

# Validación microbiológica de los kits presencia/ausencia (P/A) Microkit frente a la filtración de membrana (MF) en los servicios intercomparativos Seilagua® mediante una novedosa hoja de cálculo

Jorge Sanchis Solera, Biólogo Director Técnico; María Morales San José, Bióloga Responsable de Control de Calidad; Sylvia Ajates Rodríguez, Química Responsable de Informática. Laboratorios Microkit, S.L.

## 1. Objetivo

Validar el método y los kits P/A de Microkit para sus microorganismos diana, con toda clase de flora interferente, basando el estudio en los resultados obtenidos en los servicios intercomparativos de análisis de aguas Seilagua®, con respecto al método MF. Se han manejado las hojas de cálculo para validaciones, según la empresa especialista GSC.

## 2. Kits P/A (y método Microkit) a validar

1. P/A *Pseudomonas aeruginosa* + *Burkholderia cepacia* (RPL302) Cromogénico.
2. P/A *Legionella pneumophila* (RPL330) turbidez/floculación y como revitalizante.
3. P/A *Staphylococcus aureus* (RPL320) Cromogénico.
4. Enterocult (Enterococos fecales) (RPL301) Cromogénico.
5. Clostricult-2 (*Cl.perfringens* y sus esporas) (RPL308) Cromogénico.
6. MCC Colicult (Coliformes y *E.coli*) (RPL303) Cromo-fluorogénico.

## 3. Datos

Proceden de los resultados del servicio intercomparativo Seilagua®, cuyos datos son públicos aunque los participantes

son confidenciales. Se comparan los resultados de los participantes que indican utilizar los Kits de P/A de Microkit frente a los que indican el uso de filtración de membrana.

El presente estudio se basa en los siguientes servicios intercomparativos Seilagua:

- Enero de 2003 (39 laboratorios participantes)
- Abril de 2003 (44 laboratorios participantes)
- Julio de 2003 (20 laboratorios participantes)
- Octubre de 2003 (46 laboratorios participantes)
- Enero de 2004 (28 laboratorios participantes)
- Abril de 2004 (31 laboratorios participantes)
- Julio de 2004 (23 laboratorios participantes)
- Octubre de 2004 (25 laboratorios participantes)
- Enero de 2005 (20 laboratorios participantes)
- Abril de 2005 (18 laboratorios participantes)
- Julio de 2005 (17 laboratorios participantes)

Total: 311 datos (47 de ellos son de P/A, los restantes 264 de MF)

## 4. Criterios de validación

El método P/A es muy útil para screening negativo de muestras en aguas, por lo que ahorra muchísimo trabajo de filtración de membrana, pero al igual que en ésta, por no existir medios de

## análisis de aguas

cultivo específicos, sino selectivos/diferenciales, todo presunto positivo debe confirmarse. Partiendo de esta premisa, se establecen 3 criterios de validación:

- Eficiencia, sensibilidad y especificidad del 90% o superior (criterio ENAC): producto válido e inmejorable.
- Eficiencia del 90% o superior (criterio Microkit: sensibilidad

o especificidad se compensan sin llegar una de ellas al 90%): Producto válido de alto nivel de calidad.

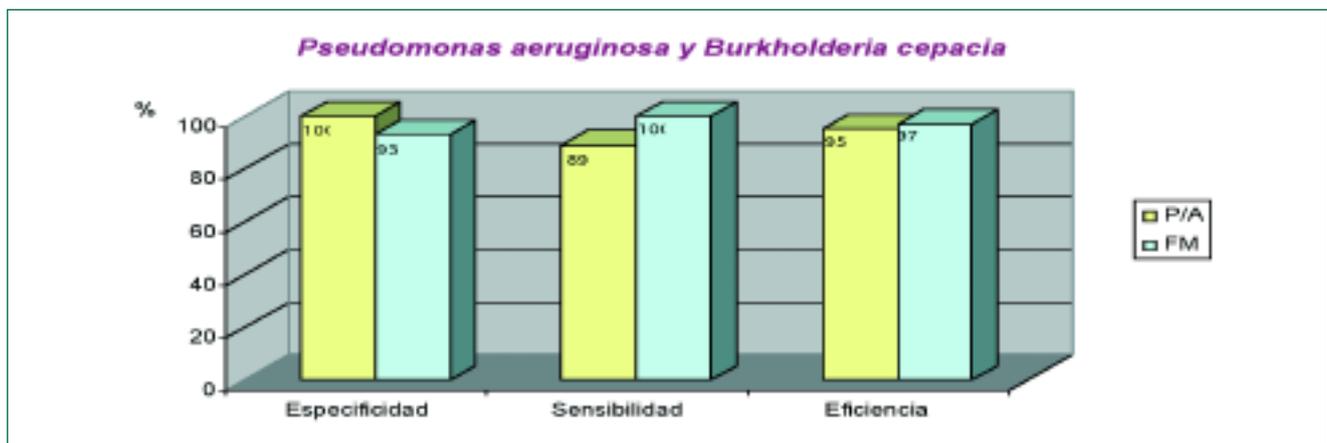
- Eficiencia del 70% o superior (criterio Pharmacopea) con sensibilidad del 90% o superior: producto válido de nivel de calidad normal, sigue sirviendo para screening negativo aunque habrá que confirmar más veces (muchos falsos positivos, por la escasa especificidad)

