remel **Es**

# Wellcolex* Colour Salmonella

## FINALIDAD DE USO

Wellcolex* Colour Salmonella es un ensayo de látex cualitativo sencillo y rápido para el cribado, la detección y la identificación del posible serogrupo de Salmonella a partir de caldos de cultivo selenito F y de medios de cultivo sólidos. El ensayo Wellcolex* Colour Salmonella se ha clasificado como altamente complejo según CLIA.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

El género Salmonella causa gran variedad de enfermedades humanas: desde formas leves de gastroenteritis hasta enteritis por *Salmonella* graves o mortales. Además, un individuo puede ser portador sin presentar síntomas. La identificación precoz y exacta es muy importante para determinar la terapia adecuada y controlar los brotes de la enfermedad. La identificación inicial de los organismos implica la utilización de procedimientos bioquímicos y serológicos. Para el análisis serológico definitivo se necesita gran cantidad de antisueros diferentes frente a los antígenos O asociados a células y a los antígenos H flagelares y se debería realizar en laboratorios de referencia. Para los laboratorios clínicos es útil la identificación del aislado del serogrupo O antes de enviar la muestra a un laboratorio de referencia[4].

## PRINCIPIOS BIOLÓGICOS DEL PROCEDIMIENTO

En el ensayo Wellcolex* Colour Salmonella, se mezcla una muestra de un cultivo con caldo selenito F (después de una incubación de 18 a 24 horas) o una suspensión de bacterias de agar sólido con 2 reactivos, que contienen una mezcla de suspensiones de partículas de látex rojas, azules y verdes. Cada una de estas partículas está recubierta de anticuerpos específicos para los diferentes serogrupos de Salmonella. Si los antígenos homólogos están presentes en la muestra, las partículas de un color de la mezcla se aglutinan y el color de las partículas agregadas junto con el cambio de color del fondo indica el tipo de antígenos presentes. Cada combinación de colores se distingue fácilmente de las demás combinaciones, de los resultados negativos (las partículas permanecen en una suspensión homogénea de color gris/marrón) y de los resultados inespecíficos poco habituales (las partículas se aglutinan en agregados de color gris/marrón y el fondo es de color claro).

## REACTIVOS

CONTENIDO DEL KIT

| Wellcolex* Colour Salmonella | 50 ensayos (ZC50/R30858301) | 200 ensayos (ZC52/R30858302) |
|---|---|---|
| 1. Reactivo de látex 1 | 1 frasco cuentagotas (tapón blanco) | 4 frascos cuentagotas (tapones blancos) |
| 2. Reactivo de látex 2 | 1 frasco cuentagotas (tapón blanco) | 4 frascos cuentagotas (tapones blancos) |
| 3. Control positivo rojo | 1 frasco cuentagotas (tapón rojo) | 1 frasco cuentagotas (tapón rojo) |
| 4. Control positivo azul | 1 frasco cuentagotas (tapón azul) | 1 frasco cuentagotas (tapón azul) |
| 5. Control positivo verde | 1 frasco cuentagotas (tapón verde) | 1 frasco cuentagotas (tapón verde) |
| 6. Bastoncillos desechables | 2 paquetes | 5 paquetes |
| 7. Tarjetas de reacción desechables | 1 paquete | 4 paquetes |
| 8. Dispensadores de muestra desechables | 2 paquetes | 8 paquetes |
| 9. Tubos de suspensión desechables | 1 paquete | NINGUNO |
| 10. Instrucciones de uso | 1 | 1 |
| 11. Guía de resultados | 1 | 1 |

DESCRIPCIÓN, PREPARACIÓN PARA EL USO Y ALMACENAMIENTO

Para más información, consulte el apartado **Advertencias y precauciones** en este prospecto.

A menos que se indique lo contrario, se deben almacenar todos los reactivos a una temperatura entre 2° y 8°C (bajo estas condiciones los reactivos del kit permanecen activos hasta la fecha de caducidad).

LATEX REAGENT 1

**Reactivo de látex 1**

1 frasco cuentagotas (ZC50/R30858301) o 4 frascos cuentagotas (ZC52/R30858302) con una suspensión de color gris/marrón de partículas de látex de poliestireno en tampón. Conservante: Bronidox® al 0,05%. Las partículas de látex están recubiertas de anticuerpos (de conejo) específicos:

| | |
|---|---|
| Látex rojo | Grupo B de Salmonella |
| Látex azul | Grupo C de Salmonella |
| Látex verde | Grupo $D_1$ de Salmonella |

LATEX REAGENT 2

**Reactivo de látex 2**

1 frasco cuentagotas (ZC50/R30858301) o 4 frascos cuentagotas (ZC52/R30858302) con una suspensión de color gris/marrón de partículas de látex de poliestireno en tampón. Conservante: Bronidox® al 0,05%. Las partículas de látex están recubiertas de anticuerpos (de conejo) específicos:

| | |
|---|---|
| Látex rojo | Vi |
| Látex azul | Grupos E y G de Salmonella |
| Látex verde | Grupo A de Salmonella |

RED CONTROL +

**Control positivo rojo**

Suspensión de bacterias muertas de organismos del grupo B de Salmonella y antígenos Vi. Conservantes: Bronidox® al 0,05% y formalina al 0,5%.

BLUE CONTROL +

**Control positivo azul**

Suspensión de bacterias muertas de organismos del grupo C y antígenos E de Salmonella. Conservantes: Bronidox® al 0,05% y formalina al 0,5%.

GREEN CONTROL +

**Control positivo verde**

Suspensión de bacterias muertas de organismos del grupo A y antígenos $D_1$ de Salmonella. Conservantes: Bronidox® al 0,05% y formalina al 0,5%.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

IVD

Sólo para uso en diagnóstico *in vitro*.

Sólo para uso profesional.

**Atención: este producto contiene caucho natural seco.**

Para más información sobre los componentes potencialmente peligrosos, consulte la hoja de seguridad de datos del fabricante y el etiquetado de los productos.

PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

1. Los controles positivos rojo, azul y verde contienen formalina al 0,5% que ha sido clasificada según las directivas de la Comunidad Económica Europea (CEE) como irritante (Xi). A continuación se indican las frases relativas a los riesgos (R) y medidas de seguridad (S).

Xi

| | |
|---|---|
| **R43** | Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel |
| **S24** | Evítese el contacto con la piel |
| **S37** | Úsense guantes adecuados |

2. Manipule las muestras de origen humano y los materiales como potencialmente infecciosos siguiendo los Procedimientos normalizados de trabajo. Preferiblemente, este ensayo se debe realizar en una cabina de seguridad para uso microbiológico[1].
3. Después del uso, los materiales no desechables se deben esterilizar. El método adecuado es la esterilización con autoclave a una temperatura de 121°C durante 15 minutos. Los materiales desechables se deben esterilizar con autoclave o incinerar. Las salpicaduras de los materiales potencialmente infecciosos se deben eliminar inmediatamente con papel absorbente y se debe limpiar la zona contaminada con un desinfectante adecuado o con alcohol al 70%. Los materiales utilizados para limpiar las salpicaduras, incluidos los guantes, se deben eliminar junto con los desechos potencialmente infecciosos. No esterilice con autoclave los materiales que contengan hipoclorito sódico.
4. No pipetee con la boca. Utilice guantes desechables, bata y protección para los ojos cuando manipule las muestras y realice el ensayo. Lávese bien las manos cuando haya terminado el análisis.
5. Si cualquiera de los reactivos entra en contacto con la piel o los ojos, lávese inmediatamente con agua abundante.
6. No ingiera los reactivos.

PRECAUCIONES DE MANIPULACIÓN

1. No utilice los reactivos transcurrida la fecha de caducidad.
2. Se debe evitar la contaminación microbiana de los reactivos, ya que puede reducir la duración del producto y producir resultados erróneos.
3. Antes del uso, deje que los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente (entre 18° y 30°C) y, después del uso, vuelva a almacenarlos inmediatamente bajo las condiciones antes indicadas. Los reactivos de látex que presenten agregación cuando los dispense por primera vez pueden haber estado congelados y no se deben utilizar.
4. Almacene los reactivos de látex en posición vertical a una temperatura entre 2° y 8°C. Después de un período de almacenamiento prolongado, es posible que el látex se haya agregado o secado en la boca del frasco. En este caso, se deben agitar bien los frascos de látex durante unos segundos hasta que el contenido se haya resuspendido totalmente.
5. Los usuarios con problemas para distinguir los colores deberían poder ver las aglutinaciones; sin embargo, les puede resultar difícil diferenciar las reacciones de los colores. En este caso, un usuario sin problemas para distinguir los colores debe examinar la reacción.
6. Es importante tener en cuenta la calidad del caldo selenito F utilizado para enriquecer la Salmonella, ya que un caldo que se haya calentado a más temperatura de la recomendada, que contenga un precipitado rojo, que se haya almacenado durante períodos de tiempo prolongados o que se haya almacenado a una temperatura superior a 8°C puede dar resultados erróneos, por lo que no se debe utilizar[5].
7. Cuando utilice frascos cuentagotas, es importante que los mantenga en posición vertical y que las gotas se formen en la punta del cuentagotas. Si la boca del frasco se humedece, se forma un volumen incorrecto en el extremo del cuentagotas y no en la punta; en este caso, seque la boca del frasco antes de seguir con el ensayo.
8. Es importante que utilice un rotador plano. Para obtener resultados óptimos, asegúrese de que el rotador esté nivelado y que esté ajustado para funcionar a una velocidad de 150 ± 5 rpm.
9. No toque las zonas de reacción de las tarjetas. Es importante que se asegure de que las tarjetas de reacción estén en posición horizontal en el rotador; en caso contrario, no se obtienen aglutinaciones claramente visibles.
10. Asegúrese de que los controles positivos se resuspendan agitándolos bien manualmente o con un agitador de tubos tipo Vortex durante 10 segundos. NO agite los reactivos de látex con un agitador de tubos tipo Vortex.

## RECOGIDA DE LAS MUESTRAS Y PREPARACIÓN DE LOS CULTIVOS

El ensayo se puede realizar directamente en caldo selenito F después de una incubación de 18 a 24 horas. La calidad del caldo selenito F es muy importante (para más información, consulte el apartado **Precauciones de manipulación** en este prospecto).

Con este ensayo se pueden utilizar colonias que no fermenten la lactosa crecidas en cultivos primarios con medios de cultivo selectivos (p.ej., agar de MacConkey, agar entérico Hektoen o agar de xilosa lisina desoxicolato), en subcultivos del caldo enriquecido en estos medios de cultivo o en cultivos puros (p.ej., agar con nutrientes en placas o en tubos inclinados).

Si es necesario confirmar los resultados del ensayo, se puede realizar un subcultivo de la suspensión bacteriana utilizada con el ensayo para su posterior identificación y, además, se puede utilizar la misma suspensión con el ensayo Wellcolex* Colour Shigella (ZC51/R30858401).

Para más información sobre la recogida de las muestras y la preparación de los cultivos, consulte un libro especializado[2,3,4].

## PROCEDIMIENTO

MATERIALES SUMINISTRADOS

El kit Wellcolex* Colour Salmonella contiene materiales suficientes para 50 ensayos (ZC50/R30858301) o 200 ensayos (ZC52/R30858302), para más información, consulte el apartado **Contenido del kit** en este prospecto.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Solución salina esterilizada al 0,85%.
2. El ensayo debe realizarse en un rotador plano con un diámetro orbital de 32 mm (1,25 in.)/38 mm (1,5 in.) y que funcione a una velocidad aproximada de 150 rpm. **La velocidad y el diámetro orbital son fundamentales para realizar el ensayo de manera correcta.**
3. Tubo o frasco pequeño de cristal para hervir una muestra de caldo selenito F (necesario si la muestra es positiva para el antígeno Vi).
4. Baño termostático hirviente.
5. Solución salina esterilizada que contiene 0,5 ml de formaldehído al 35% por 100 ml (necesario si se detecta el antígeno Vi en una suspensión de colonias).
6. Tubos de suspensión desechables (no se suministran con el ZC52/R30858302). Con este kit se pueden identificar colonias si se utiliza un tubo de cristal o de plástico (poliestireno) inerte adecuado. No son necesarios otros materiales o instrumentos.

