

# Phadebact® Staph Aureus Test

53-1111-03, Mar-12

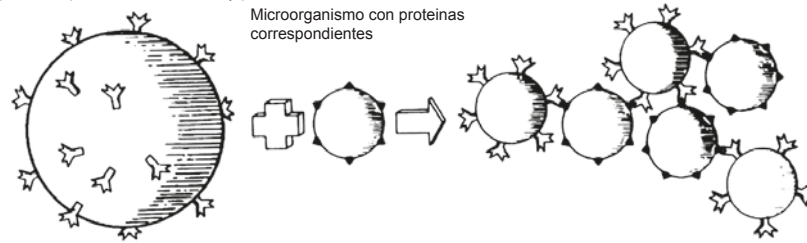
## Modo de empleo

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



Partículas de látex sensibilizadas con proteínas plasmáticas humanas y porcinas

Aglutinación



## USO PROPUESTO

Phadebact® Staph Aureus Test está destinado a la detección de la coagulasa (factor de coagulación) y/o de la proteína A, características asociadas con el estafilococo aureus obtenido a partir de cultivos primarios. El reactivo Phadebact® Staph Aureus reacciona con cualquiera de estas dos sustancias. Cada kit de Phadebact® Staph Aureus Test contiene reactivo suficiente para 100/200/400 determinaciones.

## RESUMEN Y EXPLICACION DEL ANALISIS

*Staphylococcus aureus* es una bacteria patógena. Debido a que este organismo habita comúnmente en la piel, orificios nasales y membranas mucosas, una herida en estos lugares facilita la infección. *S. aureus* es la causa principal de las infecciones supurativas superficiales y de Intoxicación alimentaria así como también de la Infección nosocomial (1). La determinación de la coagulasa y la proteína A permite la identificación de *S. aureus* en por lo menos el 98% de estas especies. Así, *Staphylococcus coagulasa negativo* también produce infecciones. La coagulasa puede ser fija (factor de coagulación) si esta unida al *Staphylococcus* o libre si está en el sobrenadante. La coagulasa reacciona con el fibrinógeno, formando un coágulo cuando se añade plasma EDTA a *S. aureus* coagulasa positivo. *Staphylococcus coagulasa positivo* se cultiva en medio diferencial (2). Además existen diversos medios de cultivo para diferenciar las propiedades individuales de estafilococos patógenos (3). La identificación de los cultivos descritos arriba requiere muchas horas de análisis y evaluación antes de obtener los resultados. La proteína A es independiente de la actividad enzimática de la coagulasa. La proteína A es un componente de la pared celular de *S. aureus*. La proteína A reacciona con la región Fc de la mayoría de las inmunoglobulinas IgG y es así un marcador distinto (4).

En contraste con los métodos largos de cultivo, la rapidez, conveniencia y precisión del sistema Phadebact® Staph Aureus brinda una alternativa cómoda y eficaz. El test rápido de aglutinación en porta ha demostrado ser en la mayoría de los casos tan confiable como el sistema de la coagulasa en tubo (5).

## PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Proteínas plasmáticas humanas y porcinas en concentraciones específicas, han sido acopladas a partículas de látex color rojo de Phadebact® Staph Aureus. La coagulasa y/o la proteína A, presentes en el espécimen de cultivo a niveles detectables, reaccionarán con las partículas sensibilizadas produciendo una aglutinación visible. Es decir un resultado positivo.

## REACTIVOS

Phadebact® Staph Aureus Test existe en dos versiones: 100, 200 y 400 determinaciones respectivamente. Los reactivos son de color rojo para facilitar la interpretación de los resultados.

### Composición de los reactivos

#### Phadebact® Staph Aureus 100 Test

- Phadebact® Staph Aureus Látex Reagent: 1 vial  
Partículas de látex color rojo sensibilizadas con proteínas humanas y porcinas suspendidas en tampón con conservante.
- Phadebact® Staph Aureus Positive Control: 1 vial  
Suspensión de *S. aureus* (ATCC 25923)  
no viable en tampón con conservante.
- Phadebact® Staph Aureus Negative Control: 1 vial  
Suspensión de *S. epidermidis* (CDC 3258)  
no viable en tampón con conservante.

#### Phadebact® Staph Aureus 100 Test Reagent

- Phadebact® Staph Aureus Látex Reagent: 1 vial  
Partículas de látex color rojo sensibilizadas con proteínas humanas y porcinas suspendidas en tampón con conservante.

