

# EVALUACION DE DOS PRUEBAS COMERCIALES DE AGLUTINACION EN LATEX PARA LA IDENTIFICACION DE STAFILOCOCCUS AUREUS AISLADOS DE BOVINOS PRODUCTORES DE LECHE

FIDEL INFANTE<sup>1</sup>

DONALD E. JASPER<sup>2</sup>

JON DELLINGER<sup>3</sup>

Essers y Radebold en 1980 sugirieron el uso de la prueba de aglutinación en látex en portaobjeto para la detección de los estafilococos coagulasa positivos, incluyendo *S. aureus*, *S. Intermedius* y *S. hylcus*. Esta prueba dio "factor aglutinante" (unión en coagulasa) y se encontró un alto grado de correlación con la prueba de coagulasa en tubo.

Doern en 1982 encontró que la prueba de aglutinación en látex es rápida, fácil de realizar y muy útil para identificar *S. aureus* de muestras clínicas procedentes de casos humanos y concluyó que es tan efectiva como la prueba de coagulasa en tubo.

Poutrel y Ducelliez en 1979 recomendaron el uso de cultivos que fueran identificados como *S. aureus* si presentaban hemolisinas, "factor aglutinante" o Proteína A.

La prueba de aglutinación en látex se usa en medicina humana pero desconocemos su efectividad con cepas de estafilococos provenientes de vacas en lactación y por esto el

objetivo de este estudio fue evaluar dos pruebas comerciales de aglutinación en látex con muestras de estafilococos aisladas de la glándula mamaria de bovinos productores de leche.

Se aislaron 641 muestras de estafilococos de diferentes establos las cuales fueron colectadas y sembradas en agar sangre como está descrito en el manual de procedimientos microbiológicos para el diagnóstico de mastitis bovina (Brown 1973).

Las muestras fueron compuestas y de cuartos con mastitis clínica. Las colonias con características de estafilococos y catalasa positivas fueron transferidas a una segunda caja de petri con agar sangre para obtener colonias aisladas. Después de esta selección preliminar, los cultivos fueron sembrados en agar de tripticososa soya en tubo e incubadas a 37 C durante 24 hrs y posteriormente almacenadas a 4 C hasta su utilización. La revitalización de los organismos almacenados fue asegurada con dos pases sucesivos en agar sangre. La identificación general fue realizada con la prueba de catalasa y la tinción de Gram por métodos estándar (Brown et al., 1973). Se efectuó la prueba de coagulasa en tubo (Jang et al., 1982) usando plasma conejo v leida a las 24 hrs. Las pruebas de "sero-stat staph3" y " la prueba de laboratorio látex 4" \*

1 Departamento de Epizootiología, Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SARH, Km. 15.5 Carretera México-Toluca, Palo Alto, D. F. Apartado Postal 41-642, México, D. F.

2 Departamento de Patología clínica de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de California en Davis, Cal. 95616, U.S.A.

3 Scott Laboratories, Inc., Fiskeville, R.I. 02883 U.S.A.

4 DIFCO Laboratories, Detroit, M. 48232, U.S.A.  
Téc. Pec. Méx. 48 (1985)

fueron ejecutadas siguiendo las instrucciones de los fabricantes.

También fueron usadas pruebas colaterales descritas por varios autores (Bootby *et al.*, 1979; Devriese 1979; Jasper 1973; Jang *et al.*, 1982; Lachica *et al.*, 1971; Schleifer y Kloos 1975), que permitieran establecer la identificación de los aislamientos obtenidos, las cuales son mostradas en los cuadros 1 y 2.

El análisis estadístico utilizado en este estudio fue el Chi cuadrada.

Las tres pruebas fueron comparadas con 119 muestras, incluyendo 62 cepas de *S. aureus*, presentándose los resultados en el cuadro 3. Con el método de "la prueba de laboratorio de látex" fueron 41.2% de falsos negativos y 4.2% de falsos positivos, con el método del "sero-Staph Test", 46.2% de falsos negativos y .8% de

falsos positivos. Debido a los pobres resultados obtenidos y al alto costo de los reactivos de la prueba de "sero-Stat Staph Test" se decidió no continuar evaluándola. El método de "la prueba de laboratorio de Látex" fue continuado con las 522 muestras restantes y los resultados finales obtenidos fueron 3.1% de falsos positivos y 18.4% falsos negativos (cuadro 4). En ambas pruebas se detectaron diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ) en comparación con el método estándar de la prueba de coagulasa en tubo.