**Preparación del caldo enriquecido**

1. Asegúrese de que los caldos de selenito F alcancen la temperatura ambiente (entre 18° y 30°C) antes de la inoculación.
2. Inocule una muestra de heces del tamaño de un guisante o 0,5 ml de heces líquidas en 3 ml de solución salina esterilizada o en caldo selenito F en un recipiente con tapón de rosca. Emulsione el contenido agitando bien manualmente o con un agitador de tubos tipo Vortex asegurándose de que las muestras sólidas se hayan mezclado bien antes de la emulsión.
3. Deje reposar durante unos minutos para reducir el riesgo de formación de aerosoles. Inocule el caldo en una solución de 1 volumen de emulsión y 10 volúmenes de caldo e incube entre 18 y 24 horas a una temperatura de 37°C. Asegúrese de que los tapones de los tubos y los frascos estén abiertos para dejar que el aire pueda salir.

   NOTA: Se han obtenido resultados correctos inoculando directamente los caldos de selenito F[9]. Es muy importante que la muestra sólida de heces se mezcle bien y se emulsione en el caldo antes de la incubación.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

ATENCIÓN: Se deben tomar las precauciones adecuadas cuando manipule cultivos vivos durante el procedimiento del ensayo.

**Análisis del caldo**

NOTA: NO MEZCLE LOS CALDOS SELENITO F ANTES DEL ANÁLISIS.

**ZC50/52**

**Paso 1** Resuspenda los reactivos de látex 1 y 2 agitándolos bien durante unos segundos. Manteniendo los frascos en posición vertical dispense **1 gota** (formada libremente por acción de la gravedad, sin forzar) de cada reactivo de látex en círculos diferentes en una tarjeta de reacción. Elimine las burbujas de aire con el extremo de un bastoncillo.

**Paso 2** Manteniendo un dispensador de muestras desechable en posición vertical, transfiera **1 gota** (formada libremente por acción de la gravedad, sin forzar) (40 µl) de caldo selenito F inoculado **en cada uno de los 2 círculos** asegurándose de no agitar el caldo cuando retire las tarjetas del incubador. Es importante que la muestra de caldo se recoja de la parte sobrenadante de las heces asegurándose de que no recoja heces con la muestra. Asegúrese de que no se formen burbujas de aire. Deseche el dispensador de manera adecuada.

**Paso 3** Mezcle el contenido de cada círculo con un bastoncillo y extiéndalo para cubrir todo el círculo. Se puede utilizar el mismo bastoncillo con los 2 círculos. A continuación, se debe desechar de manera adecuada.

**Paso 4** Coloque la tarjeta en un rotador plano adecuado y mézclela a una velocidad de **150 ± 5 rpm durante 2 minutos** (para más información, consulte el apartado **Precauciones de manipulación** en este prospecto). Apague el rotador y examine la aglutinación **sin sacar la tarjeta del rotador**. Examine la tarjeta desde arriba a una distancia normal de lectura (de 25 cm a 35 cm). **No utilice lupa**. El aspecto de la aglutinación debe ser fácilmente observable y reconocible bajo iluminación normal.

Si no está seguro de si se ha producido la aglutinación, repita el ensayo utilizando una gota de 40 µl de caldo negativo. No se debería producir una aglutinación visible y este resultado se puede utilizar para la comparación.

**Paso 5** Deseche las tarjetas de reacción usadas de manera adecuada. Vuelva a almacenar los reactivos en el refrigerador (entre 2° y 8°C).

**Identificación de colonias**

**ZC50/52**

**Paso 1** Dispense aproximadamente 200 µl de solución salina en un tubo de suspensión. Se puede utilizar el dispensador de muestras desechable que está graduado para aproximadamente 200 µl.

**Paso 2** Después de incubar el cultivo durante una noche, recoja con la parte plana del bastoncillo 1 ó 2 colonias sospechosas de Salmonella de tamaño medio (entre 1 mm y 2 mm), de la placa de cultivo y emulsione con cuidado las bacterias en la solución salina. Si las colonias son pequeñas, es necesario recoger una cantidad mayor cubriendo el extremo del bastoncillo. Deseche el bastoncillo de manera adecuada.

**Paso 3** Resuspenda los reactivos de látex 1 y 2 agitándolos bien durante unos segundos. Manteniendo el frasco cuentagotas en posición vertical dispense 1 gota de cada reactivo de látex en círculos diferentes en una tarjeta de reacción plana. Elimine las burbujas de aire con el extremo de un bastoncillo.

**Paso 4** Manteniendo un dispensador de muestras desechable en posición vertical, transfiera **1 gota** (40 µl) de suspensión bacteriana **en cada uno de los 2 círculos**. Asegúrese de que no se formen burbujas de aire. Deseche el dispensador de manera adecuada.

**Paso 5** Mezcle el contenido de cada círculo con un bastoncillo y extiéndalo para cubrir todo el círculo. Se puede utilizar el mismo bastoncillo con los 2 círculos. A continuación, se debe desechar de manera adecuada.

**Paso 6** Coloque la tarjeta en un rotador plano adecuado y mézclela a una velocidad de **150 ± 5 rpm durante 2 minutos** (para más información, consulte el apartado **Precauciones de manipulación** en este prospecto). Apague el rotador y examine la aglutinación **sin sacar la tarjeta del rotador**. Examine la tarjeta desde arriba a una distancia normal de lectura (de 25 cm a 35 cm). **No utilice lupa**. El aspecto de la aglutinación debe ser fácilmente observable y reconocible bajo iluminación normal. Si no está seguro de si se ha producido la aglutinación, repita el ensayo utilizando una gota de 40 µl de solución salina. No se debería producir una aglutinación visible y este resultado se puede utilizar para la comparación.

