

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/263208429>

Sensitivity of three immunocromathographic tests in faeces samples for *Campylobacter* and *Salmonella* detection in comparison to culture

Article in *Revista española de quimioterapia: publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia* · June 2014

Source: PubMed

CITATIONS

0

READS

237

4 authors, including:



María Carmen Liébana-Martos

Hospital Universitario Virgen de las Nieves

14 PUBLICATIONS 142 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



José Gutiérrez-Fernández

University of Granada

472 PUBLICATIONS 3,973 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



José María Navarro

Hospital Universitario Virgen de las Nieves

230 PUBLICATIONS 3,547 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

M^a del Carmen Liébana-Martos
José Gutierrez
Cristina Rizzo
José M^a Navarro

Sensibilidad de tres test inmunocromatográficos para detección de *Campylobacter* y *Salmonella* en heces en comparación con el cultivo

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada

RESUMEN

Introducción. *Campylobacter* sp. y *Salmonella enterica* son dos de los principales microorganismos causantes de gastroenteritis en nuestro medio. Las pruebas inmunocromatográficas de detección de antígeno realizadas directamente sobre muestras de heces por su sencillez y rapidez de obtención de resultados pueden hacer de ellas elementos de diagnóstico útiles en el contexto de la atención primaria.

Material y métodos. Durante octubre de 2012 se seleccionaron todas las heces en las que se aisló una bacteria enteropatógena de entre las recibidas en el laboratorio de Microbiología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada para coprocultivo. Dichas muestras fueron estudiadas mediante procedimientos estandarizados y en aquellas en las que se aisló un enteropatógeno se investigó simultáneamente la presencia de antígenos de *Campylobacter* (Campy Leti[®] y Ridaquick *Campylobacter*[®]) y *Salmonella* (*Salmonella* Leti[®]) para determinar su sensibilidad y especificidad.

Resultados. Se recibieron 235 muestras de las que se aislaron 8 *Salmonella enterica* (7 del serogrupo B y 1 del serogrupo D), 7 *Campylobacter jejuni*, 4 *Aeromonas hydrophila* y 1 *Yersinia enterocolitica*. La sensibilidad y especificidad de Campy Leti, Ridaquick *Campylobacterscreen* y *Salmonella* Leti fueron respectivamente: 100% y 46%; 100% y 69%; y 75% y 100%. La concordancia entre los test para detección de *Campylobacter* fue 77, 8%.

Conclusiones. En atención primaria las pruebas rápidas inmunocromatográficas pueden ser útiles para el cribado de enteropatógenos en heces.

Palabras Clave: pruebas rápidas, sensibilidad, heces, enteropatógeno, diagnóstico

Sensitivity of three immunochromatographic tests in faeces samples for *Campylobacter* and *Salmonella* detection in comparison to culture

ABSTRACT

Introduction. *Campylobacter* sp. and *Salmonella enterica* are two of the main organisms causing gastroenteritis in our environment. Immunochromatographic tests for antigen detection performed directly on stool samples for its simplicity and rapid results may make them useful diagnostic elements in the context of primary care.

Method. During October 2012 we selected all feces in which enteropathogenic bacteria are isolated from those received for stool culture in the laboratory of Microbiology of the University Hospital Virgen de las Nieves of Granada. After standard management of faeces samples and isolation of any enteropathogen, the commercial kits: Campy Leti, Ridaquick *Campylobacterscreen* and *Salmonella* Leti were tested for simultaneous research of *Campylobacter* and *Salmonella* antigens. Sensitivity and specificity were determined.

Results. Two hundred and thirty five stool samples were received in which 8 *Salmonella enterica* (7 B serogroup and 1 D serogroup), 7 *Campylobacter jejuni*, 4 *Aeromonas hydrophila* and 1 *Yersinia enterocolitica* were isolated. Campy Leti, Ridaquick *Campylobacterscreen* and *Salmonella* Leti presented a sensitivity of 100%, 100% and 75%, respectively. Specificities corresponded to 46%, 69% and 100%, respectively.

