

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

MCC P/A
CRIOTECA®
PLAQUIS®
M-IDENT®
NEOGRAM

COSMETIKIT®
CHROMOSALM
KITPRO-PLUS
SEILAGUA®
ENVIROCOUNT

DRY PLATES®
DESINFECTEST®
CROMOKIT®
SALMOQUICK

MUGPLUS
CCCNT
MBS
AIRESANO



M-IDENT®-STAPH COAGULASA LÁTEX

Detección inmediata ISO 6888 de
Coagulasa de *Staphylococcus aureus*

Prueba rápida en látex para la confirmación de *Staphylococcus aureus* (coagulasa y/o Proteína-A positivos), sean o no Meticilin resistentes, a partir de colonias sospechosas procedentes de medios generales e incluso de Baird Parker y otros selectivos. Sin los problemas de los medios rpf.

Introducción:

Numerosas especies de *Staphylococcus* resultan inocuas como comensales en la piel y las mucosas humanas. Sin embargo, algunas de ellas son responsables de infecciones pyogénicas. *Staphylococcus aureus*, en particular, puede causar lesiones supurantes superficiales, envenenamientos alimentarios y shock tóxico. Su enterotoxina termorresistente provoca numerosas toxiinfecciones alimentarias en alimentos donde incluso el microorganismo ha muerto por procesado térmico, pero no así la actividad de la toxina que dejó previamente.

La coagulasa está envuelta en dos factores: 1- “clumping factor”, asociado a las células, que reacciona con el fibrinógeno; 2- Coagulasa libre extracelular y proteína A, también afín con las IgG.

MICROKIT-STAPH está diseñado para reaccionar con todas las cepas capaces de aglutinar el fibrinógeno y la IgG, sea mediante “clumping factor”, proteína A o ambos.

El 99% de los S. aureus aislados producen cantidades detectables de proteína A mientras las demás especies sólo raramente lo hacen, lo que convierte a esta característica en una prueba de identificación.

S. aureus produce, además, una coagulasa característica (clumping factor) cuya actividad es base de dos pruebas diagnósticas tradicionales: Los test de coagulasa en tubo y en porta. Estos tests clásicos son, a menudo, lentos, difíciles de interpretar y sufren numerosos falsos positivos a causa de factores inespecíficos presentes en el plasma. Otros tests de diagnóstico se basan en la hemaglutinación de la proteína A y en la capacidad de S. aureus coagulasa positivos para digerir DNA. Estas técnicas requieren prolongadas incubaciones de 18-24 horas. Para reducir todas estas desventajas en la identificación de S. aureus se han desarrollado los kits de aglutinación en porta que detectan la coagulasa y la proteína A, gracias al ligamiento de fibrinógeno e IgG a partículas de látex. Al mezclar la colonia de S. aureus, suspendida en salina, con el látex, se presenta una inmediata aglutinación de todas las partículas de látex, en grandes grumos, visibles sin necesidad de lupa, que aparecen sobre un fondo transparente. Si la colonia es de otra especie de Staphylococcus, no productora de coagulasa/proteína A, la aglutinación sobre fondo transparente no aparece antes de 1 minuto.

Material incluido en el kit:

- * Reactivo látex (fibrinógeno e IgG), con 0,02% de merthiolato como conservante
- * Reactivo isotónico salina, con 0,1% de azida sódica como conservante (Sirve además como Control negativo)
- * Tarjetas reactivas desechables, con 6-8 círculos cada una
- * Palillos desechables envasados individualmente, para mezclar
- * Folleto de instrucciones en español

PRESENTACIÓN: CÓDIGO: **KWD094**: Kit de 120 test (ó **KWD094-** de 40 test)

Precauciones:

Uso exclusivo en Laboratorio

Conservar a 4-8 °C. No congelar. El kit debe atemperarse a temperatura ambiente antes de su utilización.

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.

No tocar los círculos reactivos con los dedos, ya que la grasa y el polvo pueden interferir en la reacción.

Tomar las precauciones microbiológicas habituales al trabajar con microorganismos potencialmente peligrosos. No contaminar el látex o la solución salina, aunque contienen conservadores. Las tarjetas y palillos no importa, al ser de usar y tirar, y no interferir en la reacción el bajo nivel de la flora ambiental. Sin embargo, el material utilizado debe ser autoclavado o sumergido en un desinfectante antes de desecharse.

No utilizar el kit una vez rebasada la fecha de caducidad indicada en su caja.

La solución salina (control negativo) contiene azida sódica, que además de irritante para la piel y las mucosas, puede resultar explosiva en combinación con Cobre o Plomo: ☐ No desechar por las cañerías!

Confirmar cualquier colonia típica de Baird Parker (negra o gris, brillante, convexa, 1-1,5 mm tras 24 h y 1,5-2,5 mm tras 48 h, rodeadas de una zona clara, con o sin anillo opalescente en contacto con la colonia) y también las atípicas (negras brillantes con o sin halo, o grises sin halo), que son cepas de *S.aureus* frecuentes, sobre todo, en productos lácteos, camarones y menudillos. Un pase previo por caldo cerebro-corazón (DMT022, TPL003) activará la expresión de la coagulasa en cepas estresadas o coagulasa + débiles.