**Paso 7** Deseche las tarjetas de reacción usadas de manera adecuada. Vuelva a almacenar los reactivos de látex en el refrigerador (entre 2° y 8°C).

## RESULTADOS

LECTURA DE LOS RESULTADOS

Para más información, consulte la guía de resultados Wellcolex* Colour Salmonella.

**Resultados negativos**

Ninguno de los reactivos de látex se aglutina y apenas cambia el color gris/marrón homogéneo durante el ensayo (consulte la ilustración 1). Sin embargo, debe tener en cuenta que dependiendo de la capacidad visual del usuario, se puede observar una granulosidad débil en las muestras negativas.

**Resultados positivos**

Se produce un cambio de color en la reacción debido a la aglutinación de una de las suspensiones de látex con color de la mezcla junto con el cambio de color del fondo (consulte las ilustraciones 3 a 5). Habitualmente sólo se aglutina un color en un reactivo de látex, pero, en los cultivos mixtos de Salmonella, se pueden aglutinar 2 colores en un reactivo de látex (consulte las ilustraciones 6 a 8) o un sólo color en ambos reactivos. Ambas reacciones se pueden distinguir fácilmente. Si el tipo de reacción es diferente a las que se muestran en las ilustraciones 3 a 8, se debe comprobar el funcionamiento y la velocidad del rotador y, si es necesario, ajustarlos.

**Resultados inespecíficos**

Todas las partículas se aglutinan dando lugar a aglutinaciones de color gris/marrón con un fondo claro (consulte la ilustración 9). Es posible que aparezcan algunas aglutinaciones de color gris/marrón en presencia de reacciones positivas. Si se produce un cambio claro de color en el ensayo, no tenga en cuenta las aglutinaciones de color gris/marrón.

**Heces**

En algunas ocasiones, especialmente cuando se analizan caldos de cultivos, se pueden observar aglutinaciones en la mezcla de reacción (consulte la ilustración 2). Éstas se diferencian de las reacciones positivas o negativas y están causadas habitualmente por la presencia de heces en la muestra de caldo. Si no está seguro del resultado, vuelva a analizar la muestra después de dejar que las heces se sedimenten.

NOTA: Los caldos de selenito F que den resultados positivos sospechosos o no interpretables se deben confirmar o volver a analizar con procedimientos convencionales[2,3,4].

CONTROL DE CALIDAD

**Examen visual**

Se debe comprobar siempre que los reactivos de látex no se hayan agregado cuando los dispense en la tarjeta de reacción. Si se observa aglutinación antes de dispensar la muestra de caldo o suspensión bacteriana, estos no se deben utilizar.

**Procedimientos de control**

Se deben realizar análisis de control de calidad con cada envío y con cada nuevo kit que se reciba. Los laboratorios deben seguir las normativas locales y nacionales.

**Procedimientos del control positivo**

Compruebe el funcionamiento de los reactivos de látex con los controles positivos suministrados.

| | |
|---|---|
| **Paso 1** | Dispense 3 gotas de reactivo de látex 1 y 3 gotas de reactivo de látex 2 en 6 círculos en una tarjeta de reacción (1 gota en cada círculo). |
| **Paso 2** | Añada 1 gota de **cada** control positivo en 2 círculos de la tarjeta (un círculo contiene el reactivo de látex 1 y el otro contiene el reactivo de látex 2). |
| **Paso 3** | Mezcle los reactivos utilizando un bastoncillo para mezclar desechable para cada control positivo. |
| **Paso 4** | Agite la tarjeta en un rotador automático a una velocidad de **150 ± 5 rpm durante 2 minutos**. Después de los 2 minutos, debe ser visible la aglutinación final en los 6 círculos. |
| **Paso 5** | Deseche las tarjetas de reacción usadas de manera adecuada. |

El color del látex aglutinado del reactivo 1 y del reactivo 2 debe corresponder al color de los controles positivos (azul, rojo o verde).

Se pueden utilizar cultivos de serogrupos de Salmonella conocidos en lugar de los controles positivos.

**Procedimientos del control negativo**

Repita el procedimiento de ensayo con solución salina o con caldo enriquecido en lugar de la muestra. No se debería producir una aglutinación significativa.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados positivos (aglutinación coloreada) indican la presencia e identifican, al mismo tiempo, los serogrupos de Salmonella (o los antígenos Vi) presentes en las muestras de la manera siguiente:

| REACCIÓN | FONDO | REACTIVO 1 SEROGRUPO IDENTIFICADO | REACTIVO 2 SEROGRUPO IDENTIFICADO | COMENTARIO PARA EL ANÁLISIS CON SELENITO |
|---|---|---|---|---|
| Aglutinación verde o color oliva en un reactivo. | Violeta/rosa | D | A | Los colores pueden variar según el color del caldo selenito. La reacción positiva puede quedar encubierta por aglutinaciones de color rojo/marrón. |
| Aglutinación azul en un reactivo | Naranja/rosa | C | E o G | |
| Aglutinación roja en un reactivo | Azul/turquesa | B | Vi | |
| Manchas irregulares de color rojo/marrón oscuro en los reactivos 1 y 2 | Gris/marrón (suave) | Negativo | | Debido a la presencia de heces (si un reactivo presenta más aglutinación que los demás, compruebe cuidadosamente las muestras positivas; – véase más abajo). |
| Sin aglutinación | Gris/marrón (suave) | Negativo | | |
| Aglutinación fina, granulosa o de color rojo/marrón oscuro que se suele presentar en ambos reactivos. | Gris/marrón suave o muy claro | Inespecífico | | Si la reacción es más intensa en un reactivo, puede indicar una reacción positiva. Examine bien el color. Hierva una muestra de 0,5 ml de la manera que se describe a continuación. |
| Aglutinación turquesa en un reactivo | Rosa | C y D | A y E o G | Compruebe que haya color. |
| Aglutinación naranja en un reactivo | Azul | B y D | A y Vi | |
| Aglutinación violeta en un reactivo | Verde | B y C | E o G y Vi | |

NOTA: Cuando utilice caldo selenito F, el color del fondo descrito en la tabla anterior puede quedar encubierto y ser de color rosa o rojo/marrón. En este caso, la identificación se realiza utilizando sólo el color de las partículas de látex aglutinadas.

