

# Phadebact® Staph Aureus Test

53-1109-04, Mar-12

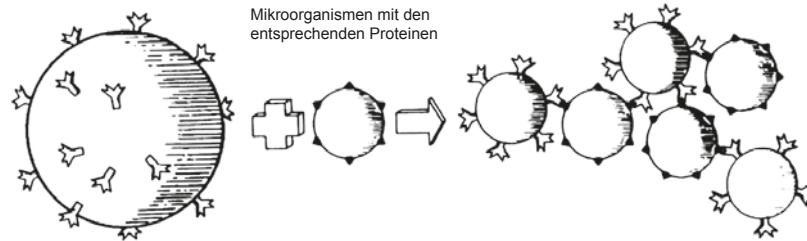
## Gebrauchsinformation

MKL Diagnostics AB  
Kung Hans Väg 3  
SE-192 68  
Sweden



Latex Partikel mit humanen und porcinen Proteinen sensibilisiert

Agglutination



### ANWENDUNGSGEBIET

Phadebact® Staph Aureus ist für den Nachweis der Koagulase (clumping factor) und/oder des Protein A, den charakteristischen Merkmalen des *Staphylococcus aureus* aus primären Kulturen, geeignet. Phadebact® Staph Aureus Reagenz reagiert entweder mit einem oder beiden charakteristischen Merkmalen. Jede Packung Phadebact® Staph Aureus Test enthält Reagenz für 100, 200 oder 400 Bestimmungen.

### EINFÜHRUNG

*Staphylococcus aureus* hat sich als pathogenes Bakterium erwiesen. Da diese Bakterien gewöhnlicherweise auf der Haut, in Nasengängen und Schleimhäuten vorkommt, bietet ihm deren Verletzung die Möglichkeit dort Infektionen hervorzurufen. *S. aureus* ist für die meisten oberflächlich eiternden Infektionen, Lebensmittelvergiftungen und nosocomialen Infektionen verantwortlich.

Die Koagulase und das Protein A des *S. aureus* erlauben das mindestens 98% dieser Spezies identifiziert werden können. Freilich verursachen auch die Koagulase-negativen Staphylokokken Infektionen. Koagulase kann entweder an die Bakterie gebunden sein (clumping factor) oder auch als freies Enzym freigelassen werden. Koagulase wandelt Fibrinogen in der Weise um, dass sich ein Blutgerinnsel bildet, sobald EDTA-Plasma der Koagulase-positiven *S. aureus* zugegeben wird. Für die Anzucht von Koagulase-positiven Staphylokokken sind unterschiedliche Medien beschrieben worden (2). Für andere individuelle Eigenschaften der pathogenen Staphylokokken sind zusätzlich verschiedene Medien beschrieben worden (3). Die meisten der obengenannten Methoden sind zeitaufwendig und benötigen viele Stunden des Testens und Auswertens, bevor die Ergebnisse verwertbar sind. Die Substanz Protein A ist von der Koagulase Aktivität unabhängig. Protein A ist ein Bestandteil der Zellwand des *S. aureus*. Es reagiert mit dem Fc-Teil der meisten IgG Immunglobuline und kann als zusätzlicher Marker angewandt werden (4). Anders als die zeitaufwendigen Kultur-Methoden, machen Schnelligkeit, Bequemlichkeit und Präzision das Phadebact® Staph Aureus System zu einem geeigneten alternativen Test. Schnelle Kärtchen Agglutination Tests haben sich, in den meisten Fällen, gleichermaßen zuverlässig wie die Koagulase Röhren erwiesen (5).

### TESTPRINZIP

Für den Phadebact® Staph Aureus Latex Reagenz sind rote Latex Partikel angewandt worden. Diese sind mit spezifischen Konzentrationen von humanen und porcinen Plasma sensibilisiert worden. Wenn Koagulase und/oder Protein A in der Kultur in genügender Konzentration vorhanden ist, werden diese mit den sensibilisierten Partikeln reagieren und dabei eine sichtbare Agglutination ergeben. Das ist dann ein positives Ergebnis.

### TESTREAGENZEN

Kits mit 100, 200 respektive 400 Bestimmungen sind vorhanden. Um die Auswertung zu erleichtern, sind die Reagenzien rot gefärbt.