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 para validar los procedimientos y los operarios

Modo de empleo:

1- Aislamiento de las colonias

Aislar las colonias crecidas entre 18 y 36 horas en el medio de cultivo (Agar Sangre, Baird Parker...). No mezclar colonias, para asegurar que el cultivo sea puro. Si es necesario, resembrar la colonia en una nueva placa de medio. La morfología de la colonia problema debe ser la típica de *S. aureus*, para evitar que ciertas levaduras (como *C. albicans*) y Gram negativos con actividad coagulante (como *E.coli*), den lugar a falsos positivos: confirmar, al menos, que son Gram positivas, con la prueba inmediata NEOGRAM (MICROKIT KIN001).

2- Controles

Controlar que la cepa no sufre autoaglutinación: Disolver la colonia en salina (control negativo) en un círculo de la tarjeta y esperar 1 minuto para ver si autoaglutina; en tal caso, la cepa no podría controlarse con kits de aglutinación en porta.

Controlar que los reactivos del kit no se han contaminado en anteriores manipulaciones: Mezclar una gota de látex y una gota de salina (control negativo) en un círculo de la tarjeta y esperar 1 minuto para ver si aglutina; en tal caso, debe utilizarse un nuevo kit.

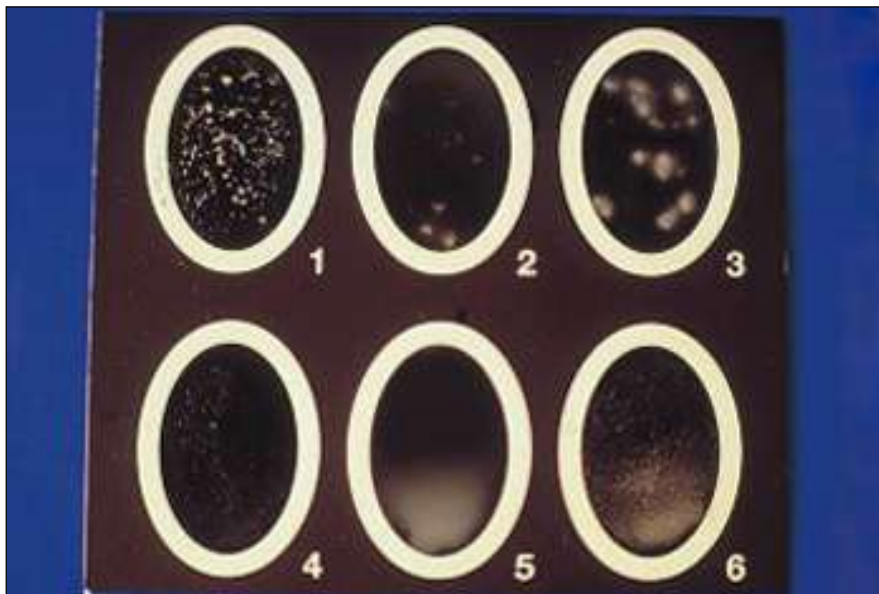
Realizar un control positivo con una cepa conocida de S. aureus (CRIOSTRAIN MICROKIT MKTA 6538P), para confirmar que todos los reactivos han llegado o se mantienen operativos. La aglutinación tras añadir una colonia, disuelta en salina, en un círculo de la tarjeta con una gota de látex, debe verse antes de 1 minuto.

Realizar un control negativo estricto con una cepa de Staphylococcus aureus coagulasa negativo (CRIOSTRAIN ATCC 25904) o de S. epidermidis (CRIOSTRAINS MICROKIT MKTA 12228), a fin de confirmar que todos los reactivos le han llegado o se le mantienen operativos. No debe aparecer aglutinación dentro del minuto siguiente a la adición de una colonia disuelta en salina, en un círculo de la tarjeta con una gota de látex.