Conclusion. Immunochromatographic tests can be useful for a first screening of enteropathogen in primary care.

Keywords: rapid test, sensibility, feces, enteropathogen, diagnostic

INTRODUCCIÓN

Campylobacter sp. y *Salmonella enterica* son dos de los principales microorganismos causantes de gastroenteritis en nuestro medio¹⁻³. El método de referencia para el diagnóstico de gastroenteritis infecciosas es el cultivo, que requiere al menos 48 horas para poder ofrecer una identificación del mi-

Correspondencia:
M^a del Carmen Liébana-Martos
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Avda. Fuerzas Armadas,
nº 2. 18014. Granada.
E-mail: c.liebma@hotmail.com

croorganismo causante de la enfermedad. Por otra parte, las especiales condiciones que requiere el cultivo de *Campylobacter* sp. hacen que su aislamiento e identificación sean más complejos y que el cultivo pierda sensibilidad. La rápida identificación de los enteropatógenos permite instaurar de forma eficaz el tratamiento más adecuado. Se han ensayado distintos ensayos inmunológicos (EIA) para la detección de enteropatógenos en heces con valores de sensibilidad y especificidad muy variables⁴⁻⁶. Las pruebas inmunocromatográficas de detección de antígeno pueden realizarse directamente sobre muestras de heces con una mínima manipulación de la muestra. Su sencillez, unida a la rapidez de obtención de resultados de este tipo de pruebas pueden hacer de ellas elementos de diagnóstico útiles en el contexto de la atención primaria.

El objetivo de este estudio fue conocer la sensibilidad y especificidad de tres pruebas rápidas para la detección de enteropatógenos en heces (dos para detección de *Campylobacter* sp. y una para *Salmonella*)

MATERIAL Y MÉTODOS

Centro. El estudio se realizó en el laboratorio de microbiología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada.

Periodo de estudio. El estudio se llevó a cabo durante el mes de Octubre de 2012.

Muestras. De entre las muestras recibidas desde Atención primaria con solicitud de coprocultivo, se seleccionaron aquellas cuyo cultivo resultó positivo para algún microorganismo enteropatógeno.

Criterios de inclusión. Se aceptaron para coprocultivo aquellas muestras de heces diarreicas con solicitud de coprocultivo. Se rechazaron las heces formes, para las que no está indicado dicho estudio.

Diseño. Se realizó un estudio analítico experimental retrospectivo

Métodos. Para la identificación de enteropatógenos, las muestras se sembraron en los siguientes medios: CampyBAP 10% SB (BD®), con un disco de cefoxitina 30 µl (BDBBL®), que se incubó en atmósfera reducida (Campygen®, Oxoid) a 42°C, XLD (BD®), McConkey (BD®), CIN (BD®). Una alícuota de las heces se sembró en medio líquido Selenito (Difco), para el enriquecimiento de *Salmonella* y tras 24 horas de incubación a 37°C se realizó un subcultivo en medio sólido Hecktoen (BD®). Otra alícuota de las heces se conservó a -80°C para los test inmunocromatográficos. Los medios fueron incubados durante 24 horas a 37°C para una primera lectura, las muestras negativas fueron reincubadas hasta las 48 horas, aquellas colonias sospechosas se identificaron siguiendo el siguiente esquema: a las colonias que crecen alrededor del disco de cefoxitina se les realizó la prueba de la oxidasa y si ésta era positiva, la prueba de la hidrólisis de hipurato y una identificación mediante espectrometría de masas (MALDITOF®, Bruker Daltonics). A las colonias identificadas como *Campylobacter* se les realizó an-