#### Bestandteile des Tests

##### Phadebact® Staph Aureus 100 Test

- Phadebact® Staph Aureus Latex Reagenz: 1 Fläschchen  
Rote Latex Partikel mit humanen und porcinen Proteinen beschichtet, in einer mit Konservierungsmitteln versehenen Bufferlösung suspendiert.
- Phadebact® Staph Aureus Positiv Kontrolle: 1 Fläschchen  
Eine Formulierung mit nicht-viablem *S. aureus* (ATCC 25923) in einer mit Konservierungsmitteln versehenen Bufferlösung suspendiert.
- Phadebact® Staph Aureus Negativ Kontrolle: 1 Fläschchen  
Eine Formulierung mit nicht-viablem *S. epidermidis* (CDC 3258) in einer mit Konservierungsmitteln versehenen Bufferlösung suspendiert.

##### Phadebact® Staph Aureus 100 Test Reagent

- Phadebact® Staph Aureus Latex Reagenz: 1 Fläschchen  
Rote Latex Partikel mit humanen und porcinen Proteinen beschichtet, in einer mit Konservierungsmitteln versehenen Bufferlösung suspendiert.

##### Phadebact® Staph Aureus 200 Test

- Phadebact® Staph Aureus Latex Reagenz: 2 Fläschchen  
Rote Latex Partikel mit humanen und porcinen Proteinen beschichtet, in einer mit Konservierungsmitteln versehenen Bufferlösung suspendiert.
- Phadebact® Staph Aureus Positiv Kontrolle: 1 Fläschchen  
Eine Formulierung mit nicht-viablem *S. aureus* (ATCC 25923) in einer mit Konservierungsmitteln versehenen Bufferlösung suspendiert.
- Phadebact® Staph Aureus Negativ Kontrolle: 1 Fläschchen  
Eine Formulierung mit nicht-viablem *S. epidermidis* (CDC 3258) in einer mit Konservierungsmitteln versehenen Bufferlösung suspendiert.

#### Phadebact® Staph Aureus 400 Test

- Phadebact® Staph Aureus Latex Reagenz: 4 Fläschchen  
Rote Latex Partikel mit humanen und porcinen Proteinen beschichtet, in einer mit Konservierungsmitteln versehenen Bufferlösung suspendiert.  
GEBRAUCHSFERTIG

#### Andere Bestandteile

- Tropfer
- Testkarten
- Gebrauchsinformation

**Beachten Sie!** Phadebact® Staph Aureus 400 Test enthält ausschließlich 4 Fläschchen mit dem spezifischen Staph Aureus Reagenz.

**Phadebact® Staph Aureus 100 Test Reagent** enthält ausschließlich 1 Fläschchen mit dem spezifischen Staph Aureus Reagenz.

#### Vorsicht

Nur zur *in vitro* Diagnostik.

Beachten Sie bitte die Dekontaminations-Vorschriften, wie z.B. von CDC angegeben.

**Achtung!** Die Reagenzien enthalten Natriumazid ( $\text{NaN}_3$ ) zur Konservierung. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferleitungen reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Zur Beseitigung der Reagenzien muß mit sehr viel Wasser nachgespült werden, um die Bildung von Aziden zu vermeiden. Beachten Sie bitte die Dekontaminations-Vorschriften, wie z.B. von CDC angegeben. Die Human Sera Komponenten sind auf HIV-1, HIV-2, HCV Antikörper und HBsAg mit negativen Ergebnis getestet worden. Das aber garantiert jedoch nicht die Abwesenheit dieser Wirkstoffe. Die Kontrollen sind auf negatives Wachstum der Staphylokokken getestet worden.

REAGENZIEN SOLLTEN ALS POTENZIELL INFEKTIÖS BEHANDELT WERDEN.

#### Vorbereitung der Reagenzien

Die Reagenzien sind GEBRAUCHSFERTIG.

#### Nutzungsdauer und Lagerung

Das Verfalldatum ist auf dem äußeren Etikett sowie auf den einzelnen Fläschchen angegeben. Die Packung sollte bei 2-8°C gelagert werden. Die Reagenzien dürfen nicht eingefroren werden.

