

# Estudio sobre la capacidad confirmativa de Microkit-Staph en medios selectivos\*

Laboratorios Microkit, S.L.

## 1. Antecedentes

Los tests tradicionales para identificar *Staphylococcus aureus* son la prueba de la coagulasa en tubo, la DNA-asa, la termonucleasa (DNA-asa termo-resistente), la fosfatasa, la proteína A... Todos ellos llevan tiempo y manipulación, por lo que han aparecido diversos kits comerciales que engloban la coagulasa en hematies, la coagulasa en látex o la coagulasa y la proteína A en látex, resultando de ellos una gran comodidad (escasa manipulación) y rapidez (resultados inmediatos) en la identificación de *S. aureus*. Una clásica comparación entre ellos se observa en *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, Vol. 8 (2), 154-156, Feb. 89 y otros:

Marca del fabricante	Sensibilidad	Especificidad
Rapid Staph Roche	71,7 %	83,9 %
Staphyslide Biomerieux	75,2 %	81,6 %
Staphylase Oxoid	77,9 %	78,2 %
Serostat II Staph Scott	90,3 %	96,5 %
Staph Latex Difco	97,3 %	94,3 %
Pastorex Staph Pasteur	97,5 %	92,5 %
Staphaurex Murex	100 %	98,9 %

Comparando Microkit-Staph con Staphaurex, Staphyslide y Staph-Latex, los resultados muestran una dramática diferencia a favor de nuestro kit. En un estudio interno con 480 muestras frescas, los resultados son:

	Sensibilidad	Especificidad
Microkit-Staph	98,5 %	100 %

lo que coloca a nuestro kit en la actualidad como cumbre tanto de sensibilidad como de especificidad. Siguiendo correctamente nuestro protocolo, no hay falsos positivos, a diferencia de las demás marcas.

Es importante señalar que todos estos estudios se han realizado a partir de muestras clínicas, en colonias Gram positivas crecidas en 24 horas en placas de Agar-Sangre, en hospitales del Reino Unido.

## 2. Objetivos

Ahora se trata de comprobar la sensibilidad y la especificidad de nuestro kit en caldo de enriquecimiento selectivo Giolitti

\*Basado en el estudio intercomparativo llevado a cabo entre septiembre de 1997 y mayo de 1998 con la colaboración desinteresada de:

- Anónimo (Laboratorio Oficial de Sanidad que no desea publicar su nombre).
- Asesoría Alimentaria, S.A. Yolanda G. Pantoja (Directora Técnica). Miguel Ángel Gete Sabater (Técnico en Microbiología). Carmen Humbrias de la Fuente (Directora de Calidad).
- Delegación Territorial de Sanidad de Ávila (Junta de Castilla-León). Laboratorio. Nieves Villaizán (Jefe de Sección Laboratorio). Begoña Sahagún (Microbióloga).
- Delegación Provincial de Sanidad de Cuenca (Junta de Castilla-La Mancha). Laboratorio. Rosa M<sup>a</sup> Redondo López (Titulado Superior en Salud Pública. Analista Microbióloga). Amparo Iniesta (Técnico). Carmen Cañas Alcocer (Titulado Superior en Salud Pública. Jefe de Laboratorio).
- Hospital Ciudad de Coria. Laboratorio de Microbiología. Dra. Purificación Hernández.
- Hospital del Insalud de Soria. Laboratorio de Microbiología. Dra. Teresa Nebreda Mayoral.

Cantoni (o en caldo Baird Parker) y en Agar selectivo y diferencial de Baird Parker, al ser los medios universalmente utilizados en industria.

La baja frecuencia de aislamiento de estafilococos en muestras no clínicas dificultará sin duda la obtención de resultados, de ahí la inclusión de los resultados de dos hospitales que amablemente colaboraron en este estudio. Es esperable que la especificidad a partir de caldos de enriquecimiento sea muy baja, al haber muchos microorganismos que, sin ser estafilococos, son coagulasa positivos (y que en placa no se intentan identificar, al no formar colonias típicas de estafilococo, pero en caldo sí al ser indistinguibles).

La comparación se realizará con látex de otras marcas y la confirmación con la prueba de la coagulasa en tubo y con las pruebas bioquímicas de identificación de estafilococos habitualmente utilizadas por los laboratorios participantes de este estudio.

### 3. Material y métodos

#### 3.1. Pre-prueba en caldo

3.1.1. Tomar 1 ml de la solución madre de la muestra y añadirlo al tubo de caldo de enriquecimiento que se suele utilizar (Giolitti Cantoni o Baird Parker Broth). Incubar en las condiciones habituales.

3.1.2. Tomar 1 gota y mezclarla con una gota del látex Microkit-Staph. Observar si aparece o no aglutinación en menos de 30 s.

3.1.3. Sembrar 0,1 ml del caldo enriquecido en la superficie de una placa de Baird Parker Agar (o de Vogel Johnson, nunca de Mannitol Chapman al interferir los medios hipersalinos en las aglutinaciones). Incubar en las condiciones habituales.

3.1.4. Para evitar realizar el duplicado de látex en colonias que sean de igual aspecto pero de diferente cepa, repique cada tipo de colonia sospechosa (negra, con fino reborde blanco y con medio transparente alrededor) a otra placa de Baird Parker Agar o de PCA e incúbela para obtener gran cantidad de inóculo puro de cada cepa.

#### 3.2. Prueba habitual en colonias aisladas

3.2.1. Confirmar que se trata de un Gram positivo con la prueba inmediata Neogram: No debe aparecer filamento.

3.2.2. Disolver suficiente inóculo en una gota de solución salina del kit Microkit-Staph, en un círculo de las tarjetas, esperar unos segundos para ver que no autoaglutine, y añadir una gota del látex junto a la solución colonial, cuidando de no contaminar aquél con ésta. Mezclar ambas gotas con un palillo y agitar durante 30 s. Anotar si aparece o no aglutinación en menos de esos 30 s.