tibiograma mediante la técnica disco placa en Mueller-Hinton 5% SB (BD®) con discos de eritromicina (15µg) (BDBBL®), ciprofloxacino (5µg) (BDBBL®) y tetraciclina (30µg) (BDBBL®) siguiendo las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) de 2012. Las colonias de *Salmonella*, *Yersinia* y *Aeromonas* fueron identificadas mediante espectrometría de masas (MALDITOF®) y el antibiograma se realizó por el método de microdilución en caldo mediante el sistema automatizado Microscan Walkaway® (Siemens Healthcare Diagnostics, Munich, Germany). A las colonias de *Salmonella* se les realizó una aglutinación con partículas de látex para determinación de serogrupo. Las alícuotas de heces con enteropatógenos identificados se descongelaron y se sometieron a los tres test inmunocromatográficos Campy Leti® (Laboratorios LETI S.L) y Ridaquick *Campylobacter*® (r-biopharm) y *Salmonella* Leti® (Laboratorios LETI S.L) siguiendo las recomendaciones del fabricante. Para los test Campy Leti® y *Salmonella* Leti® se tomaron unos 150 mg (o 150 µl en caso de heces líquidas) de heces y se introdujeron en el vial con diluyente para muestras, después de agitar la muestra para su homogenización se dispensaron 4 gotas (100 µl) en el pocillo de muestra y se incubó a temperatura ambiente durante 10 minutos. El test se consideró positivo cuando aparece una línea en la posición de control y una línea en la posición de test; negativo cuando sólo aparece la línea de control e inválido cuando no aparece ninguna línea. Para el test Ridaquick *Campylobacter*® se mezclaron en un tubo eppendorff 0,5 ml (12-14 gotas) del reactivo A, 0,5 ml (12-14 gotas) del reactivo B y 50 mg o 50 µl de las heces y se mezclaron mediante agitación, se incubaron a temperatura ambiente durante 5 minutos tras los que se añadieron 150 µl de la mezcla en el pocillo de muestra del test, se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente y se realizó la lectura. El test se consideró positivo cuando aparecía una línea en la posición de control y una línea en la posición de test; negativo cuando sólo aparecía la línea de control e inválido cuando no aparecía ninguna línea.

Análisis estadístico. Se realizaron cálculos de sensibilidad y especificidad para cada uno de los test así como cálculo del índice kappa (k) de concordancia entre los test Ridaquick *Campylobacter*® y Campy Leti®

RESULTADOS

Durante el periodo de estudio se recibieron 235 muestras de heces para estudio de enteropatógenos, de ellas 20 resultaron positivas (8,5%). Se aislaron un total de 8 *S. enterica* (40%) (7 del serogrupo B y 1 del serogrupo D), 7 *Campylobacter jejuni* (35%), 4 *Aeromonas hydrophila* (20%) y 1 *Yersinia enterocolitica* (5%). Los datos de sensibilidad frente a antimicrobianos se muestran en la tabla 1. Todas las heces positivas se sometieron a los tres test inmunocromatográficos. Mediante el test *Salmonella* Leti®, 6 de las 8 muestras (25% de las muestras cuyo cultivo para *Salmonella* había sido positivo) presentaron un resultado positivo y dos de ellas, correspondientes a dos *Salmonella* serogrupo B, resultaron negativas mediante el test inmunocromatográfico. Ninguna de las muestras positivas por

Tabla 1 Resultados de sensibilidad frente a antimicrobianos de los distintos enteropatógenos aislados

Microorganismo	% Resistencia					
	Ampicilina	Cefotaxima	Ciprofloxacino	TMP-SMX	Tetraciclina	Eritromicina
<i>S. enterica</i>	85,7	0	0	0	-	-
<i>Y. enterocolitica</i>	100	0	0	0	-	-
<i>A. hydrophyla</i>	100	25	0	0	-	-
<i>Campylobacter</i> sp	-	-	100	-	100	0

Tabla 2 Resultados de los distintos test inmunocromatográficos para detección de enteropatógenos en heces

