4,5,12
229731 Salmonella O Antisuero Group B Factors 1,4,12, 27
226591 Salmonella O Antisuero Factor 4
226601 Salmonella O Antisuero Factor 5
226671 Salmonella O Antisuero Factor 27
229491 Salmonella O Antisuero Group C1 Factors 6,7
229501 Salmonella O Antisuero Group C2 Factors 6,8
230161 Salmonella O Antisuero Group C3 Factors (8), 20
226621 Salmonella O Antisuero Factor 20
226611 Salmonella O Antisuero Factor 14
228161 Salmonella O Antisuero Factor 7
229511 Salmonella O Antisuero Group D1 Factors 1,9,12
230171 Salmonella O Antisuero Group D2 Factors (9), 46
228181 Salmonella O Antisuero Factor 9
228191 Salmonella O Antisuero Group E Factors 1,3,10,15,19,34
229521 Salmonella O Antisuero Group E1 Factors 3,10
229541 Salmonella O Antisuero Group E2 Factors 3,15
230181 Salmonella O Antisuero Group E3 Factors (3),(15),34
230191 Salmonella O Antisuero Group E4 Factors 1,3,19
222571 Salmonella O Antisuero Factor 10
222581 Salmonella O Antisuero Factor 15



222591 Salmonella O Antisuero Factor 19
211778 Salmonella O Antisuero Factor 34
222601 Salmonella O Antisuero Group F Factor 11 F Rubislaw 11
230291 Salmonella O Antisuero Group G Factors 13,22,23, (36), (37)
222611 Salmonella O Antisuero Group G1 Factors 13, 22, (36)
230201 Salmonella O Antisuero Group G2 Factors 1,13,23,(37)
226631 Salmonella O Antisuero Factor 22
226641 Salmonella O Antisuero Factor 23
222621 Salmonella O Antisuero Group H Factors 1,6,14,24,25 H Florida {1},6,14,{25}
226661 Salmonella O Antisuero Factor 25
222631 Salmonella O Antisuero Group I Factor 16 I Gaminara 16
211780 Salmonella O Antisuero Group J Factor 17 J Kirkee 17
225181 Salmonella O Antisuero Group K Factor 18 K Cerro 6,14,18
225191 Salmonella O Antisuero Group L Factor 21 L Minnesota 21,26
211781 Salmonella O Antisuero Group M Factor 28 M
211783 Salmonella O Antisuero Group N Factor 30 N Urbana 30ab
225221 Salmonella O Antisuero Group O Factor 35 O Adelaide 35
225341 Salmonella O Antisuero Poly A (Groups A,B,D,E1,E2,E3,E4 and L) Homologous Cultures Tested
225351 Salmonella O Antisuero Poly B (Groups C1,C2,F,G and H) Homologous Cultures Tested
225361 Salmonella O Antisuero Poly C (Groups I,J,K,M,N and O) Homologous Cultures Tested
225371 Salmonella O Antisuero Poly D (Groups P,Q,R,S,T and U) Homologous Cultures Tested
225381 Salmonella O Antisuero Poly E (Groups V,W,X,Y and Z) Homologous Cultures Tested
226451 Salmonella O Antisuero Poly F (Groups 51-55) Homologous Cultures Tested
226461 Salmonella O Antisuero Poly G (Groups 56-61) Homologous Cultures Tested
228271 Salmonella Antisuero Vi Homologous Cultures Tested
225441 Salmonella H Antisuero f
225461 Salmonella H Antisuero m
225481 Salmonella H Antisuero p
225501 Salmonella H Antisuero s
225511 Salmonella H Antisuero t
222711 Salmonella H Antisuero L
225541 Salmonella H Antisuero w
225561 Salmonella H Antisuero z13
225611 Salmonella H Antisuero z28
222721 Salmonella H Antisuero 1
224741 Salmonella H Antisuero Single Factor 2
224751 Salmonella H Antisuero Single Factor 5
224761 Salmonella H Antisuero Single Factor 6
224771 Salmonella H Antisuero Single Factor 7
225571 Salmonella H Antisuero EN
225581 Salmonella H Antisuero Z4
222651 Salmonella H Antisuero Spicer-Edwards 1
222661 Salmonella H Antisuero Spicer-Edwards 2
222671 Salmonella H Antisuero Spicer-Edwards 3
222681 Salmonella H Antisuero Spicer-Edwards 4
228201 Salmonella H Antisuero a
228211 Salmonella H Antisuero b
228221 Salmonella H Antisuero c
228231 Salmonella H Antisuero d
228241 Salmonella H Antisuero i
222741 Salmonella H Antisuero k
222751 Salmonella H Antisuero r
222761 Salmonella H Antisuero y
222771 Salmonella H Antisuero z
222791 Salmonella H Antisuero z10
222801 Salmonella H Antisuero z29
224731 Salmonella H Antisuero z6
225391 Salmonella H Antisuero Poly A (Groups a, b, c, d, i, z10 and z29) Homologous Cultures Tested
225401 Salmonella H Antisuero Poly B (Groups eh, en, enx, enz15 and G complex) HCT
225411 Salmonella H Antisuero Poly C (Groups k, l, r, y, z and z4) Homologous Cultures Tested
225421 Salmonella H Antisuero Poly D (Groups z35, z36, z37, z38, z39, z41 and z42) HCT
225431 Salmonella H Antisuero Poly E (Groups 1 Complex, z6) Homologous Cultures Tested