## 5. Conclusiones de los resultados obtenidos en los tres primeros años de intercomparación (2003, 2004, 2005)

### 5.1. *Pseudomonas aeruginosa* y *Burkholderia cepacia*

**P/A:** La especificidad es del 100%. La sensibilidad es del 89%. La eficiencia es de un 95%. Límite de detección = desde 3 ufc/100 ml, que es el mínimo valor que se ha inoculado. Validado con calidad inmejorable.

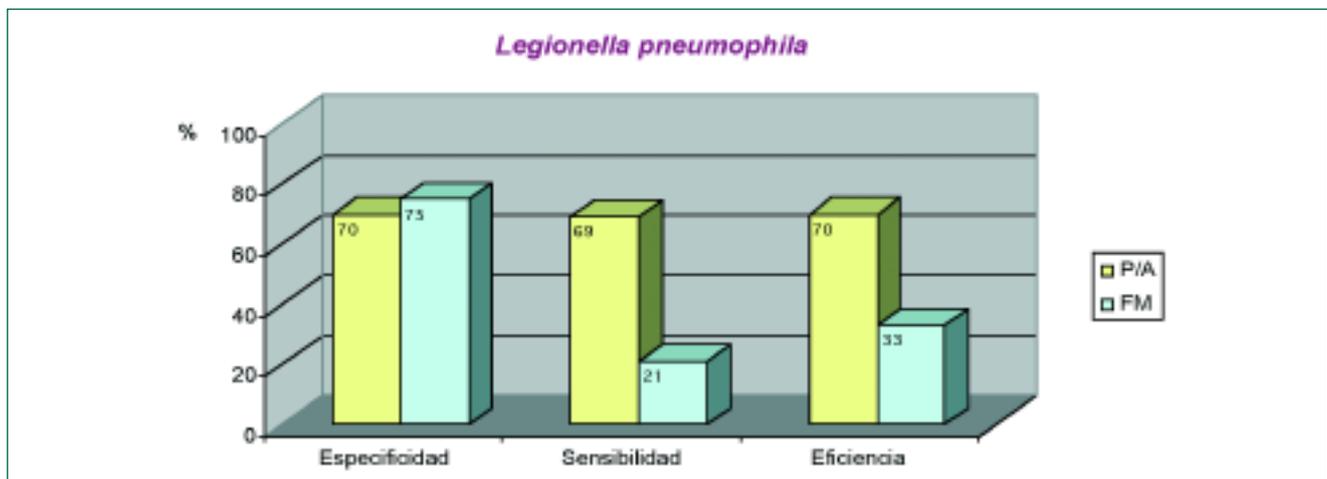
**FM:** La especificidad es del 93%. La sensibilidad es del 100%. La eficiencia es de un 97%. Límite de detección = desde 3 ufc/100 ml, que es el mínimo valor que se ha inoculado. Validado con calidad inmejorable.



### 5.2. P/A *Legionella pneumophila*

**P/A:** Sensibilidad del 69%, especificidad del 70% y eficiencia del 70%. Validado con calidad normal. Límite de detección = desde 30 ufc/1.000 ml, que es el mínimo valor que se ha inoculado.