TEST	FN n (%)	FP n (%)	S (%)	E (%)	k
Salmonella Leti®	2 (25)	0 (0)	75	100	NP
Campy Leti®	0	6 (46,1)	100	46	0,8
Ridaquick <i>Campylobacter</i> ®	0	4 (30,8)	100	69	0,8

FN: falsos negativos ; FP: falsos positivos; S: sensibilidad; E: especificidad; NP: no procede; k: Índice kappa de concordancia

cultivo para otro enteropatógeno fue positiva para el test de detección de *Salmonella*. La sensibilidad y especificidad *Salmonella* Leti® fueron respectivamente 75% y 100% (ver tabla 2). En la determinación de *Campylobacter* sp. el test Campy Leti® resultó positivo en todas las muestras cuyo cultivo para *Campylobacter jejuni* había sido positivo. El resultado fue positivo para 6 de las 13 muestras positivas para otros enteropatógenos (46,1 %, tabla 2, de las muestras negativas), obteniéndose una sensibilidad y especificidad del 100% y 46% respectivamente. El test Ridaquick *Campylobacter*® fue positivo en todas las muestras con cultivo positivo para *Campylobacter*, salvo una en la que el resultado fue inválido. También se obtuvo un resultado positivo en 4 de las 13 muestras positivas para otros enteropatógenos (30,8% de las muestras negativas) siendo la sensibilidad y especificidad del 100% y 69% respectivamente (ver tabla 2). La concordancia entre ambos test en la detección de *Campylobacter* sp. fue del 77,8% (k= 0.8).

DISCUSIÓN

Campylobacter sp. y *S. enterica* son dos de los microorganismos que causan gastroenteritis con mayor frecuencia en nuestro medio. Hasta ahora el cultivo se ha considerado como el "gold standard" para la detección de dichos microorganismos en heces. El tiempo y recursos que requiere el cultivo, así como las condiciones especiales de crecimiento requeridas por *Campylobacter* sp. para la optimización del crecimiento (medios selectivos temperatura de 42°C y atmósfera reducida) han planteado la necesidad de buscar nuevos métodos de diagnóstico sensibles y específicos más rápidos. Algunos estudios^{3,5} muestran una falta de sensibilidad del cultivo, especialmente

cuando éste se compara con métodos moleculares. También se han ensayado enzimoanálisis (EIA), con sensibilidades y especificidades que oscilan entre el 69%-98% y 80%-100% respectivamente^{3,4,5}. Estudios como el de Granato et al. de 2010⁴ comparan los EIA con un método inmunocromatográfico, obteniendo incluso una mayor sensibilidad con éste último, pero con la ventaja de que su sencillez y rapidez en la obtención de resultados (30 minutos como máximo, incluyendo la preparación de la muestra) incluso sobre los métodos moleculares⁷. En el presente trabajo los test inmunocromatográficos estudiados obtienen sensibilidades del 100%, aunque la especificidad es inferior a la obtenida por otros autores, si bien las condiciones en las que realizó el presente estudio, seleccionando sólo aquellas heces que resultaron positivas frente a algún enteropatógeno, pueden haber influido en los bajos porcentajes de especificidad. La desventaja que presentan los métodos rápidos sobre el cultivo es que no permiten la determinación de la sensibilidad frente a antimicrobianos de los patógenos, sin embargo en el caso de *Campylobacter* sp., las gastroenteritis causadas por este microorganismo suelen ser infecciones autolimitadas que se trata mediante la reposición de los líquidos y electrolitos, sin que se necesite un tratamiento antibiótico salvo en casos de infección grave o sintomatología prolongada. En estos casos el tratamiento de elección es la Eritromicina^{2,8}, antimicrobiano frente al que las cepas de *Campylobacter* fueron 100% sensibles en nuestro estudio. La sensibilidad de la prueba inmunocromatográfica para detección de *Salmonella* presentó un valor inferior (75%). También se han encontrado sensibilidades inferiores en la detección de *Salmonella* frente a *Campylobacter* en estudios que evaluaban EIA frente a ambos patógenos⁵, por lo que este tipo de pruebas no

sería adecuada para su utilización como ó cribado en la detección de *Salmonella*, si bien presentó una elevada especificidad (100%) en nuestro estudio.