Si se detecta el antígeno Vi (aglutinación roja en el reactivo de látex 2), recoja una nueva muestra de caldo selenito F o prepare una suspensión del cultivo en solución salina con formalina al 0,5% en un tubo o en un frasco adecuado para matar las bacterias. Introduzca el tubo o el frasco en un baño termostático de agua hirviendo durante 5 minutos, deje enfriar y vuelva a analizar la muestra con el reactivo de látex 1. También puede preparar una nueva suspensión de al menos 400 µl del cultivo en solución salina o agua destilada. Introduzca el tubo o el frasco en un baño termostático de agua hirviendo durante 30 minutos, deje enfriar y vuelva a analizar la muestra con el reactivo de látex 1. La aglutinación permite la identificación del serogrupo de Salmonella; si no se produce la aglutinación con el reactivo de látex 1, el cultivo no contiene Salmonella. Tenga en cuenta que el antígeno Vi después de hervirlo todavía reacciona con el reactivo de látex 2.

Un resultado negativo indica que la muestra no contiene antígenos pertenecientes a los serogrupos de Salmonella que se pueden detectar con este kit. En los cultivos de heces se encuentran presentes, a menudo, crecimientos mixtos de organismos que no fermentan la lactosa y puede ser necesario repetir el ensayo con otras colonias si se obtienen resultados negativos antes de desechar el cultivo como negativo.

Si se obtiene una reacción inespecífica, el resultado se considera como no interpretable y se deben utilizar los procedimientos convencionales para la identificación[2,3,4].

En los caldos enriquecidos, las reacciones inespecíficas pueden estar causadas por muestras con exceso de heces mucoides. Transfiera al menos 0,5 ml de caldo a un tubo o frasco de cristal adecuado, quite el tapón e introdúzcalo en un baño termostático de agua hirviendo durante 5 minutos. Deje que las muestras alcancen la temperatura ambiente (entre 18° y 30°C) y repita el ensayo. Las muestras de caldo enriquecido se deben analizar de la misma manera que el control negativo.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El ensayo Wellcolex* Colour Salmonella ha sido diseñado para el cribado de Salmonella con caldos de selenito F y con medios de cultivo sólidos como ensayo de identificación de cultivos. Este ensayo identifica los aislados de los serogrupos de Salmonella, lo que es útil para la mayoría de los fines, siempre que un laboratorio de referencia realice la identificación definitiva[4]. Para la identificación definitiva se necesitan ensayos bioquímicos y serológicos convencionales[2,3,4]. Los resultados del ensayo Wellcolex* Colour Salmonella pueden servir de guía para elegir los antisueros adecuados.

Se pueden producir en algunas ocasiones reacciones positivas falsas debidas a la presencia de antígenos comunes a especies o géneros heterólogos como los Citrobacter, que se pueden diferenciar mediante ensayos bioquímicos convencionales. También se puede encontrar el antígeno Vi en bacterias diferentes a Salmonella[2]; estas bacterias se pueden identificar volviendo a analizar una muestra de caldo o una suspensión de colonias después de hervirlas para eliminar el antígeno Vi. Si sólo se produce la aglutinación con el látex rojo del reactivo de látex 2, el organismo no es Salmonella. Se debe tener mucho cuidado si uno de estos organismos está presente en el caldo enriquecido junto con Salmonella. En este caso, se recomienda confirmar el resultado con un subcultivo del caldo antes de comunicar los resultados.

Un resultado negativo no excluye la presencia de Salmonella. Por ejemplo, este ensayo no detecta todos los serogrupos de Salmonella, pero detecta el serogrupo presente en más del 99% de las cepas presentes en muestras humanas procedentes del Reino Unido[6] y más del 98% de las muestras de EE.UU[7]. Además, las concentraciones de Salmonella en algunos cultivos de caldo pueden ser demasiado bajas para dar resultados positivos. Esto puede ocurrir, por ejemplo, con los cultivos que no se hayan incubado entre 18 y 24 horas.

Algunas preparaciones de caldos selenito F de poca calidad contienen un precipitado de color rojo ladrillo y se deben interpretar con precaución los resultados de las muestras cultivadas en este medio.

## RESULTADOS PREVISTOS

Las cepas pertenecientes a los serogrupos A, B, C, D, E o G o que tengan el antígeno Vi producirán una aglutinación roja, azul o verde con el componente del reactivo de látex 1 ó 2 correspondiente.

## CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL FUNCIONAMIENTO

### Evaluación externa

Se realizaron 2 estudios para evaluar el ensayo Wellcolex* Colour Salmonella:

(a) Un estudio realizado en diferentes laboratorios (5 laboratorios de hospitales públicos británicos y 3 laboratorios de hospitales en EE.UU.) con cultivos habituales para Salmonella.

Cada laboratorio realizó los análisis en 1 o en más de los tipos de muestras siguientes de heces:

1) Caldos enriquecidos de selenito (selenito F).
2) Colonias negativas para lactosa de subcultivos con caldos enriquecidos en placas de agar selectivo-diferencial.
3) Colonias negativas para lactosa de cultivos primarios en placas de agar selectivo-diferencial (MacConkey, XLD, DCA, SS y Hektoen).
4) Subcultivos puros de colonias negativas para lactosa en agar nutriente.

Se ha utilizado un rotador durante todo el ensayo.

En las tablas 1 y 2 se muestran los resultados obtenidos.

Se determinó el funcionamiento del ensayo Wellcolex* Colour Salmonella comparando los resultados de muestras analizadas con ensayos bacteriológicos tradicionales.