#### PROBENGEWINNUNG UND LAGERUNG

Bitte informieren Sie sich in einem mikrobiologischen Standardwerk bezüglich der Probengewinnung und des Umgangs mit bakteriologischem Material. Eine Übernacht-Kultur auf einer primären Platte ergibt eine ca. 2 mm große, frische Kolonie. Entnehmen Sie eine Probe mit Hilfe einer sterilen Öse. In den Fällen in denen eine Kontamination der Kultur zu befürchten ist, sollte eine Subkultur im Nahrungs- oder Schafs- Blut Agar angelegt werden. Ein gleicher Probegewinnungs-Prozess ist für jede Subkultur durchzuführen. Jede Kolonie sollte Gram-gefärbt werden, um die Morphologie und die Gram-positiven Merkmale feststellen zu können.

#### TESTVERFAHREN

##### Mitgeliefertes Material

Siehe unter TESTREAGENZIEN.

##### Notwendiges Zubehör

- Primärkultur
- Einweg-Impfösen oder ähnlichem
- Uhr mit leicht ablesbarem Sekundenzeiger

##### Testbedingungen

Reaktionstemperatur	Raumtemperatur
Staph Aureus-Reagenzvolumen	1 Tropfen
Volumen der Kontroll	1 Tropfen
Total Reaktionszeit	60 Sekunden (10 Sekunden mischen und 50 Sekunden Hin- und Her-Wiegen) oder kürzer wenn die Agglutination früher stattfindet.

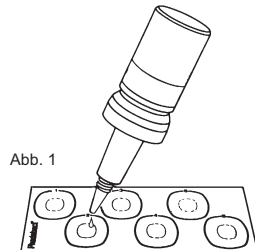
##### Vorbereitung der Proben

Anlegen der Primärkulturen: siehe mikrobiologische Standardwerke.

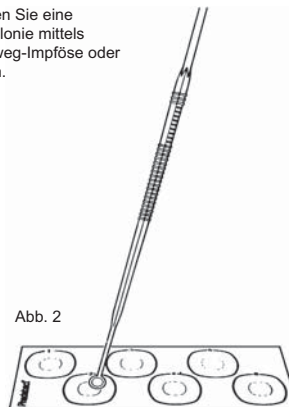
##### Arbeitsanleitung

**Bitte beachten!** Die Reagenzien sollten Raumtemperatur anzunehmen. Die Reagenzien durch Schütteln vollständig suspendieren.

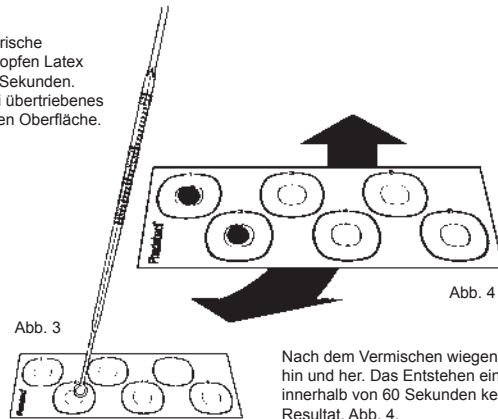
Die Ovale auf den Testkarten werden jeweils als Kontrolle oder Probe markiert. Jeweils einen Tropfen Latex und einen Tropfen der beiden Kontrollen werden auf die entsprechend markierten Ovale aufgetragen. Abb. 1.



Entnehmen Sie eine frische Kolonie mittels einer Einweg-Impföse oder ähnlichem. Abb. 2.



Vermischen Sie die frische Kolonie mit einem Tropfen Latex und mischen Sie 10 Sekunden. Vermeiden Sie dabei übertriebenes Kratzen der Testkarten Oberfläche. Abb. 3.



Nach dem Vermischen wiegen Sie das Testkarten leicht hin und her. Das Entstehen einer deutliche Agglutination innerhalb von 60 Sekunden kennzeichnet ein positives Resultat. Abb. 4.

#### Stabilität des Reaktionsansatzes

Die Agglutination ist stabil. Trotzdem sollten die Ergebnisse innerhalb von 60 Sekunden abgelesen werden. (Durch Verdunstung trocknen die Reagenzien aus, was als falsch positive Reaktion interpretiert werden könnte.)

#### Kalibrierung

Eine Kalibrierung ist nicht notwendig.

#### Qualitätskontrolle

##### Positive und negative Kontrolle

Eine positive und eine negative Kontrolle werden zusammen mit jeweils einem Kit für 100 und einem für 200 Bestimmungen mitgeliefert (nicht für Phadebact® Staph Aureus 100 Test Reagent).