Campylobacter sp. son causante de enfermedad entérica autolimitada principalmente, si bien en pacientes inmunodeprimidos o en edades extremas puede dar lugar a enfermedad severa o incluso manifestaciones extraintestinales⁹ por lo que un diagnóstico rápido puede aportar grandes beneficios al paciente. *Campylobacter jejuni* es un microorganismo que puede ser identificado de forma sencilla y rápida por medio de pruebas bioquímicas, sin embargo en las especies de *Campylobacter* sp. hipurato-negativas son cada vez patógenos más frecuentes en gastroenteritis humanas¹⁰. Las técnicas inmunocromatográficas aportan una doble ventaja: la rapidez de en la identificación, ya que se realizan directamente en la muestra y la posibilidad de identificar tanto especies hipurato positivas como hipurato negativas causantes de enfermedad.

Aunque actualmente existen pocos estudios realizados con estos equipos de inmunocromatografía, los resultados de este trabajo revelan que los test inmunocromatográficos pueden ser útiles para el diagnóstico rápido de gastroenteritis causadas por *Campylobacter* sp. Su sencillez y rapidez los hace especialmente útiles para su uso como test "in line" pudiendo ofrecer un resultado casi inmediato al paciente a nivel de atención primaria. Este primer resultado, complementado con los ensayos de sensibilidad frente a antimicrobianos en los casos necesarios, permite un mejor y más rápido manejo de este tipo de infecciones. Por otra parte para el estudio de *Salmonella* sería necesario desarrollar pruebas con mayor sensibilidad para poder ser útiles en este tipo de situaciones.

FINANCIACIÓN

No se ha obtenido financiación por parte de ninguna institución pública ni privada para la realización de este estudio.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe ningún tipo de conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adedayo, O, and Kirkpatrick BD. *Campylobacter jejuni* infections: update on presentation, diagnosis, and management. *Hosp Physician* 2008; 44:9-15.
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food—10 states, 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010; 59:418-2
3. Kawatsu K, Kumeda Y, Taguchi M et al. Development and Evaluation of Immunochromatographic Assay for Simple and Rapid Detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Human Stool Specimens. *Clin Microbiol* 2008; 46: 1226-31.
4. Granato PA, Chen L, Holiday I, Rawling RA et al. Comparison of premier CAMPY enzyme immunoassay (EIA), ProSpecT *Campylobacter* EIA, and ImmunoCard STAT! CAMPY tests with culture for laboratory diagnosis of *Campylobacter* enteric infections. *J Clin Microbiol* 2010; 48:4022-7.
5. Tissari P, Rautelin H. Evaluation of an enzyme immunoassay-based stool antigen test to detect *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 58:171-5.
6. Tolcin R, LaSalvia M.M, Kirkley BA et al. Evaluation of the Alexon-Trend ProSpecT *Campylobacter* Microplate Assay. *J Clin Microbiol* 2000; 38:3853-5.
7. Bessède E, Delcamp A, Sifre E et al. 2011. New methods for detection of *Campylobacter* in stool samples in comparison to culture. *J Clin Microbiol* 2011; 49:941-4.
8. Álvarez M, Buesa J, Castillo J et al. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la sociedad Española de Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. 2008.
9. González-Abad MJ y Alonso-Sanz M. Incidencia y sensibilidad de *Campylobacter jejuni* en pacientes pediátricos: implicación en bacteriemia *Rev Esp Quimioter* 2013; 26:92-6.
10. Bascuñana P, Pena I, Picazo JJ, Velasco AC. Sensibilidad antimicrobiana de cepas hipurato-negativas de *Campylobacter* spp. y de *Helicobacter pullorum* aisladas de enfermos con diarrea. *Rev Esp Quimioter* 2011; 24:213-6.