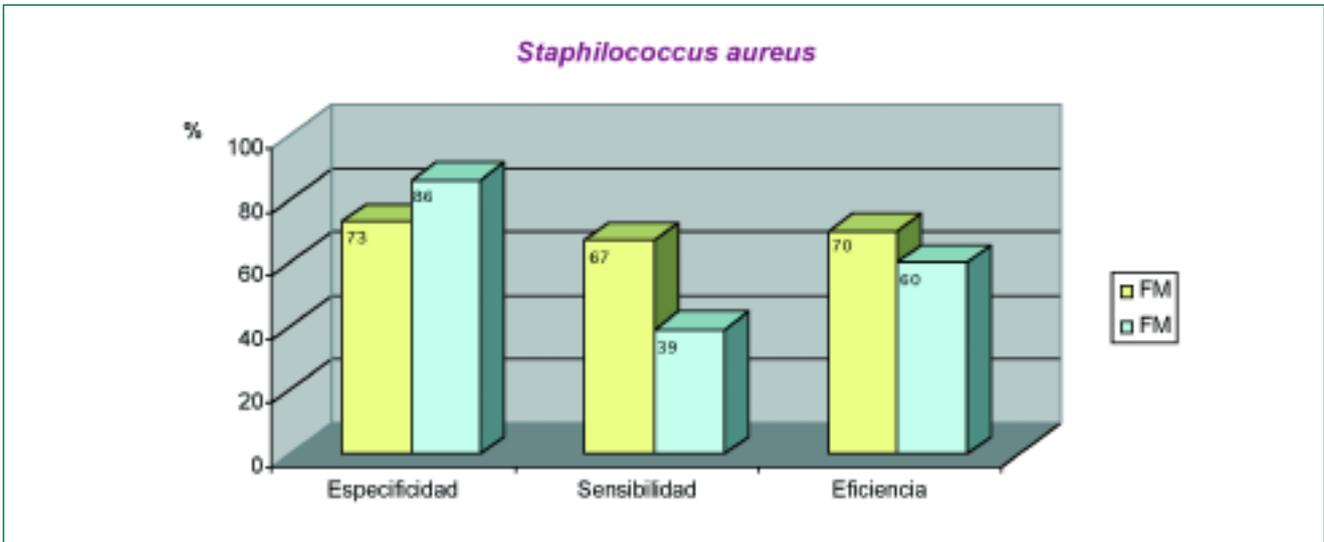
**FM (ISO11731:2002):** Sensibilidad del 21%, especificidad del 75% y eficiencia del 33%. Invalidado.



5.3. P/A *Staphylococcus aureus*

P/A: Sensibilidad del 67%. Especificidad del 73%, eficiencia del 70%. Validado con calidad normal. Límite de detección = desde 20 ufc/100 ml, que es el mínimo valor que se ha inoculado

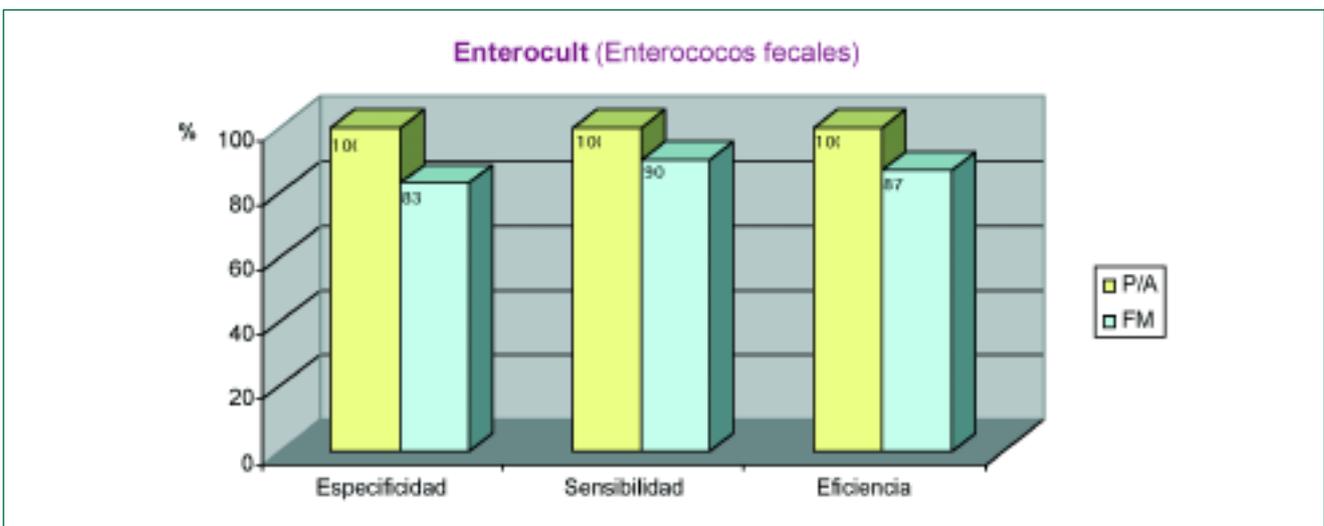
FM: Sensibilidad del 39%, especificidad del 86% y eficiencia del 60%. Invalidado.