Latex Qualitätskontrolle für positive und negative Kontrolle:

1. Geben Sie je einen Tropfen der homogenisierten Latexreagenz auf jeweils zwei der auf der Testkarte unterschiedlich gekennzeichneten Ovale.
2. Geben Sie einen Tropfen der homogenisierten positiven respektive negativen Kontrolle auf die entsprechenden Ovale.
3. Mit Hilfe einer Einweg-Impföse oder ähnlichem für jeweils eine Kombination vermischen Sie jede Kontrolle 10 Sekunden lang mit dem roten Latex innerhalb der Ovale.
4. Wiegen Sie die Testkarte vorsichtig 50 Sekunden lang hin und her.
5. Während des Wiegens beobachten Sie ob auf den Ovalen eine Agglutination statt findet.
6. Die positive Kontrolle muss eine deutliche Agglutination zeigen. Die negative Kontrolle darf dagegen jedoch innerhalb von 60 Sekunden keine Agglutination zeigen.
7. Benachrichtigen Sie Ihren Lieferanten oder MKL Diagnostics AB für den Fall, dass die erwarteten Ergebnisse nicht eingetreten sind.
8. Diese Qualitätskontrolle sollte so oft durchgeführt werden, wie das Labor es vorschreibt.

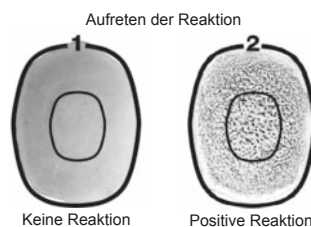
"Good Laboratory Practice" muss befolgt werden:

1. Befolgen Sie bitte die beigefügten Gebrauchsinformation.
2. Vergewissern Sie sich, dass die Lösungen Raumtemperatur erreicht haben.
3. Homogenisieren Sie die Lösungen vor der Anwendung.
4. Ovale kann man nur einmal anwenden.
5. Verwenden Sie immer frische Ösen um Kolonien aufzutragen.
6. Beachten Sie mikrobiologische Vorschriften bei der Handhabung und der Beseitigung des angewandten Materials.
7. Beim Wiederverschließen von Fläschchen achten Sie darauf, dass der richtige Tropfer verwendet wird.
8. Es wird empfohlen, das inokulierte Platten mit bekannten Stämmen von *S. aureus* (z.B. ATCC 25923) und *S. epidermidis* (z.B. ATCC 12228) parallel mit den Kontrollen des 100er und 200er Tests eingesetzt werden. Für den 400er Test und für den Phadebact® Staph Aureus 100 Test Reagent ist es vorgeschrieben.

#### TESTANLEITUNG

(VERGEWISSERN SIE SICH, DASS DIE REAGENZIEN RAUMTEMPERATUR ANGENOMMEN HABEN)

1. Bevor Sie mit dem Testen der frischen Kolonien beginnen, sollten Sie eine Qualitäts-Kontrolle wie in den oben beschriebenen Schritten vornehmen.
2. Die Reagenzien durch Schütteln vollständig suspendieren. Halten Sie das Fläschchen vertikal über dem gekennzeichneten Oval und drücken Sie ein Tropfen der Suspension heraus. Für jede Probe, die getestet wird, ist ein Tropfen auf die jeweiligen Ovale aufzutragen.
3. Benutzen Sie für jede Kolonie die Sie testen eine frische Impföse. Halten Sie die Impföse RECHTWINKLIG zu der Agar Oberfläche halten, berühren Sie eine 2 mm frische Kolonie mit der flachen Seite der Impföse.
4. Mischen Sie die Organismen 10 SEKUNDEN lang gründlich in die Latex-Lösung indem Sie die Oberfläche der Testkarte leicht innerhalb des Ovals reiben. **Beachten Sie!** Das Beschädigen der Oberfläche der Testkarte durch zu starkes Reiben ist zu vermeiden.
5. Nach dem vorstehenden Vorgang entsorgen Sie die Impföse in einer Desinfektionslösung.
6. Wiegen Sie die Testkarte 50 SEKUNDEN lang hin und her, um die Lösung umzurühren. Vermeiden Sie ein Vermischen der Lösung aus den benachbarten Ovalen.
7. Bei den meisten *S. aureus* Stämmen müsste eine unmittelbare Agglutination eintreten. Für den Fall, dass *S. aureus* in einer Probe enthalten ist, verstärkt sich die Agglutination während des 50 SEKUNDEN langen vorsichtigen Hin- und Herwiegens der Testkarte fortschreitend. Dokumentieren Sie das Ergebnis.
8. Entsorgen Sie die Testkarte in einer Desinfektionslösung.