En este estudio la sensibilidad y la especificidad del ensayo Wellcolex* Colour Salmonella fueron (consulte las tablas 1 y 2):

| | Sensibilidad | Especificidad |
|---|---|---|
| Cultivos de placas primarios | 100% (65/65) | 99,2% (127/128) |
| Subcultivos de caldo enriquecido | 100% (176/176) | 100% (147/147) |
| Cultivos puros | 99,5% (191/192) | 98,0% (100/102) |
| Caldos selenito | 94,2% (114/121) | 99,7% (305/306) |

En 9 cultivos sin Salmonella se encontraron antígenos Vi; ninguna muestra reaccionó con los componentes específicos para los grupos de este ensayo.

El valor predictivo de los resultados positivos fue del 99,3% (432/435) con los cultivos de placas y del 99,1% (114/115) con caldo selenito. El valor predictivo de los resultados negativos fue del 99,7% (374/375) y del 97,8% (305/312), respectivamente.

La prevalencia de Salmonella en las muestras analizadas fue del 44,8% (554/1237).

La frecuencia de reacciones no interpretables con el ensayo Wellcolex* Colour Salmonella fue del 4,5% (9/202) con cultivos de placas primarios, del 6,1% (21/344) con subcultivos de caldo enriquecido, del 3,6% (11/305) con cultivos puros y del 2,1% (9/436) con caldo selenito. Estas muestras se han excluido de las tablas 1 y 2.

(b) Un estudio independiente realizado con aislados y con cultivos de referencia.

En este estudio[8], el ensayo Wellcolex* Colour Salmonella identificó correctamente 267 de 268 aislados y cultivos de referencia de Salmonellae, en los que se incluyeron 10 aislados de cada uno de los 10 serotipos de Salmonella más comunes *(S. typhimurium, S. enteritidis, S. virchow, S. stanley, S. hadar, S. agona, S. heidelberg, S. infantis, S. newport* y *S. braenderup)*, 10 cepas de *S. typhi* Vi+ y 10 cepas de Vi-, 10 fagotipos diferentes de *S. paratyphi* A y *S. paratyphi* B y 75 cepas de los grupos C, D, E y G. No se produjeron reacciones cruzadas con los grupos F y H. Entre los otros grupos analizados (hasta el O-67 inclusive), se observó una reacción débil con el látex del grupo D en el reactivo 1 en un cultivo de O-52 *(S. utrecht)*; esta reacción no se observó en otro cultivo de O-52 *(S. flottbek)*. *S. uccle* (O-3,54) reaccionó de la manera esperada con el reactivo del grupo E.

NOTA: Se pueden obtener más detalles sobre los procedimientos de las pruebas serológicas y bioquímicas para la identificación de Salmonella en las publicaciones de W.H. EWING (1986)[2].

**Tabla 1**

**Identificación de Salmonella en placas de cultivos**

| | Resultados del ensayo Wellcolex* Colour Salmonella | Resultados habituales POSITIVOS[a] | NEGATIVOS | TOTAL |
|---|---|---|---|---|
| CULTIVOS PRIMARIOS | POSITIVOS | 65 | 1 [b] | 66 |
| | NEGATIVOS | 0 | 127 | 127 |
| SUBCULTIVOS DE CALDO | POSITIVOS | 176 | 0 | 176 |
| | NEGATIVOS | 0 | 147 | 147 |
| SUBCULTIVOS PUROS | POSITIVOS | 191 | 2 [b,c] | 193 |
| | NEGATIVOS | 1[d] | 100 [e] | 101 |
| | TOTAL | 433 | 377 | 810 |

[a] 199 muestras del grupo B, 116 muestras del grupo C, 91 muestras del grupo D, 23 muestras del grupo E, 2 muestras del grupo G y 2 muestras del grupo D / Vi.

[b] Bacteria no fermentadora de lactosa no identificada (reacción para los grupos E / G).

[c] *Citrobacter freundii* (reacción para los grupos E / G).

[d] El ensayo Wellcolex* Colour Salmonella había identificado correctamente el grupo D del subcultivo de caldo.

[e] Se incluyeron muestras de *Escherichia coli, Proteus mirabilis, Campylobacter jejuni, Citrobacter freundii, Enterobacter* spp., *Klebsiella aerogenes* y bacterias coliformes no especificadas.

**Tabla 2**

**Identificación de Salmonella en caldo selenito**
**Métodos de cultivo habituales**

| | | POSITIVO | NEGATIVO | TOTAL |
|---|---|---|---|---|
| Resultados del ensayo Wellcolex* Colour Salmonella | POSITIVO | 114 [a] | 1 [c] | 115 |
| | NEGATIVO | 7 [b] | 305 [d] | 312 |
| | TOTAL | 121 | 306 | 427 |

[a] 57 muestras del grupo B, 27 muestras del grupo C, 19 muestras del grupo D, 8 muestras del grupo E, 1 muestra del grupo G, 1 muestra del grupo D/Vi y 1 muestra de los grupos C/E en la que se aislaron ambos grupos.

[b] 1 muestra del grupo B, 2 muestras del grupo C y 4 muestras del grupo D identificadas con el ensayo Wellcolex* Colour Salmonella según subcultivos posteriores.

[c] *Citrobacter freundii* (reacción para los grupos E/G); la misma reacción que en cultivo de placa.

[d] Se incluyeron muestras de *Proteus spp., Citrobacter freundii, Escherichia coli, Klebsiella aerogenes, Enterobacter* spp., *Shigella sonnei* y bacterias coliformes no especificadas.