5.4. P/A Enterocult (Enterococos fecales)

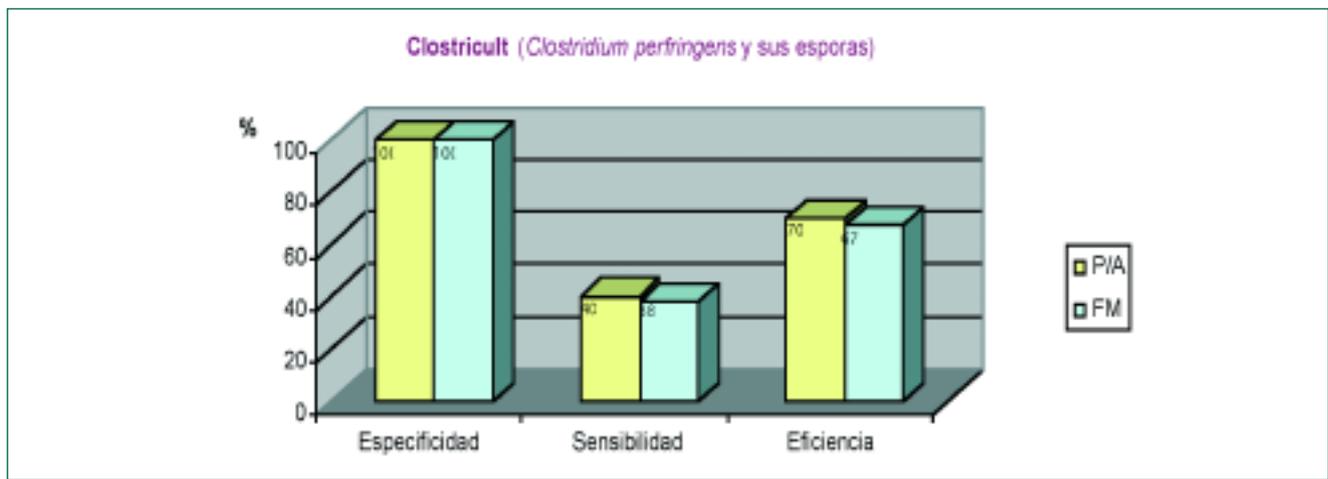
P/A: Sensibilidad, especificidad y eficiencia del 100%. Validado con calidad inmejorable. Límite de detección = desde 12 ufc/100 ml, que es el mínimo valor que se ha inoculado

FM: Sensibilidad del 90%, especificidad del 83% y eficiencia del 87%. Validado con calidad alta.



5.5. P/A Clostricult (*Clostridium perfringens* y sus esporas)

P/A: Especificidad del 100%, sensibilidad del 40% y eficiencia del 70%. Validado con calidad normal. Límite de detección = desde 20 ufc/100 ml, que es el mínimo valor que se ha inoculado. Ahora sabemos que la sensibilidad mejora muchísimo si en vez de 24 horas se incuba de 48 a 72 horas.



FM: Especificidad del 100%, sensibilidad del 38% y eficiencia del 67%. Invalidado (aproximadamente la mitad de laboratorios usan m-CP y la otra mitad, TSC).