DISPONIBILIDAD

N° cat. Descripción

228201 Salmonella H Antisuero a, 1 x 3 mL
228211 Salmonella H Antisuero b, 1 x 3 mL
228221 Salmonella H Antisuero c, 1 x 3 mL
228231 Salmonella H Antisuero d, 1 x 3 mL
222731 Salmonella H Antisuero eh, 1 x 3 mL
225441 Salmonella H Antisuero f, 1 x 3 mL
225451 Salmonella H Antisuero h, 1 x 3 mL
228241 Salmonella H Antisuero i, 1 x 3 mL
222741 Salmonella H Antisuero k, 1 x 3 mL
225461 Salmonella H Antisuero m, 1 x 3 mL
225481 Salmonella H Antisuero p, 1 x 3 mL
222751 Salmonella H Antisuero r, 1 x 3 mL
225501 Salmonella H Antisuero s, 1 x 3 mL
225511 Salmonella H Antisuero t, 1 x 3 mL
225541 Salmonella H Antisuero w, 1 x 3 mL
225551 Salmonella H Antisuero x, 1 x 3 mL
222761 Salmonella H Antisuero y, 1 x 3 mL
222771 Salmonella H Antisuero z, 1 x 3 mL
224731 Salmonella H Antisuero z6, 1 x 3 mL
222791 Salmonella H Antisuero z10, 1 x 3 mL
225561 Salmonella H Antisuero z13, 1 x 3 mL
225571 Salmonella H Antisuero z15, 1 x 3 mL
225581 Salmonella H Antisuero z23, 1 x 3 mL
225611 Salmonella H Antisuero z28, 1 x 3 mL
222801 Salmonella H Antisuero z29, 1 x 3 mL
225621 Salmonella H Antisuero z32, 1 x 3 mL
222701 Salmonella H Antisuero EN Complex, 1 x 3 mL
222691 Salmonella H Antisuero G Complex, 1 x 3 mL
222711 Salmonella H Antisuero L Complex, 1 x 3 mL
222781 Salmonella H Antisuero Z4 Complex, 1 x 3 mL
224061 Salmonella H Antisuero Poly a-z, 1 x 3 mL
225391 Salmonella H Antisuero Poly A (a,b,c,d,i,z10,z29), 1 x 3 mL
225401 Salmonella H Antisuero Poly B (eh,en,enz,enz15, and G Complex), 1 x 3 mL
225411 Salmonella H Antisuero Poly C (k,l,r,y,z,z4), 1 x 3 mL
225421 Salmonella H Antisuero Poly D (z35,z36,z37,z38,z39,z41,z42), 1 x 3 mL
225431 Salmonella H Antisuero Poly E (1 Complex, z6), 1 x 3 mL
224741 Salmonella H Antisuero Single Factor 2, 1 x 3 mL
224751 Salmonella H Antisuero Single Factor 5, 1 x 3 mL
224761 Salmonella H Antisuero Single Factor 6, 1 x 3 mL
224771 Salmonella H Antisuero Single Factor 7, 1 x 3 mL
222651 Salmonella H Antisuero Spicer-Edwards 1, 1 x 3 mL
222661 Salmonella H Antisuero Spicer-Edwards 2, 1 x 3 mL
222671 Salmonella H Antisuero Spicer-Edwards 3, 1 x 3 mL
222681 Salmonella H Antisuero Spicer-Edwards 4, 1 x 3 mL
222721 Salmonella H Antisuero 1 Complex, 1 x 3 mL
228141 Salmonella O Antisuero Factor 2, 1 x 3 mL
226591 Salmonella O Antisuero Factor 4, 1 x 3 mL
228151 Salmonella O Antisuero Factors 4,5, 1 x 3 mL
226601 Salmonella O Antisuero Factor 5, 1 x 3 mL
228161 Salmonella O Antisuero Factor 7, 1 x 3 mL
228171 Salmonella O Antisuero Factor 8, 1 x 3 mL
228181 Salmonella O Antisuero Factor 9, 1 x 3 mL
222571 Salmonella O Antisuero Factor 10, 1 x 3 mL
227791 Salmonella O Antisuero Factor 12, 1 x 3 mL
226611 Salmonella O Antisuero Factor 14, 1 x 3 mL
222581 Salmonella O Antisuero Factor 15, 1 x 3 mL