Los resultados obtenidos muestran que ninguna de las pruebas fue satisfactoria para identificar los estafilococos coagulasa positivos de origen bovino en este estudio. También se puede mencionar que las pruebas bioquímicas usadas que pueden dar

CUADRO 1  
Pruebas bioquímicas realizadas en todas las muestras para confirmar identidad

IDENTIDAD	Hemolisina	Novomicina	Coagulasa	Termonucleasa	Acetolína	Maltosa	LISOSTAFINA
<i>S. aureus</i>	+	S	+	+	+	+	-
<i>S. intermedius</i>	-	S	+	+	-	-	-
<i>S. hyicus</i>							
<i>ssp hyicus</i>	-	S	-, ±	+, ±	-	-	-
<i>ssp chromagenes</i>	-	S	-, ±	-, +	-	-, ±	-
<i>S. epidermidis</i>	-, D	S	-	-	+	+	-
<i>S. xylosum</i>	-, D	R	-	-	-	+	-
<i>S. simulans</i>	-, D	S	-	-	-	-	-
<i>S. haemolyticus</i>	-, D	S	-	-	-	+	=
<i>S. warneri</i>	-, D	S	-	-	-	+	-
<i>S. hominis</i>	-, D	S	-	-	-	+	-
<i>S. cohnii</i>	-, D	R	-	-	-	+	-
<i>S. saprophyticus</i>	-, D	R	-	-	+	+	-
<i>S. sciuri</i>	-, D	R	-	-	-	V.	-
<i>S. capitis</i>	-, D	S	-	-	-	-	-

Hemolisina + = Alfa, beta o alfa beta; - = Negativo D = Débil, 0.1 mm. S = Sensibles; R = Resistentes.

CUADRO 2

Pruebas bioquímicas adicionales para confirmar identidad												
IDENTIDAD	Arabi nosa	Celo biosa	Fruc tosa	Galac tosa	Lac tosa	Manitol	Manosa	Ribosa	Sucrosa	Trehalosa	Xilosa	Pigmento
<i>S. aureus</i>												BCAN
<i>S. intermedius</i>	-, +				-	+						B
<i>S. hyicus</i>	-	+		+	+	-	+	-	+	+	-	B
<i>ssp hyicus</i>												
<i>ssp chromogense</i>					+	+		-		+	-	A
<i>S. epidermidis</i>										-		BC
<i>S. xylosus</i>	+										+	BCAN
<i>S. simulans</i>												C
<i>S. haemolyticus</i>	-	= /, -	++	V	- / -, +		-	/(-)	+	+	-	BCAN
<i>S. warneri</i>	-	V	/ +	V	- / (-)		V	+ , - / + , -	+			CAN
<i>S. hominis</i>	-	-	/ +	V	+ / V		-					CAN
<i>S. cohnii</i>									-	+		BC
<i>S. saprophyticus</i>					+	+		-		+	-	BCAN
<i>S. sciuri</i>					+							
<i>S. capitis</i>	-	+		-	-		+	-	-	-	-	W

B = Blanco; A = Amarillo; N = Naranja; C = Crema.

buenos resultados con cepas de esta-filococos coagulasa positivos de origen humano, pueden no tener la misma efectividad con cepas de esta-filococos coagulasa positivos de origen animal.

Se compararon dos pruebas comer-

ciales de aglutinación en látex vs. la prueba estándar de coagulasa en tubo para la detección de estafilococos coagulasa positivos procedentes de la glándula mamaria bovina. Se aislaron 641 muestras de estafilococos de origen lácteo, siendo las

CUADRO 3

Comparación de las pruebas de coagulasa en tubo, Sero-Stat Staph, y la prueba de laboratorio de aglutinación en látex en la identificación de diferentes especies de estafilococos

Identificación	Coagulasa		Sero-STAT Staph				PRUEBA DE AGLUTINACIÓN DE LATEX			
	Pos	Neg.	No. Pos	Falsos Pos %	No. Neg	Falsos Neg %	No. Pos	Falsos Pos%	No. Neg	Falsos Neg %
<i>S. aureus</i>	62	0	8	0	54	87.1	14	0	48	77.4
<i>S. epidermidis</i>	1	47	1	21	47	2.08	4	8.3	44	2.1
<i>S. saprophyticus</i>	0	8	0	0	8	0	0	0	8	0
Totales	63	56	9	0.8	110	46.2	19	4.2	100	41.2

CUADRO 4

Comparación de los resultados obtenidos con la prueba coagulasa  
y la prueba de laboratorio de aglutinación en látex.

