

# Phadebact® Staph Aureus Test

53-1127-03, Mar-12

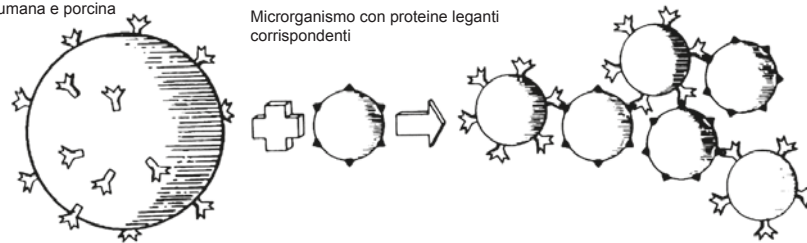
## Istruzioni per l'Uso

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



Particelle di latex sensibilizzate  
con proteine plasmatiche di origine  
umana e porcina

Agglutinazione



### UTILIZZO

Phadebact® Staph Aureus Test serve per rilevare le proprietà della coagulasi (clumping factor) e/o della Proteina A associate con lo *Staphylococcus aureus* ottenuto da colture primarie. Il reagente Phadebact® Staph Aureus reagirà con una o entrambe queste due proprietà.

Ogni confezione di Phadebact® Staph Aureus Test contiene reagenti per 100, 200 o 400 rilevazioni.

### SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

*Staphylococcus aureus* è stato dimostrato essere una specie batterica patogena. Essendo un organismo comunemente presente sulla pelle, nei condotti nasali e nelle membrane mucose, una ferita in tali aree fornisce a tali agenti l'opportunità di provocare un'infezione. *S. aureus* è responsabile della maggior parte delle infezioni suppurative superficiali e delle tossinfezioni alimentari ed è anche una causa di infezione nosocomiale (1). Le caratteristiche della coagulasi e della Proteina A associate con *S. aureus* permettono l'identificazione di almeno il 98% di questa specie. Infatti anche la specie *staphylococcus* coagulasi-negativo provoca infezioni. La coagulasi può essere o legata (clumping factor) allo stafilococco o rilasciata come un libero enzima. La coagulasi induce il fibrogéno a formare un grumo quando il plasma EDTA viene aggiunto allo *S. aureus* coagulasi-positivo. Il sostrato differenziale è stato descritto per la crescita di stafilococco coagulasi-positivo (2). Inoltre, diversi sostrati sono stati descritti per altre proprietà individuali dello stafilococco patogeno (3). La maggior parte delle operazioni sopra identificate relative alle colture richiedono parecchie ore di test e verifiche prima che i risultati siano disponibili. Indipendente dall'attività della coagulasi è la sostanza Proteina A. La Proteina A è un costituente della parete cellulare dello *S. aureus*. Essa si combina con la porzione Fc della maggior parte delle immunoglobine IgG e serve come un ulteriore marcante (4). In contrasto con le procedure eccessivamente lunghe della coltura, la velocità, la convenienza e l'accuratezza di Phadebact® Staph Aureus System si presenta come un appropriato test alternativo. I test di agglutinazione con slide rapida nella maggior parte dei casi si sono dimostrati affidabili quanto il sistema di coagulasi in provetta.

### PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Le particelle di latex rosso usate nel reagente latex Phadebact® Staph Aureus sono sensibilizzate con una concentrazione specifica di proteine plasmatiche di origine umana e porcina. Quando la coagulasi e/o la Proteina A vengono forniti da un campione di coltura a livelli rilevabili, essi interagiranno con le particelle sensibilizzate producendo un'agglutinazione visibile. Questo è un risultato è positivo.

### I REAGENTI

Il Phadebact® Staph Aureus Test è disponibile nelle rispettive confezioni da 100, 200 e 400 rilevazioni. I reagenti sono colorati di rosso per facilitare l'interpretazione dei risultati.

#### Ingredienti reattivi

##### Phadebact® Staph Aureus 100 Test

- Phadebact® Staph Aureus Latex Reagent: 1 fiala  
Particelle di latex rosso rivestite di proteine di origine umana e porcina, sospese in una soluzione tampone contenente un conservante.
- Phadebact® Staph Aureus Positive Control: 1 fiala  
Una formulazione di *S. aureus* (ATCC 25923) non vitale in una soluzione tampone contenente un conservante.
- Phadebact® Staph Aureus Negative Control: 1 fiala  
Una formulazione di *S. epidermidis* (CDC 3258) non vitale in una soluzione tampone contenente un conservante.