#### ERGEBNISSE

##### Positives Ergebnis

Das Testergebnis ist positiv, wenn gleichzeitig mit der Agglutination innerhalb von 60 SEKUNDEN nach der Vermischung von Latex mit der PROBE eine Entfärbung (Klären) der Latexlösung auf dem weißen Hintergrund eintritt. Auch wenn nach der Vermischung mit *S. aureus* die Agglutination eintritt, wird sich diese während des 50 Sekunden dauernden Hin- und Herwiegens der Testkarte verstärken. Wenn eine Latex Agglutination während des Wiegens einwandfrei ersichtlich ist, dann deutet dies darauf hin, dass Koagulase und/oder Protein A in der Probe enthalten ist und angenommen werden muss dass es sich bei der Probe um *S. aureus* handelt. Durch das Verklumpen (Agglutination) des roten Latex verblasst der rote Hintergrund und nimmt dadurch eine leicht rosa Verfärbung an.

### Negatives Ergebnis

Das Ergebnis ist negativ, wenn innerhalb von 60 Sekunden keine Agglutination/Klumpen in dem Latex Reagenz auftritt. Dennoch können Latex Partikel auch bei Koagulase-negativen Proben etwas körnig werden. Bei den meisten negativen Ergebnissen ist der Hintergrund homogen rot gefärbt. Ein negatives Ergebnis deutet auf Abwesenheit von Koagulase und Protein A in der Probe hin.

### GRENZEN DER METHODE

1. Schwer zu deutende und nicht zu interpretierende Ergebnisse können auftreten wenn die Probe auf einem Wachstums-Medium gewachsen ist, das zuviel Salz enthält oder wenn die Kultur mehr als 48 Stunden alt war oder auch wenn zu viel von der Probe entnommen worden ist. In solchen Fällen kann die Konzentration der Koagulase und des Protein A reduziert sein, wodurch eine sehr schwache Agglutination (oder unklare und nichtspezifische Reaktionen) entsteht.
2. Um eine frische Subkultur zu erhalten sollte, sollte für den Fall, dass eine Vorrat-Kultur zum Testen verwendet wird, diese noch einmal übernacht auf Schafsblood Agar aufgetragen werden.
3. Es hat sich erwiesen, dass die häufig wiederholte Neuanzucht von *S. aureus* Stämmen biologische Änderungen auslöst. Aus diesem Grunde sind deren Ergebnisse nicht mit den original klinischen Isolaten gleich.
4. Nur frische Kolonien sollten im Test verwendet werden. Die Kolonie sollte Gram gefärbt werden, um die Morphologie und die Gram positiven Charakteristiken der *S. aureus* zu bestätigen. Andere Tests, wie Säure-Produktion im gefärbten Kohlehydrate enthaltenden Agar und anaerobe Säure-Produktion in Medien die Mannitol als Substrate enthalten, können gleichfalls durchgeführt werden (3,6).
5. Auch andere Koagulase positive Staphylokokken, wie z.B. *S. hyicus* und *S. intermedius*, können mit der Latex Reagenz agglutinieren. Diese rufen aber selten humane Infektionen hervor. Diese Stämme können durch Wachsen auf modifizierten Nähr-Agar unterschieden werden (7).

### ZU ERWARTENDE WERTE

Das Testergebnis ist positiv, wenn Latex Reagenz, vermischt mit einer frischen PROBE, innerhalb von 60 Sekunden nach der Vermischung eine Agglutination/Klumpen ergibt. Wenn die zu testende Probe *S. aureus* ist, kann man, während des vorsichtigen Hin- und Herwiegens, eine fortschreitende Agglutination beobachten. Wird innerhalb von 60 Sekunden nach dem anfänglichen Vermischen keine Agglutination sichtbar, bedeutet dies, dass Koagulase und/ oder Protein A, verbunden mit *S. aureus*, nicht in nachweisbaren Mengen vorhanden ist. Wir sprechen in einem solchen Fall von einem negativen Ergebnis.

