

PASTOREX[®] STAPH-PLUS

1 x 50 tests

56356

TEST DE AGLUTINARE LATEX PENTRU IDENTIFICAREA STAPHYLOCOCCUS AUREUS

1. UTILIZARE

PASTOREX STAPH-PLUS este un test de aglutinare rapida pe lama pentru a detecta simultan:afinitatea fata de fibrinogen(factorul de agregare),proteina A si polizaharidele capsulare ale Staphylococcus aureus.

2. SEMNIFICATIA CLINICA

Staphylococcus aureus este unul dintre cei mai frecvent intalniti agenti patogeni.Diferentierea rapida a acestei specii fata de alti stafilococi,mai putin virulenti,are o importanta deosebita pentru tratamentul adecvat al pacientului.Testul pentru detectia productiei de coagulaza libera permite identificarea Staphylococcus aureus.Totusi,acest test dureaza intre 4 si 24 de ore,iar plasma poate avea diverse variatii care pot influenta reactia.

Trusele de aglutinare ofera o detectie mai rapida si mai exacta a Staphylococcus aureus.Aceste teste de aglutinare utilizeaza particule de latex sensibilizate cu fibrinogen si IgG,pentru a detecta factorul de agregare si proteina A,care sunt caracteristici biochimice ale Staphylococcus aureus.

Totusi,s-a observat ca anumite tulpini de Staphylococcus aureus(in special tulpinile metilicilin-rezistente) nu sunt aglutinate de aceste teste.Un studiu al acestor tulpini(MRSA) a demonstrat ca toate acestea au polizaharide capsulare.Drept urmare,capsula polizaharidica care inveleste aceste bacterii in anumite conditii(proba directa,izolari din cultura si clone bacteriene),mascheaza proteina A si factorul de agregare,impiedicand aglutinarea particulelor de latex sensibilizate doar cu fibrinogen si IgG.

3. PRINCIPIU

PASTOREX STAPH PLUS a fost conceput sa permita detectia simultana a urmatoarelor 3 componente:

- 1) Factorul de afinitate fata de fibrinogen,denumit si coagulaza legata sau "factorul de agregare";
- 2) Proteina A,care are afinitate pentru fragmentul Fc al imunoglobulinelor(IgG);
- 3) Polizaharidele capsulare ale Staphylococcus aureus.

Reactivul este compus din particule de latex sensibilizate cu fibrinogen si IgG,precum si cu anticorpi monoclonali impotriva polizaharidelor capsulare ale Staphylococcus aureus.Combinatia de fibrinogen,IgG si anticorpi monoclonali anti-capsulari in acelasi reactiv permite identificarea tulpinilor incapsulate de Staphylococcus aureus,precum si a celor neincapsulate.In cazul tulpinilor incapsulate,anticorpii anti-capsulari aglutineaza bacteriile.Pentru tulpinile care si-au pierdut capsula polizaharidica,bacteriile sunt aglutinate de fibrinogen si IgG.

Tulpinile izolate din cultura de Staphylococcus aureus se amesteca cu reactivul latex pe o lama. Dupa omogenizarea completa, lama este evaluata vizual pentru prezenta aglutinarii, care indica prezenta germenilor Staphylococcus aureus.

4. PREZENTARE

1. PASTOREX STAPH PLUS, trusa pentru 50 teste, cod 56356

- **Test latex** :1 flacon picurator cu 1 ml de latex rosu sensibilizat cu fibrinogen, IgG si anticorpi monoclonali impotriva polizaharidelor capsulare ale Staphylococcus aureus. Contine 0,02% mertiolat de sodium si mai putin de 0,1% azida de sodium.
- **Control negativ** :1 flacon picurator cu 1 ml de latex rosu sensibilizat cu solutie de albumina bovina. Contine 0,02% mertiolat de sodium si mai putin de 0,1% azida de sodium.
- 16 carduri pentru aglutinare de unica folosinta.
- 150 baghete.

5. DEPOZITAR

Toți reactivii sunt stabili până la data de expirare indicată pe etichetă, dacă sunt depozitați la +2-8°C și în absența contaminării microbiologice (chiar după deschidere).

Depozitați flacoanele cu reactivii latex în poziție verticală.

REACTIVII LATEX NU TREBUIE ÎNGHEȚAȚI.

6. MATERIAL NECESAR DAR CARE NU ESTE FURNIZAT ÎN TRUSA

- Ansa pentru colectarea coloniilor bacteriene.
- Recipient pentru dezinfectie sau punga pentru autoclav pentru inlaturarea cardurilor folosite.