#### Phadebact® Staph Aureus 200 Test

- Phadebact® Staph Aureus Látex Reagent: 2 viales  
Partículas de látex color rojo sensibilizadas con proteínas humanas y porcinas suspendidas en tampón con conservante.
- Phadebact® Staph Aureus Positive Control: 1 vial  
Suspensión de *S. aureus* (ATCC 25923)  
no viable en tampón con conservante.
- Phadebact® Staph Aureus Negative Control: 1 vial  
Suspensión de *S. epidermidis* (CDC 3258)  
no viable en tampón con conservante.

#### Phadebact® Staph Aureus 400 Test

- Phadebact® Staph Aureus Látex Reagent: 4 viales  
Partículas de látex color rojo sensibilizadas con proteínas humanas y porcinas suspendidas en tampón con conservante.

## Otros componentes

- Goteros
- Portas desechables
- Modo de empleo

**Nota!** Phadebact® Staph Aureus 400 Test solo incluye 4 viales de reactivo específico Staph Aureus.  
Phadebact® Staph Aureus 100 Test Reagent solo incluye 1 vial de reactivo específico Staph Aureus.

#### Precauciones

Para diagnóstico *in vitro*.

Favor de referir al procedimiento de descontaminación recomendado por CDC.

**Atención!** Los reactivos contienen azida sódica (NaN<sub>3</sub>) como conservante. La azida sódica puede reaccionar con el plomo y el cobre de las cañerías, formando azidas metálicas altamente explosivas. Al desechar los residuos use abundante agua para evitar la formación de estas azidas.

El suero humano ha sido confirmado negativo por VIH-1, VIH-2, VHC y HBsAg. Esto no asegura la ausencia de estos organismos. Los controles han sido provados ser staphylococci negativos por cultivo.

LOS REACTIVOS DEBEN SER MANIPULADOS COMO POTENCIALMENTE INFECCIOSOS.

#### Preparación de los reactivos

Los reactivos están LISTOS PARA USAR.

#### Caducidad y almacenamiento

La fecha de caducidad se indica en la etiqueta exterior y en las etiquetas de los viales. Se recomienda almacenar el kit entre 2-8°C. Los reactivos no deben congelarse.

#### OBTENCION Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Favor de referir a un manual estándar de microbiología concerniente a la colección y preparación de muestras. Cultivos primarios incubado de la noche en placa rendirán colonias frescas suficientemente grandes (aproximadamente 2 mm). Coleccionar la colonia con un asa estéril. Usar nutriente o agar sangre de oveja en caso de subcultivo si se sospecha contaminación. Este procedimiento debe seguirse para cualquier subcultivo de colonias. La morfología y característica grampositiva de la colonia deberá confirmarse por tinción gram.

#### PROCEDIMIENTO

##### Materiales suministrados

Ver REACTIVOS.

##### Materiales requeridos pero no suministrados

- Cultivos primarios
- Asas de inoculación desechables
- Reloj con lectura fácil de segundos

##### Parámetros del análisis

Temperatura de la reacción	temperatura ambiente
Volumen de los reactivos	una gota
Volumen de los controles	una gota
Duración de la reacción	60 segundos (10 segundos de mezcla y 50 segundos de balanceo manual) o menos en caso de aglutinación.

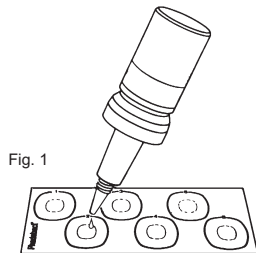
##### Preparación de las muestras

Favor de referir a un manual estándar de microbiología concerniente a la preparación de cultivos primarios.

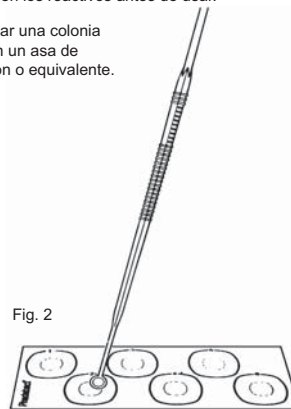
##### Procedimiento del ensayo

**Nota!** Dejar que los reactivos alcancen temperatura ambiente. Agite bien los reactivos antes de usar.

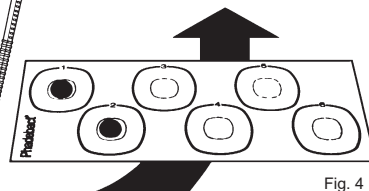
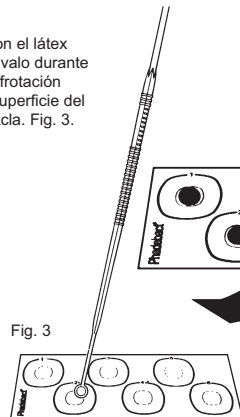
Marcar los óvalos correspondientes al control y las muestras a ensayar. Poner una gota de látex y una gota de los controles en los correspondientes óvalos marcados. Fig. 1.