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

- Phadebact® Staph Aureus Latex Reagent: 1 fiala  
Particelle di latex rosso rivestite di proteine di origine umana e porcina, sospese in una soluzione tampone contenente un conservante.

##### Phadebact® Staph Aureus 200 Test

- Phadebact® Staph Aureus Latex Reagent: 2 fiale  
Particelle di latex rosso rivestite di proteine di origine umana e porcina, sospese in una soluzione tampone contenente un conservante.
- Phadebact® Staph Aureus Positive Control: 1 fiala  
Una formulazione di *S. aureus* (ATCC 25923) non vitale in una soluzione tampone contenente un conservante.
- Phadebact® Staph Aureus Negative Control: 1 fiala  
Una formulazione di *S. epidermidis* (CDC 3258) non vitale in una soluzione tampone contenente un conservante.

#### Phadebact® Staph Aureus 400 Test

- Phadebact® Staph Aureus Latex Reagent: 4 fiale  
• Particelle di latex rosso rivestite di proteine di origine umana e porcina, sospese in una soluzione tampone contenente un conservante.  
PRONTI PER L'USO

#### Altri componenti

- Contagocce
- Slide usa e getta
- Istruzioni per l'Uso

**Nota!** Phadebact® Staph Aureus 400 Test include soltanto 4 fiale del reagente specifico Staph Aureus.

**Phadebact® Staph Aureus 100 Test Reagent** include soltanto 1 fiala del reagente specifico Staph Aureus.

#### Precauzioni

Per un uso diagnostico *in vitro*.

Si prega di fare riferimento alle procedure di decontaminazione come indicato da per esempio CDC.

**Attenzione!** I controlli contengono Sodio azide (NaN<sub>3</sub>) come conservante. Il Sodio azide può reagire con il piombo ed il rame presenti nell'impianto idraulico formando metalli azidi altamente esplosivi. Pertanto, se si utilizza l'impianto idraulico per disfarsi dei controlli, far scorrere grande quantità di acqua per prevenire accumulo di azide. Fare riferimento alle procedure di decontaminazione così come illustrato da CDC.

I componenti di siero umano sono risultati negativi agli anticorpi HIV-1, HIV-2, HCV e HbsAg. Questo non assicura l'assenza di questi organismi. I controlli si sono rivelati negativi per la crescita dello staphylococcus.

I REAGENTI DEVONO ESSERE MANEGGIATI COME SE FOSSERO POTENZIALMENTE INFETTI.

#### Preparazione dei reagenti

I reagenti sono PRONTI PER L'USO.

#### Modalità di conservazione

La data di scadenza è riportata sull'etichetta esterna e sulle etichette delle fiale. Si raccomanda di conservare il kit ad una temperatura di 2-8°C. I controlli devono essere protetti dal congelamento.

#### RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

Si prega di riferirsi ad un libro di testo standard di microbiologia per quanto riguarda l'informazione sulla raccolta e sul trattamento dei campioni. La coltura di una piastra primaria compiuta durante la notte fornirà un campione di colonia fresco e di grandezza sufficiente (approssimativamente 2 mm). Campionare la colonia con l'estremità di uno stick sterilizzato. È preferibile utilizzare agar nutriente o di sangue di pecora per ogni subcoltura da preparare se si sospetta che la coltura sia contaminata. Una manovra di campionamento identica deve essere eseguita per qualsiasi subcoltura. La colonia deve essere gram-colarata per confermare la morfologia e le caratteristiche gram-positive dell'organismo.

#### PROCEDURE

##### Materiali forniti

Vedere sotto REAGENTI.

##### Materiali richiesti ma non forniti

- Colture primarie
- Occhielli inoculanti usa e getta o equivalente
- Orologio con indicatore di secondi facilmente leggibile

##### Parametri del metodo

Temperatura di reazione	Temperatura ambiente
Volume del reagente Staph Aureus	Una goccia
Volume del controllo	Una goccia
Tempo di reazione totale	60 secondi (10 secondi per mescolare e 50 secondi per agitare manualmente) o meno se avviene l'agglutinazione.