7. PRECAUTII

Kitul Pastorex Staph Plus se foloseste numai pentru testarea culturilor, nu se utilizeaza direct pe probele recoltate.

Calitatea rezultatelor depinde de respectarea stricta a regulilor de buna practica in laborator.

- Toti reactivii si proba trebuie folositi la o temperatura intre 18 si 30°C
- Nu atingeți suprafața de reacție a cardurilor de aglutinare.
- Agitați flacoanele cu latex înainte de folosire.
- Ștergeți vârful flaconului cu picurător pentru a obține picături calibrate corect.
- Țineți flaconul picurator vertical pentru a pipeta picăturile.
- Folositi baghetele de plastic din trusa pentru a amesteca reactivul latex cu coloniile bacteriene. **Nu folositi betisoare de lemn.**

- Schimbați bagheta pentru omogenizare la fiecare reacție.
- Aruncați toate materialele folosite într-un recipient autoclavabil sau într-o baie de dezinfectare.

INSTRUCIUNI PENTRU IGIENA SI SIGURANTA

Luați în considerare mereu tehnicile și precauțiile curente în ceea ce privește protecția împotriva riscurilor de contaminare microbiologică.

- Toți reactivii cu latex conțin azidă de sodiu. Evitați orice contact cu ochii, pielea și mucoasele.
- Azida de sodiu poate reacționa cu instalațiile din plumb sau cupru pentru a forma azide metalice care sunt substanțe foarte explozive. Spălați instalațiile cu o cantitate mare de apă dacă reactivii sunt aruncați în chiuvetă.

8. MOD DE UTILIZARE

1) PREPARAREA PROBEI

Probele ar trebui să fie pure și proaspete. Se recomandă următoarele medii pentru izolare:

- **Agaruri:**

Trypto-casein-soy agar

Columbia agar + sange de berbec

Columbia agar

Blood agar

Mannitol salt agar

Baird-Parker mediu cu suplimenti

Folositi coloratia Gram si testul catalazei pe coloniile din cultura.Coloniile testate cu reactivul PASTOREX STAPH PLUS ar trebui sa fie coci Gram pozitivi catalazo-pozitivi.

2) REACTIA DE AGLUTINARE

1. Omogenizati perfect reactivii latex prin agitare.Daca este necesar folositi vortexul.
2. Puneti o picatura din reactivul latex test intr-un cerc de pe cardul de aglutinare.
3. Puneti o picatura din reactivul latex control negative in alt cerc.
4. Luati cu o ansa sau o bagheta de plastic,1-3 colonii Gram pozitive catalazo-pozitive,si amestecati-le in picatura de latex timp de 10 secunde.
5. Repetati pasul 4 pentru latexul de control negativ.
6. Rotiti usor cardul timp de **30 secunde** si urmariti daca se poate observa cu ochiul liber aglutinarea.
7. Evaluati rezultatele dupa criteriile care urmeaza,apoi aruncati cardul intr-un recipient pentru dezinfectie.Nu refolositi cardul.

9. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Reactia pozitiva

Reactia pozitiva se semnalizeaza cand se formeaza grunji vizibili cu ochiul liber doar la reactivul test,in 30 de secunde de rotire a cardului.Grunjii de particule latex pot avea marimi diferite cu un fond usor roz.

O aglutinare slaba sau usoara poate sa semnifice o aglutinare nespecifica.

Reactia negativa

In cazul unei reactii negative,suspensia este omogena,fara grunji,pastrandu-si aspectul laptos.

Rezultate neinterpretabile

O reactie este neinterpretabila daca proba aglutineaza cu controlul negativ latex.In acest caz,faceti identificarea folosind alta metoda,ca testarea prezentei coagulazei libere si a DNA-zei stabila termic.

10. CONTROLUL DE CALITATE AL TESTULUI

Evaluati reactivul latex la fiecare utilizare prin verificarea absentei oricarei aglutinari la punerea picaturii de latex pe card.Latexul ar trebui testat periodic cu tulpini identificate anterior de Staphylococcus aureus si Staphylococcus epidermidis.Reactivul latex test trebuie sa aglutineze cu Staphylococcus aureus si sa nu aglutineze cu Staphylococcus epidermidis.Latexul de control negativ nu trebuie sa aglutineze cu nici unul dintre cei doi germeni.

11. CONTROLUL DE CALITATE AL PRODUCATORULUI

Toți reactivii produși și comercializați de firma Bio-Rad se află sub sistemul de calitate complet, începând de la recepția materiilor prime și până la vânzarea produsului.