3.2.3. Repetir la operación con el látex de la otra marca, con suficiente inóculo de la misma placa con cepa pura y registrar los resultados. Si difieren de los obtenidos con Microkit-Staph, identifíquela con pruebas bioquímicas y confirme con la prueba de coagulasa en tubo.

## 4. Resultados

### 4.1. Pre-prueba en caldo

Sólo un laboratorio realizó esta parte del estudio, pero de sus resultados se concluye lo que ya sospechábamos: la sensibilidad (referida a falsos negativos debidos a la falta de densidad de estafilococos coagulasa positivos en el caldo) y la especificidad (referida a falsos positivos debidos a la interferencia de numerosos microorganismos no estafilococos pero sí coagulasa positivos, que en caldo no se distinguen de los auténticos estafilococos) de los látex para screening en caldo de enriquecimiento son tan bajas que no vale la pena realizar más comentarios.

### 4.2. Prueba habitual en colonias aisladas en Agar

Se ofrece la tabla de resultados obtenidos entre todos los laboratorios participantes (dos de ellos no dan más datos que el hecho de no haber encontrado con Microkit-Staph ni un solo falso positivo, ni un solo falso negativo, en un total de 40 muestras). El número total de muestras ha sido de 627:

Test/Látex	Aglutina y es <i>S. aureus</i> coagulasa+	Aglutinación dudosa	No aglutina y no es <i>S. aureus</i> coagulasa+
Microkit-Staph	100 %	0 %	98,8 %
Latex-1	97,7 %	7,1 %	99,1 %
Latex-2	80,59 %	25 %	75,2 %
Latex-3	97,5 %	0 %	96,2 %
Latex-4	78,1 %	12,5 %	77,4 %
Latex-5	92,3 %	0 %	97,8 %

Por cuestiones éticas, al participar en este estudio empresas y entidades ajenas a Microkit, no especificamos las marcas, pero son las más usadas por los laboratorios españoles implicados en este estudio.

"Aglutina y es *S. aureus* coagulasa+" significa que se ha confirmado que se trata de un *S. aureus* coagulasa+, mediante las pruebas de Gram, Neogram, Catalasa, Coagulasa en tubo, DNA-asa y Fosfatasa, cada laboratorio con una o varias de estas pruebas.

Lógicamente, "Aglutina y no es *S. aureus* coagulasa+" se obtiene restando del 100 % el porcentaje anterior (en Microkit-

Staph, por ejemplo,  $100 - 100 = 0\%$ , no se han detectado falsos positivos).

"No aglutina y no es *S. aureus* coagulasa+" significa que se ha confirmado que no se trata de un *S. aureus* coagulasa+, mediante las pruebas de Gram, Neogram, Catalasa, Coagulasa en tubo, DNA-asa y Fosfatasa, cada laboratorio con una o varias de estas pruebas.

Lógicamente, "No aglutina y es *S. aureus* coagulasa+" se obtiene restando del 100 % el porcentaje anterior (en Microkit-Staph, por ejemplo,  $100 - 98,8 = 1,2\%$  de falsos negativos).

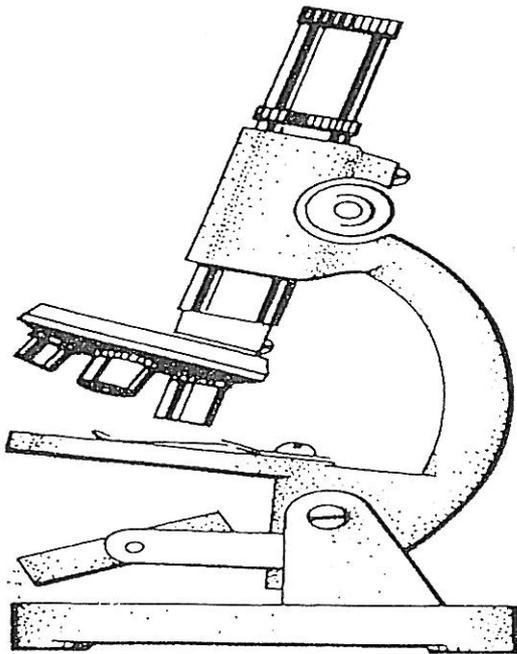
## 5. Conclusiones

No pueden utilizarse látex para estafilococos en caldos de enriquecimiento selectivos.

Los resultados del látex Microkit-Staph para muestras no clínicas, en colonias crecidas en Baird Parker son aún mejores que

en colonias crecidas en Agar sangre y procedentes de muestras clínicas. En concreto, mientras en las muestras clínicas obtiene una sensibilidad del 98,5 % y una especificidad del 100 %, obtiene, para colonias crecidas en Agar de Baird Parker, un valor predictivo negativo del 98,8 % y un valor predictivo positivo del 100 %. No podemos decir lo mismo de los látex de otras marcas. Además, los resultados dudosos con Microkit-Staph no existen. El látex que conjuga las mejores sensibilidad, especificidad y ausencia de resultados dudosos resulta Microkit-Staph. Por otra parte, en los resultados confirmativos se ha observado una correlación del 100 % entre la tinción clásica de Gram y el reactivo Neogram de Microkit.

Fax: 91 897 46 41.



**Mándenos información  
sobre sus más  
recientes  
investigaciones  
y la publicaremos  
en nuestras  
páginas de  
colaboradores**

**PUBLICA**

SOCIEDAD • ANONIMA

Ecuador, 75 - 08029 BARCELONA • Telf. (93) 321 50 45 • Fax (93) 322 19 72