### 5.6. P/A MCC Colicult (Coliformes y *E. coli*)

**P/A Coliformes:** Límite de detección = desde 3 ufc/100 ml, que es el mínimo valor que se ha inoculado.

**FM Coliformes:** Límite de detección= desde 3 ufc/100 ml, que es el mínimo valor que se ha inoculado.

**P/A *E. coli*:** Límite de detección = desde 3 ufc/100 ml, que es el mínimo valor que se ha inoculado.

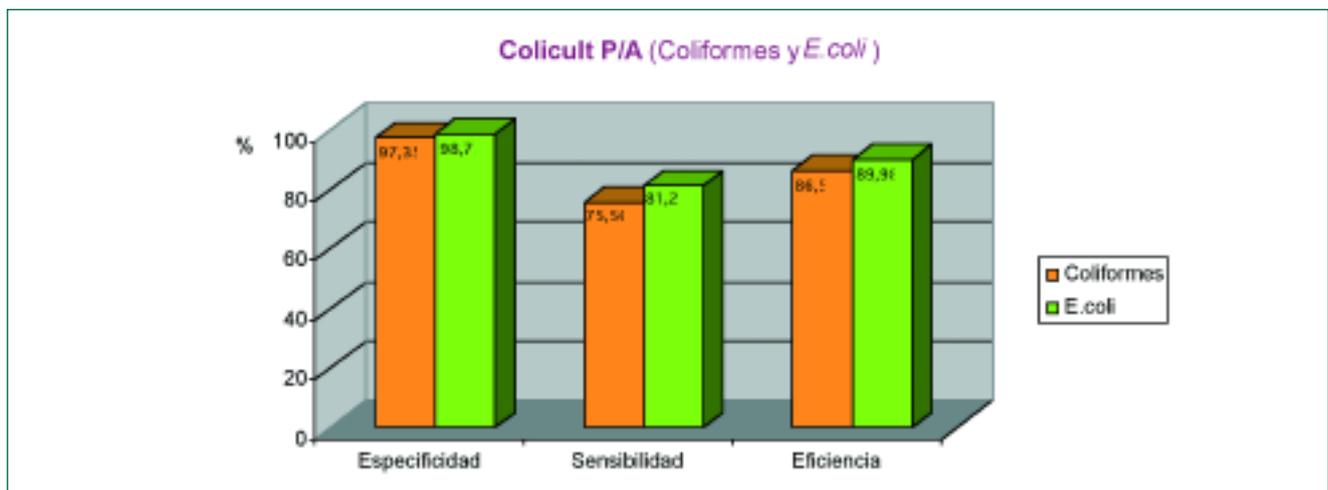
**FM *E. coli*:** Límite de detección = desde 3 ufc/100 ml, que es el mínimo valor que se ha inoculado.

Al no haber servicios sin inocular (ni sin coliformes, ni sin *E. coli*), no se puede establecer la especificidad con los datos intercomparativos, ni por tanto la eficiencia. Invalidable con estos datos.

Sin embargo, este kit **P/A ya estaba validado** con calidad normal (Coliformes) y alta (*E. coli*) mediante estudio intercolaborativo publicado (288 muestras duplicadas comparativas en 12 laboratorios independientes) y validación interna con 100 muestras positivas (aprox. 1 ufc/100 ml) y 100 muestras negativas (0 ufc/100 ml):

**P/AColiformes:** Sensibilidad 75,56%, especificidad 97,35%, eficiencia 86,5%, límite de detección 1 ufc/100 ml (10 ufc/litro) en el 86% de las muestras. Validado con calidad normal.

**P/A *E. coli*:** Sensibilidad 81,25%, especificidad 98,71%, eficiencia 89,98% (= 90%), límite de detección 1 ufc/100 ml (10 ufc/litro) en el 87% de las muestras. Validado con calidad alta.



## 6. Recomendación de Microkit

En consecuencia, animamos a todos los laboratorios de aguas (incluidos los de aguas destinadas a uso alimentario, farmacéutico, cosmético, baño, refrigeración...) para que utilicen el método más cómodo, sencillo y fiable de análisis microbiológico del agua, mediante nuestros kits validados P/A, para ahorrar así los ingentes trabajos de filtración de todas las muestras a los que estaban sometidos hasta ahora. Sólo habrán de confirmar los presuntos positivos, mediante resembrado en los medios Cetrimida Agar o CN Agar, King B Agar y

Caldo Acetamida (*Pseudomonas aeruginosa*), BPT Agar (*Burkholderia cepacia*), GVPC Agar (*Legionella pneumophila*), Mannitol Salt Agar o Baird Parker Agar (*Staphylococcus aureus*), Slanetz-Bartley Agar y Bilis Esculina Azida Agar (Enterococos fecales), TSC Agar o m-CP Agar y Lactosa-Gelatina-Nitratos-Movilidad (*Cl. perfringens* y sus esporas) y MUGPLUS Cfs. o Tergitol TTC con Triptófano-Indol (Coliformes y *E. coli*), todos ellos disponibles en Microkit en muy diversos formatos deshidratados y preparados.

(Véase anuncio en la sección **Guía del Comprador.**)