##### Preparazione dei campioni

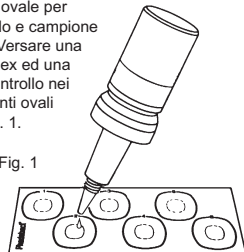
Fare riferimento ai libri di testo standard di microbiologia riguardanti informazioni dettagliate sulla preparazione di colture primarie.

##### Protocollo del test

**Nota!** Lasciare che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente. Sospendere interamente i reagenti tramite agitazione.

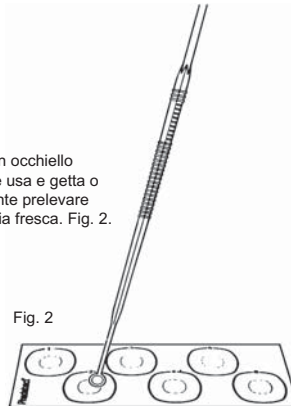
Marcare un ovale per ogni controllo e campione da testare. Versare una goccia di latex ed una goccia di controllo nei corrispondenti ovali marcati. Fig. 1.

Fig. 1



Usando un occhio inoculante usa e getta o l'equivalente prelevare una colonia fresca. Fig. 2.

Fig. 2



Versare la colonia fresca nel latex presente sulla superficie dell'ovale e mescolare per 10 secondi. Evitare di frizionare eccessivamente la superficie della scheda durante il mescolamento della colonia e del latex. Fig. 3.

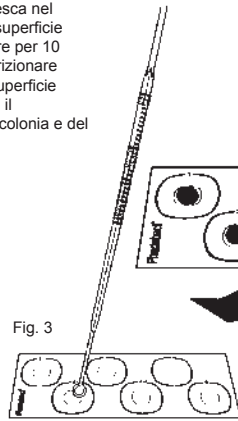


Fig. 3

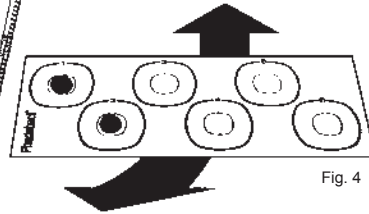


Fig. 4

Dopo aver mescolato nell'ovale il campione di coltura ed il latex, fare oscillare la scheda a mano per mescolare ciascuna combinazione di latex e campione. Quando un'evidente agglutinazione viene osservata entro 60 secondi dall'inizio del mescolamento, viene registrato un risultato positivo per quel campione. Fig. 4.

#### Stabilità della miscela finale di reazione

L'agglutinamento è stabile, ma una buona pratica di laboratorio suggerisce che il risultato va letto entro 60 secondi (notare che c'è il rischio che il seccarsi dei reagenti può essere misinterpretato come una reazione positiva).

#### Calibrazione

Nessuna calibrazione è necessaria.

#### Controllo di qualità

##### Controllo positivo e negativo

Un controllo positivo ed un controllo negativo sono forniti nelle confezioni di 100 e 200 rilevazioni (non nel reagente per il test Phadebact® Staph Aureus 100).

Controllo di qualità del latex con Controllo Positivo e Negativo:

1. Versare una goccia di latex risospeso in due ovali separatamente identificati sulla scheda.
2. Versare una goccia di controllo positivo risospeso e una goccia di controllo negativo risospeso, in ovali separatamente identificati sulla scheda.
3. Usando un occhiole inoculante usa o getta o l'equivalente per ciascuna combinazione, mescolare ciascun controllo con il latex rosso per 10 secondi all'interno dei loro ovali.
4. Oscillare la scheda a mano per 50 secondi.
5. Durante l'oscillazione, osservare se avviene l'agglutinazione nei due ovali.
6. Il controllo positivo deve fornire un'agglutinazione evidente. Il controllo negativo non deve produrre agglutinazione entro il periodo di 60 secondi.
7. Notificare al distributore o a MKL Diagnostics AB se i risultati attesi del controllo di qualità non sono osservati.
8. Questo controllo di qualità deve essere fatto con la frequenza suggerita dal laboratorio.