### TESTMERKMALE

Das Phadebact® Staph Aureus Latex Reagenz wurde von unabhängigen Laboratorien, unter Anwendung von 836 aufgezogenen Proben mit vermuteten Staphylokokken ausgewertet (8). Die Auswertung bestand in einem Vergleich von Phadebact® Staph Aureus System mit der klassischen Röhren-Agglutination. Die Proben bestanden aus frischen Isolaten und gelagerten Kulturen. Unter den getesteten Staphylokokken Proben befanden sich sowohl Methicillin resistente und Methicillin empfindliche *S. aureus* sowie Koagulase negative Staphylokokken. Die Charakteristik der Resistenz oder der Empfindlichkeit wirkte sich nicht auf die Nachweisbarkeit sowohl der Koagulase oder des Protein A positiven oder negativen Staphylokokken aus. Verschiedene Media Typen, wie Tryptic-soy Agar, Chocolate Agar, Schaf- oder Pferdeblut Agar, Mueller-Hinton Agar und Colistin-nalidixic acid Agar wurden für die übernacht Kultur verwendet. Die Ergebnisse der Auswertung sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt:

		Koagulase Test	
		+	-
Phadebact®	+	549	3
Staph Aureus	-	5	279

Das Phadebact® Staph Aureus Latex Reagenz ergab eine relative Sensitivität von 99,1% und eine relative Spezifität 98,9%. Das rote Latex (Ermittlung) Reagenz bietet ein äußerst anwendbares Werkzeug für eine leichtere Interpretation der Latex-Agglutination, die in Reaktion mit Koagulase positiven Streptokokken entsteht.

### GARANTIE

Die erhaltenen Testergebnisse wurden unter Einhaltung der Testvorschriften erzielt. Jede von MKL Diagnostics AB nicht empfohlene Änderung des Testablaufs kann die Ergebnisse beeinträchtigen. In diesem Fall lehnt MKL Diagnostics AB jeden Garantieanspruch ab, und weder MKL Diagnostics AB noch deren autorisierte Vertreter haften für direkte oder indirekte Folgeschäden.

### Literaturverzeichnis:

1. Kloos W J and Smith P B: Staphylococci, 1980. In Manual of Clinical Microbiology, 3ed, Lennette E H, Balows A, Hausler Jr W J and Truant J P, ed., ASM, Washington, D.C.
2. Finegold S M and Sweeney E E, 1961. New selective and differential medium for coagulase-positive staphylococci allowing rapid growth and stain differentiation. J. Bacteriol. 81: 636-641.
3. Kloos W E and Schleifer K H, 1975. Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. J. Clin. Microbiol. 1:82-88.
4. Forsgren A and Sjöquist J, 1967. "Protein A" from *Staphylococcus aureus*. Reaction with Rabbit Gamma-globulin. J. Immunol. 99:19-24.
5. Aldridge K E, Kogos C, Sanders C V and Marier R L, 1984. Comparison of Rapid Identification Assays for *Staphylococcus aureus*, J. Clin. Microbiol. 19:703-704.
6. Hajek V, 1976. *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals, Int. J. Syst. Bacteriol. 26:401-408.
7. Roberson, J R, Fox L A, Hancock D D and Bessor T E, 1992. Evaluation of Methods for Differentiation of Coagulase-Positive Staphylococci. J. Clin. Microbiol. 30:3217-3219.
8. Data on file: MKL Diagnostics AB.

### PRODUKTE

#### Phadebact COA System

Phadebact® Streptococcus Tests  
Phadebact® Streptococcus Respiratory Test  
Phadebact® Strep A Test  
Phadebact® Strep B Test  
Phadebact® Strep D Tests  
Phadebact® Strep F Test  
Phadebact® Strep Positive Controls  
Phadebact® Pneumococcus Test  
Phadebact® Haemophilus Test  
Phadebact® GC Positive Controls  
Phadebact® CSF Test  
Phadebact® CSF Positive Controls  
Phadebact® Extraction Solutions  
Phadebact® Monoclonal GC Test  
Phadebact® ETEC-LT Test  
Phadebact® Salmonella Test  
Phadebact® Staph Aureus

#### Für andere Sprachen: [www](http://www.mkldiagnostics.com).

For other languages: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)  
Para otros idiomas: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)  
Pour d'autres langues: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)  
Andre sprog, se venligst: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)  
Για άλλες γλώσσες: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)  
På andra språk: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)

### Near Patient Testing

Phadirect® Strep A  
Phadirect® Rapid CRP Test