## BIBLIOGRAFÍA


1. **Advisory Committee on Dangerous Pathogens.** (1984). Categorisation of Pathogens According to Hazard and Categories of Containment, *H.M.S.O.,* London.
2. **Ewing, W.H.** (1986). Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae, 4th Ed., Elsevier Science Publishing Co., Inc. New York.
3. **Miller, J.M. and Holmes, H.T.** (1995). Specimen Collection, Transport and Storage. *Manual of Clinical Microbiology,* 6th Ed., Edited by Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C. and Yolken, R.H. American Society of Microbiology, Washington, D.C. Pages 19-32.
4. **Farmer, J.J.** (1995). Enterobacteriaceae: Introduction and Identification. Manual of Clinical Microbiology, 6th Ed., Edited by Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C. and Yolken, R.H. American Society of Microbiology, Washington, D.C. Pages 438-449.
5. **MacFaddin, J.F.** (1985). Media for Isolation – Cultivation – Identification – Maintenance of Medical Bacteria, Volume 1, Williams and Wilkins, Baltimore and London, Pages 701-705.
6. Communicable Disease Reports, Weekly Editions 1-52, 1986, Public Health Laboratory Service, Colindale, London.
7. Salmonella Surveillance Report (1984), U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, Georgia.
8. Datos disponibles.
9. **Margull, A., Schulz, P.,** *et al* (1993). Laboratoriumsmedizin,17:295 Evaluation of a Coloured Latex Test for Rapid Diagnosis of Salmonella in Stool Specimens.

**ENVASE**

REF ZC50/R30858301.....50 ensayos
ZC52/R30858302.....200 ensayos

**Leyendas de los símbolos**

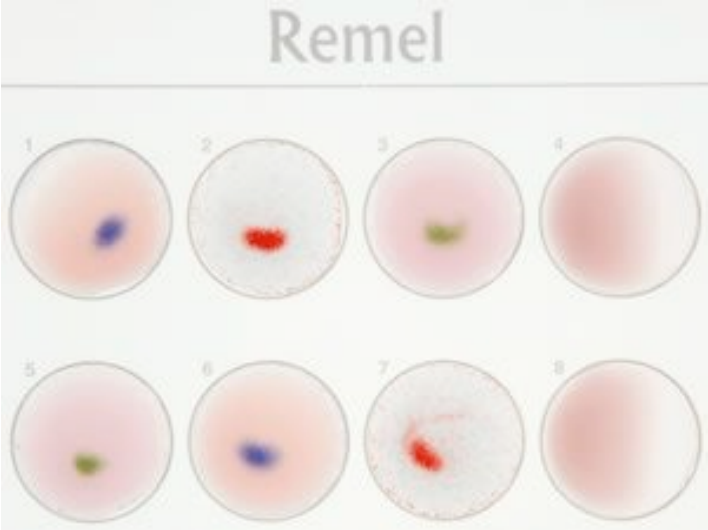
| | |
|---|---|
| REF | Nº del catálogo |
| IVD | Dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro* |
| | Consultar instrucciones de uso (IFU) |
| | Límites de temperatura (Temp. de almacenamiento) |
| LOT | Código del lote (nº del lote) |
| | Utilizar antes de (fecha de caducidad) |

CE

Bronidox® es una marca registrada de Cognis UK Ltd.
*Marca comercial.
IFU C11ZC50ES, Impreso en el Reino Unido
revisado el 17 de octubre de 2007

Fabricado por:
Remel Europe Ltd
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT
UK

Para obtener asistencia técnica póngase en contacto con su distribuidor local.




SISTEMAS AVANZADOS DE ANÁLISIS, S.L.
CIF: B-47700026
C/. Cardenal Torquemada, 24
Tel. 983 251 143 • 637 596 017
47010 VALLADOLID
www.analisisavanzados.com

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, USA
Teléfono gratuito: (800) 255-6730; Servicios técnicos: (800) 447-3641; Recepción de pedidos: (800) 447-3635
Teléfono local/internacional: (913) 888-0939 / Fax internacional: (913) 895-4128
Sitio Web: www.remel.com Correo electrónico: remel@remel.com

DT
DIAGNOSTIC TESTS

CT COLLECTION & TRANSPORT
DT DIAGNOSTIC TESTS
I INSTRUMENTATION
LS LABORATORY SUPPLIES
M MEDIA
QC QUALITY CONTROL
RS REAGENTS & STAINS

# *Salmonella*, *Shigella*, and *E. coli* O157:H7 show their true colors

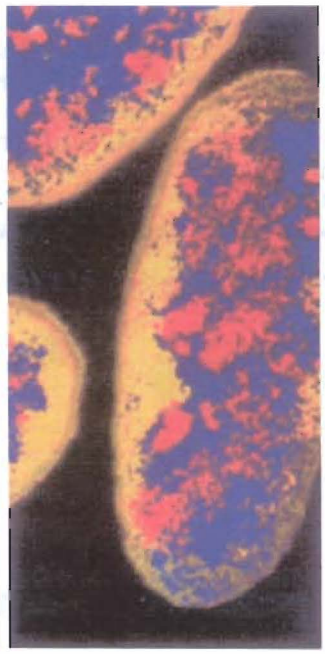
## Save up to two days with Wellcolex™ unique rapid latex agglutination test kits.

*When the problem is enteric bacterial infection, optimal patient care requires the causative organism to be identified accurately and quickly. REMEL Wellcolex™ tests can* ***save up to 2 days testing time over traditional screening procedures*** *due to the high positive and negative predictive values.*

*REMEL Wellcolex™ color latex agglutination test kits offer the accuracy and speed to meet the patients' need for rapid diagnosis, plus they offer easy-to-use and cost effective methodology to meet your laboratory's needs.*

*The Wellcolex™ kits are examples of the broad range of REMEL's diagnostic tests for use in immunology, microbiology, mycology, parasitology, serology and virology.*

Wellcolex™ Colour *Salmonella*



Wellcolex™ Colour *Shigella*

Wellcolex™ *E. coli* O157 & :H7

- **Unique color latex agglutination.** *Serogroups coated on specific colored latex.* — Enables clear, easy to read species and/or serogroup identification.
- **Positive predictive value > 98.7%.** — Highly accurate, reliable results.
- **Complete results in less than three minutes.** — Rapid diagnosis for better patient care.
- **Quickly eliminate negative samples.** — Since the overwhelming majority of samples are negative, screening from primary culture saves 1 – 2 days over traditional screening methods.