Calitatea fiecărui lot este atent controlată iar acesta este eliberat pe piață numai atunci când îndeplinește criteriile de admitere.

Datele referitoare la producția și controlul fiecărui lot sunt în proprietatea companiei noastre.

12. PERFORMANTELE TESTULUI

Performantele trusei PASTOREX STAPH PLUS au fost evaluate in mai multe laboratoare.S-au testat cu aceasta trusa un total de 440 de tulpini de S.aureus si 138 de tulpini stafilococice,altele decat S.aureus.Pentru identificarea culturilor s-au folosit:coloratia Gram,activitatea catalazei si testul coagulazei in tub.Probele neconcludente au fost testate suplimentar prin analize biochimice si cu un test rapid alternativ.S-a verificat de asemenea susceptibilitatea tulpinilor de S.aureus la metilina.Rezultatele testarii sensibilitatii,pe S.aureus metilicilin-rezistent(MRSA) si S.aureus metilicilin-senzitiv(MSSA),ca si rezultatele pentru toate tulpinile de Staphylococcus aureus,sunt prezentate in tabelul 1.Rezultatele testarii specificitatii,pe tulpini stafilococice altele decat S.aureus sunt prezentate in tabelul 2.

Tabel 1:

Performanta trusei Pastorex STAPH-PLUS pe tulpinile MRSA si MSSA

	Total	Pozitive	Negative	Sensibilitate relativa
MRSA	217*	217	0	100%
MSSA	222	222	0	100%
S.aureus total	439*	439	0	100%

*a fost exclus un rezultat neinterpretabil

S.aureus metilicilin rezistent

Conform tabelului 1, 217 din 217 tulpini de MRSA bine definite au fost identificate corect de trusa PASTOREX STAPH-PLUS.Sensibilitatea trusei pentru MRSA a fost estimata la 100%,excluzand rezultatul neinterpretabil care reprezinta 0,4% din tulpinile analizate.

S.aureus metilicilin sensibil

Toate cele 222 tulpini MSSA au dat un rezultat pozitiv cu PASTOREX STAPH-PLUS,dupa cum se arata in tabelul 2.Sensibilitatea obtinuta pe aceste tulpini MSSA a fost de 100%.

Tabel 2:

Performanta trusei Pastorex STAPH PLUS pe alte tulpini stafilococice

	Total	Pozitive	Negative	Specificitate relative
Alte tulpini stafilococice	138	1	137	99,3%

138 de tulpini stafilococice altele decat S.aureus,cuprinzand S.epidermidis,S.haemolyticus,S.hominis,S.saprophyticus,S.schleiferi,S.lugdunensis,si alte specii,au fost de asemenea analizate cu PASTOREX STAPH-PLUS. Din 138 de tulpini s-a obtinut doar un rezultat pozitiv,dupa cum se arata in tabelul 2. Rezultatul pozitiv a fost identificat ca S.lugdunensis si a iesit de asemenea pozitiv cu un test rapid alternativ.

13. LIMITELE TEHNICII

S-a raportat ca Staphylococcus lugdunensis si Staphylococcus schleiferi poseda un factor de afinitate fata de fibrinogen care poate reactiona cu testul pentru factorul de agregare,in functie de tulpini si de mediul de cultura.Intru-cat anumite tulpini stafilococice provoaca agregarea nespecifica a particulelor de latex,in special Staphylococcus saprophyticus,se recomanda folosirea controlului latex din trusa pentru fiecare microorganism testat.Staphylococcus intermedius si Staphylococcus hyicus,care fac parte din patologia animala dar se izoleaza extrem de rar si la om,pot da o reactie

pozitiva la testele clasice de coagulaza,astfel incat,teoretic ar putea reactiona si cu testele de detectie a afinitatii fata de fibrinogen.

Nu trebuie sa uitam posibilitatea aparitiei reactiilor incrucisate. Anumiti streptococi poseda o proteina cu afinitate pentru fragmentele Fc ale imunoglobulinelor astfel incat poate reactiona cu latexul.Reactii nespecifice ale tehnicilor latex au fost de asemenea raportate pentru mai multe specii de Escherichia coli si Candida albicans.Se recomanda sa se faca o coloratie Gram si testul catalazei inainte de a fi testate coloniile cu testul latex.

Reactii fals negative pot aparea daca Staphylococcus aureus izolat nu produce factorul de afinitate fata de fibrinogen(factorul de agregare),proteina A,sau polizaharidele capsulare fata de care apar anticorpii monoclonali specifici.Rezultate fals negative mai pot aparea in cazul unui inocul insuficient.