Una buona pratica di laboratorio da seguire:

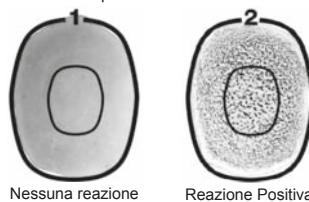
1. Usare le Istruzione per l'Uso fornite.
2. Lasciare che i reagenti raggiungano una temperatura ambiente prima dell'uso.
3. RISOSPENDERE i reagenti prima di distribuirli negli ovali.
4. Non riutilizzare un ovale sulla scheda.
5. Usare un nuovo stick erogatore per ogni campione.
6. Seguire appropriate procedure microbiologiche sia nel trattare che nel deporre il materiale usato per il test.
7. Rimettere i coperchi sulle loro rispettive fiale.
8. Si raccomanda di utilizzare piastre inoculate con famiglie conosciute di *S. aureus* (ATCC 25923) e *S. epidermidis* (ATCC 12228) in parallelo con i controlli nei test di 100 e 200. Per i test di 400 e nel reagente per il test Phadebact® Staph Aureus 100 ciò è fortemente raccomandato.

#### TECNICHE DI PROTOCOLLO

(ASSICURARSI CHE I REAGENTI ABBIANO RAGGIUNTO TEMPERATURA AMBIENTE)

1. Prima di testare i campioni di colonia fresca eseguire, così come indicato, le procedure del Controllo di Qualità.
2. Sospendere interamente i reagenti tramite agitazione. Tenere la fiala di latex in posizione verticale appena sopra un ovale identificato sulla scheda. Comprimerne la fiala per erogare una goccia di reagente latex risospeso nell'ovale. Versare una goccia per ogni campione da testare in ovali separati.
3. Usare una nuova estremità dello stick per ogni campione. Mentre si tiene lo stick PERPENDICOLARE alla superficie dell'agar, raccogliere una colonia fresca di 2 mm con l'estremità piatta dello stick.
4. Per 10 SECONDI, miscelare completamente e mischiare gli organismi nel reagente latex attraverso una leggera frizione della superficie della scheda con l'estremità dello stick tra i bordi interni dell'ovale. **NOTA!** Evitare di danneggiare la superficie della scheda con una frizione vigorosa.
5. Dopo questa fase, riporre lo stick nel disinfettante.
6. Per 50 SECONDI oscillare gentilmente a mano la scheda per agitare la combinazione. Non permettere alle combinazioni di rovesciarsi negli ovali adiacenti.
7. Il processo clumping del latex rosso dovrebbe essere istantaneo per la maggior parte dei tipi di *S. aureus*. Di solito l'agglutinazione/processo clumping del latex crescerà progressivamente durante la fase di oscillazione della scheda nel periodo di 50 SECONDI se il campione che si sta testando è *S. aureus* (vedere RISULTATI nel paragrafo seguente). Registrare i risultati.
8. Riporre la scheda nel disinfettante.

Aspetto della reazione



Nessuna reazione

Reazione Positiva

#### RISULTATI

##### Risultato positivo

Un test positivo si verifica quando l'agglutinazione e/o il processo visibile di clumping con simultaneo schiarimento del fondo di latex è osservato dal reagente latex rosso sul fondo bianco in combinazione con un CAMPIONE entro 60 SECONDI dall'iniziale mescolamento di un CAMPIONE e del latex di rilevamento. Anche se l'agglutinazione con *S. aureus* può essere evidente dopo il mescolamento, l'agglutinazione/processo clumping sarà progressivamente crescente durante i cinquantasecondi di oscillazione della scheda. Quando l'evidente agglutinazione del latex è osservata all'interno di questo periodo, coagulasi e/o Proteina A erano presenti nel campione e la presenza di *S. aureus* era presunta. Il latex rosso sarà visibilmente raggruppato in modo che schiarirà il fondo rosso in un colore rosa pallido.

### Risultato negativo

Un risultato negativo del test si verifica quando non viene osservata nessuna agglutinazione o processo clumping dal reagente latex rosso entro un periodo di 60 secondi. Nelle particelle di latex può essere osservata una traccia di granularità in combinazione con un campione di coagulasi negativo. Di solito si osserverà uno sfondo omogeneo di colore rosso per la maggior parte dei risultati negativi. Un risultato negativo indica per quel campione l'assenza di coagulasi e Proteina A.