Coleccionar una colonia fresca con un asa de Inoculación o equivalente. Fig. 2.



Mezclar la colonia con el látex en la superficie del óvalo durante 10 segundos. Evitar frotación excesiva contra la superficie del porta durante la mezcla. Fig. 3.



Balancear manualmente el porta para mezclar la suspensión de látex con el espécimen. Una aglutinación evidente en 60 segundos a partir del inicio de la mezcla indica un resultado positivo del espécimen. Fig. 4.

##### Estabilidad de la reacción final

La reacción de aglutinación es estable, pero las buenas prácticas de laboratorio señalan que los resultados deben leerse en el lapso de 60 segundos. (Observe que la desecación de los reactivos puede ser malinterpretada como reacción positiva).

##### Calibración

No es necesario ningún tipo de calibración.

##### Control de calidad

###### Control positivo y negativo

Se suministra un control positivo y negativo en el kit de 100 y 200 determinaciones (no en Phadebact® Staph Aureus 100 Test Reagent).

Control de calidad de los controles positivo y negativo en látex:

1. Poner una gota de látex resuspendido en dos óvalos marcados del porta.
2. Poner una gota de cada control resuspendido (positivo y negativo) en diferentes óvalos.
3. Mezclar cada control con el látex rojo durante 10 segundos, usando un asa de inoculación desechable o equivalente.
4. Balancear manualmente el porta durante 50 segundos.
5. Observar los dos óvalos por aglutinación durante el balanceo.
6. La aglutinación deberá ser obvia en el control positivo. El control negativo no deberá producir aglutinación en el lapso de 60 segundos.
7. Notifique a su distribuidor o av MKL Diagnostics AB si los resultados del control de calidad no son los esperados.
8. El control de calidad debe realizarse de acuerdo a las necesidades del laboratorio.

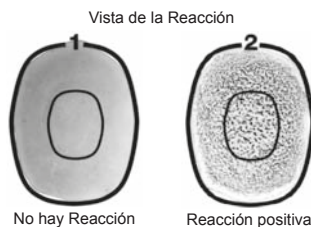
Buenas Prácticas de Laboratorio a seguir:

1. Usar el Modo de empleo como esta indicado.
2. Dejar que los reactivos alcancen temperatura ambiente antes de usar.
3. RESUSPENDER los reactivos antes de aplicarlos en los óvalos.
4. No usar los óvalos del porta mas de una vez.
5. Usar un asa nueva para cada espécimen.
6. Usar procedimientos microbiológicos apropiados en la manipulación y desechos del material usado en el test.
7. Cerrar los viales con sus tapas correspondientes.
8. Se recomienda el uso paralelo de platos inoculados con cepas conocidas de *S. aureus* (p. ej. ATCC 25923) y *S. epidermidis* (p. ej. ATCC 12228) y los controles incluidos en el kit de 100 y 200 determinaciones. La recomendación es de fuerza mayor si el kit es para 400 determinaciones y en el kit Phadebact® Staph Aureus 100 Test Reagent.

## METODOLOGÍA

(ASEGURESE QUE LOS REACTIVOS HAYAN ALCANZADO TEMPERATURA AMBIENTE)

1. Realizar el control de calidad señalado antes de proceder al análisis de las colonias.
2. Agite bien los reactivos antes de usar. Mantener el vial de látex en posición vertical sobre el óvalo marcado del porta. Presionar el vial y aplicar una gota del reactivo látex resuspendido en el óvalo. Poner una gota de cada espécimen a ensayar en óvalos separados.
3. Usar un asa nueva para cada espécimen. Sostener el asa PERPENDICULARMENTE a la superficie del agar y tocar una colonia con la parte plana del asa.
4. Mezclar cuidadosamente los especímenes con el látex en el óvalo durante 10 SEGUNDOS, frotando ligeramente con el asa la superficie del porta, llevando la suspensión hacia el límite interior del óvalo.  
**NOTA!** Evite dañar el porta por frotación enérgica.
5. Desechar el asa después de este paso.
6. Balancear suavemente el porta por 50 SEGUNDOS. No dejar que la suspensión se desborde a los óvalos adyacentes.
7. La aglutinación del látex rojo deberá ser instantánea con la mayoría de las cepas de *S. aureus*. Generalmente la aglutinación del látex aumenta progresivamente durante el balanceo en un lapso de 50 SEGUNDOS si el espécimen ensayado es *S. aureus* (ver RESULTADOS en la sección siguiente). Registrar los resultados.
8. Desechar el porta.