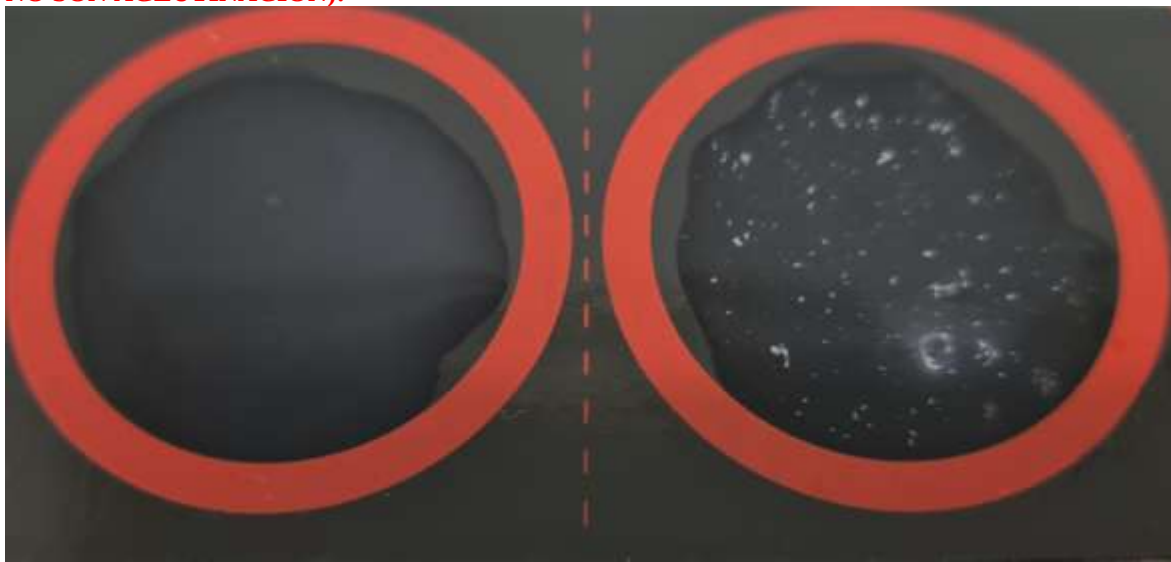
3- Procedimiento e interpretación de resultados

- * Colocar una tarjeta limpia sobre la superficie de trabajo
- * Añadir una gota de salina en uno de los extremos de un círculo
- * Añadir una gota de látex bien agitado en el otro extremo del mismo círculo
- * Tomar con un palillo la colonia y disolverla en la gota de salina. Observar la ausencia de autoaglutinación.
- * Con el mismo palillo, ir mezclando la suspensión colonial con el látex, de forma progresiva, durante 1 minuto, y agitar en vaivén toda la tarjeta.
- * Observar sin lupa si hay aglutinación sobre fondo transparente: Staphylococcus aureus. Las aglutinaciones poco evidentes, sobre fondo lechoso o las no ocurridas antes de 1 minuto, se consideran negativas, siempre que el control positivo aglutine: No S. aureus coagulasa/proteína A positivos, meticilin susceptibles o resistentes.
- * Desechar todo el material en una bolsa de autoclave o en una cubeta con desinfectante.

- 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).



¡NOTA: TODA AGLUTINACIÓN CON FONDO LECHOSO DEBE INTERPRETARSE COMO NEGATIVA (LAS COLONIAS MUCOSAS O CARTILAGINOSAS FORMAN GRUMOS PERO ESO NO SON AGLUTINACIÓN)!



Limitaciones: *Negativo* *Positivo (grumos y fondo acuoso)*

No utilizar mezclas de colonias. Colonias con más de 30 horas de vida pueden autoaglutinar. Medios hipersalinos (Mannitol Salt Agar) pueden dar lugar a resultados falsos negativos (aglutinación débil) por inhibir la proteína A, o bien a filamentos de cristalización falsamente positivos: Utilizar la cepa de control positivo y el control negativo para salir de dudas, o bien realizar un subcultivo en otro medio no hipersalino.

Los estafilococos coagulasa-positivos serán principalmente *S.aureus*, pero *S.intermedius* y algunas cepas de *S.hyicus*, saprófitos de animales, también producen coagulasa. Otras cepas, Novobiocina resistentes, pueden dar lugar a falsos positivos. Algunas cepas de estafilococos coagulasa-positivos dan reacciones de coagulasa débilmente positivas.

Referencias: En varios estudios intercolaborativos realizados en Canadá, Inglaterra, Australia y España, con un total de 627 muestras de 440 *S. aureus* (104 meticilin resistentes y 336 meticilin susceptibles) y 187 muestras de otras especies de *Staphylococcus* (*S.epidermidis*, *S.oxford*, *S.sciuri*, *S.cohnii*, *S.simulans*, *S.capitis*, *S.xylosus*, *S.hominis*, *S.saprophyticus*, *S.haemolyticus*, *S.warneri*, *S.auricularis*, *S.axium*, *S.CNS*, *SMRSAH*, *S.spp*), se ha comparado la efectividad de MICROKIT-STAPH (que había rebasado la fecha de caducidad) con respecto a la de otros kits comerciales, así como a la clásica coagulasa en tubo y en porta, a la DNA-asa y a la termonucleasa. El resultado es que el kit goza de las máximas Sensibilidad (del 98,8%) y Especificidad (del 100%). El único kit que no daba falsos positivos con *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. capitis* y *S. epidermidis* resultó ser MICROKIT-STAPH. El 100% de las 104 muestras meticilin resistentes de *S. aureus* dieron también prueba positiva. El kit funciona con toda su efectividad a partir de colonias crecidas en Baird Parker Medium en 48 horas y en Agar Sangre en 24 horas. El estudio intercomparativo español SEILA viene demostrando la superior detección de cepas coagulasa positivas de *S.aureus* con MICROKIT-STAPH que con los otros métodos (plasma de conejo ISO 6888, otros látex, Baird Parker + RPF...).

Fabricado en USA para LABORATORIOS MICROKIT, S.L. desde 1991. Actualizado en Abril, 2025