### LIMITI DELLA PROCEDURA

1. Risultati grezzi, filamentosi o non interpretabili possono occorrere quando il campione è stato cresciuto su un substrato ad alto contenuto di sale e la coltura è più vecchia di 48 ore o quando viene usato troppo materiale. In questi casi, la concentrazione di coagulasi e Proteina A può essere ridotta e conseguentemente produrre segni di agglutinazione molto deboli (alternativamente oscurati da interazioni non specifiche).
2. Le colture di base devono essere subcolturate su agar di sangue di pecora durante la notte prima dell'uso nel test.
3. E' stato dimostrato che il continuo subculturamento di specie di Stafilococchi può indurre cambiamenti biologici negli organismi. Perciò i risultati del seguente test sono differenti dai risultati veri prodotti dagli organismi quando testati come l'originale clinico isolato.
4. Solo le colonie fresche devono essere utilizzate nel test. La colonia deve essere colorata con gram per confermare la morfologia e le proprietà gram-positivo dello *S. aureus*. Altri test che devono essere fatti sono produzione di acido dal campione su piastre di agar colorato contenente carboidrati e produzione di acido anaerobico usando mannitol come substrato (3,6).
5. Anche se altri Stafilococchi coagulasi-positivo come *S. hyicus* e *S. intermedius* possono agglutinare il reagente latex, essi sono raramente associati con infezioni umane. Queste specie possono essere differenziate tramite l'allevamento con nutrienti agar modificati (7).

### VALORI ATTESI

Un risultato positivo si è verificato quando l'agglutinazione/processo clumping viene osservato tramite il reagente latex rosso in combinazione con un CAMPIONE fresco entro 60 secondi dall'iniziale mescolamento. Quando il campione che si sta testando è *S. aureus*, una progressiva agglutinazione deve essere osservata durante la manovra di oscillazione manuale. Se non si osserva nessuna agglutinazione alla fine dei 60 secondi dopo l'iniziale mescolamento, la coagulasi e/o Proteina A associate con *S. aureus* non è presente a livelli rilevabili. Questo evento costituisce un risultato negativo del test.

### CARATTERISTICHE DI RENDIMENTO

Il reagente latex del Phadebact Staph Aureus è stato testato da laboratori indipendenti usando 836 campioni di colture con sospetta presenza di stafilococco (8). La valutazione consisteva nella comparazione di Phadebact Staph Aureus System con la classica coagulazione in provetta. I campioni erano isolati freschi e colture base. Includere nei campioni di stafilococchi testati c'erano meticillina-resistente o *S. aureus* sensibile e stafilococco coagulasi-negativo. Questa caratteristica di resistenza o sensibilità non ha interferito con la rilevazione della coagulasi o Proteina A positiva o Stafilococco negativa. Vari tipi di sostrati, come il tryptic-soy agar, l'agar di cioccolato, l'agar di sangue di pecora e cavallo, il Mueller-Hilton agar e l'agar acido colistin-nalidixic sono stati usati per la coltura durante la notte. I risultati della verifica sono indicati nella tabella seguente:

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

Il reagente latex di Phadebact Staph Aureus produceva una relativa sensibilità di 99.1% e una relativa specificità di 98.9%. Il reagente di rilevamento latex rosso fornisce un formato estremamente pratico per un'interpretazione più facile del processo clumping del latex prodotto da un stafilococco coagulasi-positivo.

### GARANZIA

I dati di rendimento qui presentati sono stati ottenuti usando le procedure indicate. Qualsiasi cambiamento o modifica nelle procedure non raccomandato da MKL Diagnostics AB può affettare i risultati. In tal caso, MKL Diagnostics AB disconosce tutte le garanzie, espresse, implicite o statuarie, incluse le garanzie implicite nella commerciabilità e nella convenienza per l'uso. MKL Diagnostics AB, e i suoi rivenditori autorizzati, in tali casi non saranno considerati responsabili per qualsiasi danno diretto, indiretto o consequenziale.

### Riferimenti:

1. Kloos W J and Smith P B: Staphylococchi, 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 staphylococchi 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 Staphylococchi. J. Clin. Microbiol. 30:3217-3219.
8. Data on file: MKL Diagnostics AB.

**PRODOTTI****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 Test

**Near Patient Testing**

Phadirect® Strep A  
Phadirect® Rapid CRP Test

**Per altre lingue: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)**

For other languages: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)

Für andere Sprachen: [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)