



P69.- VALIDACIÓN DE MICROSTICK-SALMONELLA Y MICROSTICK-LISTERIA CON CEPAS DE REFERENCIA Y ADEMÁS EN MUESTRAS NATURALES

Jorge Sanchis Solera¹

1 Lab.Microkit, P.O

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Encontrar el mejor protocolo de los sticks como despistaje de muestras negativas

MATERIAL Y METODOS

Los protocolos ISO 6579 e ISO 11290 generan falsos negativos con los sticks ¿no flagelan bien? Se realiza validación inicial con protocolo MICROKIT: Salmonella pre-enriq. APT Neutralizing MICROKIT + post-enriq. SS Broth MICROKIT y Listeria pre-enriq. LEB MICROKIT + post-enriq. Idem; uso directo del caldo post-enriquecido en el stick y lectura visual en 5' de bandas roja y verde (+) o sólo verde (-). Se añaden a las diana cuantitativas, concentraciones 100-1000 veces mayores de mezclas de 10 cepas interferentes y acompañantes. En 20 matrices alimentarias diferentes.

RESULTADOS

1-Salmonella: 2 falsos (++) de E.coli. Sensibilidad: 100%. Especificidad: 90%. Límite de detección: desde 10-16 ufc/25 g.

2- Listeria: 1 falso (--) de L.ivanovi (aunque no es el microorganismo diana, que es L.monocytogenes) y 1 falso (++) de mezcla de cepas. Sensibilidad 95-100%. Especificidad: 95%. Límite de detección: desde 6-10 ufc/25 g. Tras enriq. en LEB de 8 ufc con 102-103 ufc de flora acompañante/interferente, la siembra directa en Agar Cromocytogenes no produce un solo falso (--): validamos así además un protocolo de detección en solo 36h con 18 h LEB + 18 h Cromocytogenes.

Se añade a esta validación inicial del fabricante, una post-validación en muestras con flora natural, con los resultados aportados por laboratorios usuarios del método.

1-En Salmonella encuentran 1 falso (++) de E.coli. La especificidad general del stick en un total de 290 muestras naturales de todo tipo de alimentos analizados de 12/2011 a 3/2013 (1 falso+/290), es del 99,65 %. No nos informan de falsos (--), concordando con el 100% de sensibilidad encontrada en la validación inicial.

2-En Listeria encuentran 1 falso (++) de Enterococcus faecium y otro de E. avium (2 ocasiones de 10 en productos hipernutritivos con proteína láctea). La especificidad del stick en este tipo de muestras se reduce al 80%, aunque pueden descartarse de inmediato al microscopio (son cocos). La especificidad general del stick en un total de 540 muestras naturales de todo tipo de alimentos, analizadas de 12/2011 a 3/2013 (2 falsos positivos/540), es del 99,63%. No nos informan de falsos (--), concordando con el 100% de sensibilidad encontrada en la validación inicial.

CONCLUSIONES

Demostramos incluso en muestras de campo que MICROSTICK-Salmonella y MICROSTICK-Listeria, usando estrictamente el protocolo MICROKIT, son excelentes métodos de screening negativo de muestras, sin necesidad de aparataje; con sensibilidad (ausencia de falsos negativos) del 100% (ni una sola muestra con L. monocytogenes o Salmonella spp. fué mal detectada por el respectivo stick); y especificidad (escasez de falsos positivos) tan elevada que ahorra posteriores confirmaciones y trabajo extra en el 99,6% de las muestras donde el stick no da resultado positivo. Los escasos 4 de 1000 sticks positivos en muestras naturales hay que confirmar no se traten de falsos positivos, en agares adecuados (Cromosalm y XLD en Salmonella y Cromocytogenes en Listeria) estriando el mismo caldo donde acabamos de realizar el análisis del stick, e identificando las colonias sospechosas. El ahorro de trabajo y tiempo de análisis es de 2-5 días para la mayoría de muestras que, de entrada, resultan negativas con los sticks.

Tipo Comunicación: POSTER