## RESULTADOS

### Resultado Positivo

Un resultado positivo se visualiza como aglutinación y/o coagulación, con desaparición simultánea de látex rojo sobre fondo blanco debido a la reacción con el ESPECIMEN en el lapso de 60 SEGUNDOS a partir del inicio de la mezcla del ESPECIMEN con el látex de detección. Aunque la aglutinación con *S. aureus* será evidente al inicio de la mezcla, habrá un aumento progresivo de la aglutinación durante los 50 segundos siguientes del balanceo. La aglutinación evidente en este periodo indica la presencia de coagulasa y/o Proteína A, señalando a su vez la presencia de *S. aureus*. La coagulación del látex rojo despejará el fondo rojo dejando un matiz rosado tenue.

### Resultado Negativo

Un resultado negativo se reconoce por la ausencia de aglutinación en el lapso de 60 segundos de reacción con el látex rojo. Es posible observar rastros de granulosidad en especímenes coagulasa negativos. Normalmente deberá observarse un fondo homogéneo de color rojo en la mayoría de los resultados negativos. Un resultado negativo significa ausencia de coagulasa y proteína A en el espécimen.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Resultados irregulares, fibrosos y no interpretables ocurren cuando los especímenes se han cultivados en medio de alto contenido salino o el cultivo tiene mas de 48 horas o bien por exceso de material. En estos casos puede reducirse la concentración de la coagulasa y la Proteína A dando como resultado rasgos muy débiles de aglutinación (alternativamente oscurecidas por interacciones inespecíficas).
2. Las cepas deben subcultivarse en agar sangre de oveja durante la noche antes del test.
3. Subcultivos continuos de *Staphylococci* spp ha demostrado inducir cambios biológicos a estos organismos. Los resultados producidos así son diferentes de los resultados producidos por los aislamientos clínicos originales.
4. Debe emplearse solo cultivos frescos. La morfología y las características grampositivas de *S. aureus* deberán establecerse por tinción gram. Otros análisis a realizar son: producción de ácido a partir de carbohidratos en agar coloreado y producción anaerobia de ácido con sustrato manitol (3, 6).
5. Aunque estafilococos coagulasa positivos como *S. hyicus* y *S. intermedius* pueden aglutinar el reactivo látex, estos son raramente asociados con enfermedades infecciosas. La diferenciación de estas especies pueden hacerse por cultivo en nutriente agar modificado (7).

## VALORES ESPERADOS

Decimos que el resultado es positivo cuando se observa una aglutinación/coagulación en el lapso de 60 segundos a partir del inicio de la mezcla, a consecuencia de la reacción del reactivo látex con el ESPECIMEN fresco. Si el espécimen a ensayar es *S. aureus*, se observará un incremento paulatino de aglutinación durante el balanceo manual. Si al final de los 60 segundos, a partir del inicio de la mezcla, no se observara la aglutinación, significa que la coagulasa y/o Proteína A de *S. aureus* no están presentes en cantidades detectables. Es decir que el resultado es negativo.

## CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

El reactivo látex de Phadebact® Staph Aureus ha sido evaluado por diferentes laboratorios usando 836 especímenes staphylococci presuntivos (8). La Evaluación se hizo comparando el sistema Phadebact® Staph Aureus con el método clásico de coagulación en tubo. Se usaron aislamientos frescos y cultivos almacenados. Entre los especímenes estafilocócicos ensayados, se incluyeron también *S. aureus* meticilina resistente o meticilina sensibles y staphylococci coagulasa negativos. La propiedad de resistencia o sensibilidad no interfirió con la detección de staphylococci coagulasa o Proteína A positivos y negativos. Para los cultivos se han usado diferentes medios: agar tripton soya, agar chocolate, agar sangre de oveja o caballo, agar Mueller-Hinton y agar con colistina y ácido nalidíxico. El resumen de la evaluación se presenta en la tabla inferior:

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

La sensibilidad relativa del reactivo látex de Phadebact® Staph Aureus fue del 99.1% y la especificidad relativa del 98.9%. El reactivo látex rojo ofrece un medio sumamente efectivo y fácil de interpretar la aglutinación producida por staphylococci coagulasa positivos.

#### GARANTIA

Los resultados presentados aquí han sido obtenidos siguiendo exactamente el procedimiento descrito. Cualquier cambio o modificación en el procedimiento no recomendado por MKL Diagnostics AB puede afectar los resultados, en cuyo caso MKL Diagnostics AB declina toda responsabilidad de garantía expresada, implícita o establecida por la ley, inclusive la responsabilidad implícita para venta o condiciones de uso. En dicho caso MKL Diagnostics AB y sus distribuidores autorizados, no se harán responsables por cualquier daño directo, indirecto o por consecuencia.

#### Referencias:

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.

#### PRODUCTOS

##### 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

##### Near Patient Testing

Phadirect® Strep A  
 Phadirect® Rapid CRP Test

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