**N° cat. Descripción**

222591 Salmonella O Antisuero Factor 19, 1 x 3 mL
226621 Salmonella O Antisuero Factor 20, 1 x 3 mL
226631 Salmonella O Antisuero Factor 22, 1 x 3 mL
226641 Salmonella O Antisuero Factor 23, 1 x 3 mL
226661 Salmonella O Antisuero Factor 25, 1 x 3 mL
226671 Salmonella O Antisuero Factor 27, 1 x 3 mL
211778 Salmonella O Antisuero Factor 34, 1 x 3 mL
229471 Salmonella O Antisuero Group A Factors 1, 2, 12, 1 x 3 mL
229481 Salmonella O Antisuero Group B Factors 1, 4, 5, 12, 1 x 3 mL
229731 Salmonella O Antisuero Group B Factors 1, 4, 12, 27, 1 x 3 mL
229491 Salmonella O Antisuero Group C1 Factors 6, 7, 1 x 3 mL
229501 Salmonella O Antisuero Group C2 Factors 6, 8, 1 x 3 mL
230161 Salmonella O Antisuero Group C3 Factors (8), 20, 1 x 3 mL
229511 Salmonella O Antisuero Group D1 Factors 1, 9, 12, 1 x 3 mL
230171 Salmonella O Antisuero Group D2 Factors (9), 46, 1 x 3 mL
228191 Salmonella O Antisuero Group E Factors 1, 3, 10, 15, 19, 34, 1 x 3 mL
229521 Salmonella O Antisuero Group E1 Factors 3, 10, 1 x 3 mL
229541 Salmonella O Antisuero Group E2 Factors 3, 15, 1 x 3 mL
230181 Salmonella O Antisuero Group E3 Factors (3), (15), 34, 1 x 3 mL
230191 Salmonella O Antisuero Group E4 Factors 1, 3, 19, 1 x 3 mL
222601 Salmonella O Antisuero Group F Factor 11, 1 x 3 mL
230291 Salmonella O Antisuero Group G Factors 13, 22, 23, (36), (37), 1 x 3 mL
222611 Salmonella O Antisuero Group G1 Factors 13, 22, (36), 1 x 3 mL
230201 Salmonella O Antisuero Group G2 Factors 1, 13, 23, (37), 1 x 3 mL
222621 Salmonella O Antisuero Group H Factors 1, 6, 14, 24, 25, 1 x 3 mL
222631 Salmonella O Antisuero Group I Factor 16, 1 x 3 mL
211780 Salmonella O Antisuero Group J Factor 17, 1 x 3 mL
225181 Salmonella O Antisuero Group K Factor 18, 1 x 3 mL
225191 Salmonella O Antisuero Group L Factor 21, 1 x 3 mL
211781 Salmonella O Antisuero Group M Factor 28, 1 x 3 mL
211783 Salmonella O Antisuero Group N Factor 30, 1 x 3 mL
225221 Salmonella O Antisuero Group O Factor 35, 1 x 3 mL
222641 Salmonella O Antisuero Poly A-I & Vi, 1 x 3 mL
225341 Salmonella O Antisuero Poly A (A, B, D, E1, E2, E3, E4, & L), 1 x 3 mL
225351 Salmonella O Antisuero Poly B (C1, C2, F, G, & H), 1 x 3 mL
225361 Salmonella O Antisuero Poly C (I, J, K, M, N, & O), 1 x 3 mL
225371 Salmonella O Antisuero Poly D (P, Q, R, S, T, & U), 1 x 3 mL
225381 Salmonella O Antisuero Poly E (V, W, X, Y, & Z), 1 x 3 mL
226451 Salmonella O Antisuero Poly F (Groups 51-55), 1 x 3 mL
226461 Salmonella O Antisuero Poly G (Groups 56-61), 1 x 3 mL
228271 Salmonella Antisuero Vi, 1 x 3 mL
241107 Salmonella O Grouping Antisuero Set, 1 set. Set contains: Thirteen vials, 3 mL each, of Poly Groups A, B(2), C1, C2, D1, E, F, G,H, I, Vi, A-I & Vi