remel

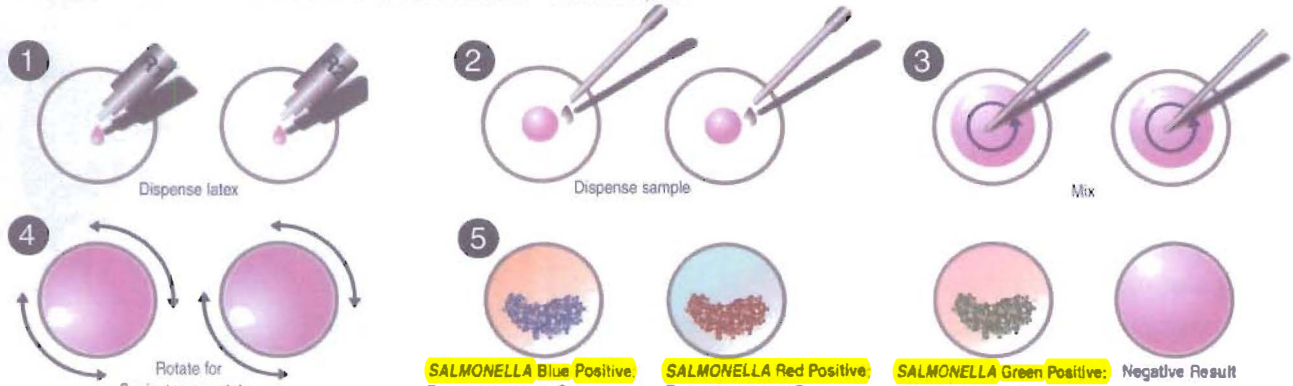
Apogent

MICROBIOLOGY PARASITOLOGY IMMUNOLOGY SEROLOGY MYCOLOGY VIROLOGY HEMATOLOGY

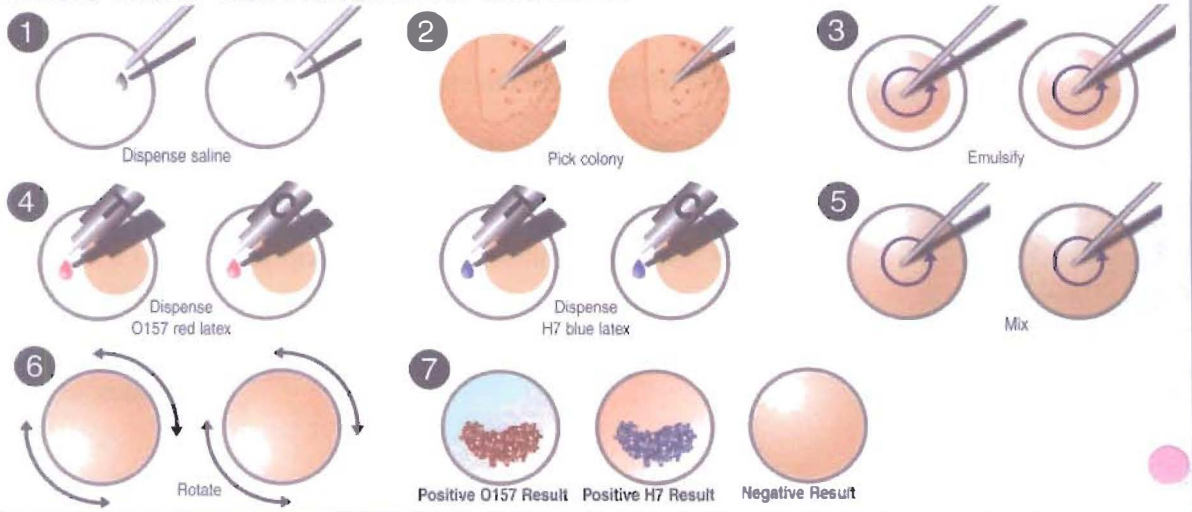
# REMEL Wellcolex™ Products

| DESCRIPTION | PKG | REF |
|---|---|---|
| **Wellcolex™ Colour Salmonella** Rapid latex agglutination slide test for screening, detection, and presumptive serogroup identification of *Salmonella* A, B, C, D, E, G, and Vi antigen from Selenite Broth or solid media. The 2 reagents incorporate mixtures of 3 colors of latex particles, each color has been sensitized with an antibody specific to a different group. Kit is complete with 2 test latex reagents, positive controls, sample dispensers, mixing sticks, suspension tubes (50 Test Kit only), and reaction cards. | 50 Tests/Kit<br>200 Tests/Kit | 30858301<br>30858302 |
| **Wellcolex™ Colour Shigella** Rapid latex agglutination slide test for detection and presumptive species identification of *Shigella* on solid media. The 2 reagents incorporate mixtures of 2 colors of latex particles, each color has been sensitized with an antibody specific to a different species. Kit is complete with 2 test latex reagents, positive controls, sample dispensers, mixing sticks, suspension tubes, and reaction cards. | 50 Tests/Kit | 30858401 |
| **Wellcolex™ E. coli O157** Rapid red latex agglutination slide test for presumptive identification of *E. coli* O157 isolates on solid media. Kit is complete with test latex reagent, positive and negative controls, mixing sticks, and reaction cards. | 50 Tests/Kit | 30959501 |
| **Wellcolex™ E. coli O157:H7** Rapid latex agglutination slide test for presumptive identification of *E. coli* O157:H7 isolates on solid media. Red latex particles specific for O157 antigen and blue latex particles specific for H7 antigen. Kit is complete with test latex reagents, positive and negative controls, mixing sticks, and reaction cards. | 50 Tests/Kit | 30959601 |
| **Wellcolex™ Rotator** Flat bed rotator for use with Wellcolex™ Colour Salmonella and Colour Shigella kits. | Each | 30368901 |

## Procedure: Wellcolex™ Colour Salmonella and Wellcolex™ Colour Shigella




## Procedure: Wellcolex™ E. coli O157 and Wellcolex™ E. coli O157:H7





800-255-6730
General Information

800-447-3635
Order Entry

800-621-8251
Order Entry Fax

800-447-3641
Technical Service

913-888-0939
International

913-895-4128
International Fax

remel@remel.com


Printed in USA 991-312 3/02 5000

remel

12076 Santa Fe Drive • Lenexa, KS 66215 • USA • www.remel.com