ESPECIES IDENTIFICADAS	NUMERO PROBADO	COAGULASA EN TUBO		AGLUTINACION LATEX		No. Falsos Pos.	% falsos Pos.	No. Falsos Neg.	% Falsos Neg.
		Neg.	Pos.	Neg.	Pos.				
<i>S. aureus</i>	231	2	228	114	116	0	0	112	48.7
<i>S. saprophyticus</i>	89	89	0	88	1	1	1.1	0	0
<i>S. epidermidis</i>	163	157	6	154	9	8	4.9	2	1.2
<i>S. sciuri</i>	1	1	0	0	1	1	100.0	0	0
<i>S. hylcus</i>	20	16	4	20	0	0	0	4	2.0
<i>S. simulans</i>	41	41	0	39	2	2	4.9	0	0
<i>S. hominis</i>	14	14	0	13	1	1	7.1	0	0
<i>S. warneri</i>	5	5	0	5	0	0	0	0	0
<i>S. haemolyticus</i>	19	19	0	16	3	3	15.8	0	0
<i>S. cohnii</i>	10	10	0	10	0	0	0	0	0
<i>S. xylois</i>	6	6	0	4	2	2	30.3	0	0
<i>S. capitis</i>	42	42	0	40	2	2	4.7	0	0
Total	641	402	228	503	137	20	3.1	118	18.4

muestras compuestas y de cuartos con mastitis clínica. Las pruebas utilizadas fueron "Sero-Stat Staph Test" y "la Prueba de laboratorio de Látex" usadas en la identificación de estafilococos de origen humano. También se utilizaron pruebas bioquímicas colaterales para corroborar los resultados o establecer la identidad de los aislamientos. Los resultados que se obtuvieron por "La Prueba de Laboratorio de Látex" fueron: 41.6% de falsos negativos, 4.2% de falsos positivos y en la prueba de The Sero-stat staph látex Test fueron 46.2% de falsos negativos y .8% de Falsos Positivos encontrándose en las dos pruebas diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ) en comparación con el método estándar de la prueba de coagulasa en tubo, por lo que ambas pruebas no fueron satisfactorias para identificar los esta-

filococos coagulasa positivos de origen bovino en este estudio.

**SUMMARY**

A total of 641 catalasa and Gram positive cocci isolates from milk, sampled from cows in connection with mastitis diagnostic work were subjected to the sero-stat staph test and laboratory latex test for identification of staphylococci coagulase positive. Conventional tests were done along the coagulase standard method to test the accuracy of the results.

The results showed for the laboratory latex test were 41.6% false negatives and 4.2% of false positives, the results for the sero-stat staph latex test were 46.2% false negatives and .8% of false positives. Results with both tests showed they were significantly different ( $P < 0.05$ ) to the coagulase standard method.

Neither the laboratory latex test nor the sero-stat staph test, used with staphylococci of human origin, were satisfactory for determining the coagulase status of these bovine isolates.

#### LITERATURA CITADA

- BOOTHBY, J., GENIGORGES, C., FANNELL, MJ., 1979. Tadem coagulase/Thermo nuclease agar method for the detection of *Staphylococcus aureus*. **Appl. and Environ. Microbiol.** 37:298-302.
- BROWN, R.W., BARNUM, D-JASPER, D. McDONALD, J. SCHULTZE, W., 1983. Microbiological Procedures for use in the diagnosis of bovine mastitis. 2 nd. ed. **National Mastitis Council Inc.** Arlington, VA, 1-144.
- DEVRISE, LA., 1967. Identification of clumping factor negative staphylococci isolated from bovine udders. **J. Gen. Microbiol.** 47:273-287.
- DOERN, G.V., 1982. Evaluation of a commercial latex agglutination test for identification of *Staphylococcus aureus*. **J. clin. microbiol.** 15:416-418.
- ESSERS, L., RADEBOLD, K., 1980. Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* by a latex agglutination test. **J. clin. microbiol.** 12:641-643.
- JAANG, S., BIBERSTEIN, E., HIRS., D. C., 1982. Diagnostic manual of veterinary clinical bacteriology and Mycology. **University of California** Davis. Ca. 95616.
- JASPER, DE., 1973. Thermostable nuclease production by staphylococci in milk samples from bovine mastitis. **Am. J. Vet. Res.** 34:445-446.
- LACHICA, GV., GENIGORGIS, C, HOCPRICH., PD., 1971. Metachromatic agar diffusion methods for detecting staphylococcal Nuclease activity. **Appl. Microbiol.** 21:585-587.
- POUTREL, B., DUCCELLIEZ, M., 1979. Evaluation of three rapid test for identification of *Staphylococcus aureus* isolated from milk. **Am. Rech. Vet.** 1:125-129.
- SCHLEIFER, KH., KOOS, WE., 1975. A simple test for the separation of *Staphylococci* from micrococci. **J. clin. microbiol.** 1:336-338.