

PROLEX™ STAPH XTRA LATEX KIT

IMPIEGO PREVISTO

Prolex™ Staph Xtra Latex Kit è un test rapido per la differenziazione degli stafilococchi (in particolare *Staphylococcus aureus*) e *S.aureus* meticillino resistenti (MRSA) dalle altre specie di stafilococchi, dopo essere stati coltivati su terreni appropriati.

INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST

Sebbene la maggior parte delle specie di *Staphylococcus* colonizzino normalmente la pelle e le membrane mucose, alcune specie sono state frequentemente riconosciute come agenti eziologici di una varietà di infezioni umane ed animali.

Le infezioni superficiali purulente causate da *S. aureus* sono le infezioni stafilococciche umane più comuni.¹ Anche alcune tossinfezioni alimentari e la sindrome da shock tossico sono state attribuite ad infezione da *S. aureus*.²

Essers e Radebold³ hanno descritto un test rapido di agglutinazione su vetrino che si è dimostrato affidabile per l'identificazione di *S. aureus* nelle pratiche microbiologiche di routine. Questi tipi di test danno risultati affidabili ma possono dare falsi negativi con certi ceppi di MRSA, un fenomeno si pensa dovuto all'espressione degli antigeni capsulari 5 e 8^{4,5}. L'efficacia dei reagenti al lattice contenenti fibrinogeno e IgG sono accresciute dall'aggiunta di un antigene IgG che è specifico i tipi capsulari 5 e 8 di *S.aureus*.

PRINCIPIO DEL METODO

Prolex™ Staph Xtra Latex Kit utilizza particelle di lattice di polistirene sensibilizzate con fibrinogeno ed antigeni IgG che sono specifici per i tipi capsulari 5 e 8 di *S.aureus*. Quando le colonie di stafilococchi che possiedono almeno uno dei fattori di agglutinazione, proteina A e/o antigeni capsulari 5 e 8 sono mescolate con il reagente al lattice, le particelle di lattice agglutinano in modo marcato entro 20 secondi.

REAGENTI

Staph Xtra Latex Reagent (Reattivo al Lattice PL.1083/PL.1084): due provette, contenenti ciascuna 2.5 ml (kit 100 test – 17PL1080) o 7.5 ml (kit 300 test – 17PL1081) di particelle di lattice rivestite di IgG di coniglio che riconoscono i tipi capsulari 5 e 8 di *S.aureus* e fibrinogeno umano. Le particelle sono risospese in tampone contenente 0.098% di sodio azide come conservante.

Negative Control Latex Reagent (Controllo Negativo PL.1085/PL:1086): una provetta contenente 2.5 ml (17PL1080) o 7.5 ml (17PL1081) di particelle di lattice non rivestite sospese in tampone contenente 0.098% di sodio azide come conservante.

AVVERTENZE

1. Non usare i reagenti dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta.
2. I reagenti contengono sodio azide. Il composto può reagire in modo esplosivo con rame o piombo se lasciato accumulare. Benché la quantità di sodio azide nei reagenti sia minima, è necessario utilizzare una grande quantità di acqua quando si scaricano nel lavandino i reagenti utilizzati.
3. È opportuno seguire appropriate misure di sicurezza nel maneggiare, processare ed eliminare tutti i campioni clinici in quanto potrebbero essere presenti organismi patogeni.
4. I materiali di origine umana utilizzati nella preparazione del reagente sono stati analizzati e sono risultati negativi per anticorpi contro gli antigeni HIV e HBs. Tuttavia, la concentrazione di tali materiali nel reagente è molto bassa e nessun metodo conosciuto può offrire la garanzia completa dell'assenza di agenti infettivi. Il reagente deve pertanto essere manipolato con le stesse misure precauzionali adottate per la manipolazione di qualsiasi materiale potenzialmente infetto.
5. I reagenti al lattice contengono materiale di origine animale e devono essere maneggiati come potenziali trasportatori e trasmettitori di malattie.
6. Il kit è destinato esclusivamente ad uso diagnostico *in vitro*.
7. Non congelare i reagenti.
8. Per ottenere risultati attendibili, è necessario seguire scrupolosamente le procedure, le condizioni di conservazione, le precauzioni e le limitazioni specificate nelle presenti istruzioni.

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

La durata del kit è di 12 mesi dalla data di produzione. La data di scadenza è indicata sull'etichetta della confezione e sulle etichette delle provette. Tutti i componenti del kit devono essere conservati a 2-8 °C. Non congelare.

RACCOLTA DEI CAMPIONI E PREPARAZIONE DELLE COLTURE

Per le procedure specifiche di raccolta e preparazione delle colture primarie fare riferimento ad un manuale di normali tecniche microbiologiche. In generale, devono essere utilizzate colonie di ceppi Gram-positivi cresciuti su terreni non selettivi, come agar-sangue, dopo 18-36 ore di incubazione.

MATERIALE FORNITO

- Staph Xtra Latex Reagent.
- Negative Control Latex Reagent.
- Card usa e getta con 10 cerchi marcati da 1 a 10.
- Bastoncini di miscelazione usa e getta.

MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

1. Cronometro
2. Ceppi di controllo ATCC raccomandati per il controllo di qualità:
Controllo positivo: *S.aureus* ATCC# 25923
Controllo negativo: *S. epidermidis* ATCC# 12228

PROTOCOLLO

1. Portare i reagenti a temperatura ambiente (22-28 °C) per circa 10 minuti prima dell'uso.
2. Prima dell'uso, agitare il reagente in modo da risospendere le particelle di lattice.
3. Dispensare una goccia di Staph Xtra Latex Reagent su cerchi separati della Test Card.
4. Prendere un bastoncino usa e getta e trasferire due colonie in ciascun cerchio. Mescolare con il reagente già presente e distribuire sull'intera area del cerchio.
5. Inclinare delicatamente la Test Card in modo da consentire alla miscela di scorrere lentamente all'interno del cerchio.
6. Dopo 20 secondi, in normali condizioni di illuminazione, osservare l'eventuale presenza di agglutinazione.
7. Nel caso di risultato positivo, ripetere i passaggi da 2 a 6 nello stesso modo, utilizzando il Negative Control Latex Reagent.

PROCEDURA PER CONTROLLO QUALITA'

La seguente procedura è raccomandata per controllare l'attività dei reagenti:

1. Test con ceppi noti positivi, come *S.aureus* ATCC#25923, in accordo con il protocollo del Test. L'organismo deve agglutinare entro 20 secondi. Non ci deve essere agglutinazione con i reagenti del controllo negativo.
2. Test con ceppi noti negativi, come *S.epidermidis* ATCC#12228, in accordo con il protocollo del Test. Non deve esistere agglutinazione visibile con i reagenti del test Staph Xtra Latex e con i reagenti del test Negative Control Latex entro 20 secondi

Non usare il kit se le reazioni con gli organismi di controllo non sono corrette.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Risultati positivi: forte aggregazione significativamente rapida (entro 20 secondi) con Staph Xtra Latex Reagent e nessuna agglutinazione con il Negative Control Latex Reagent. Reazioni avvenute dopo 20 secondi e oltre non devono essere prese in considerazione.

Risultati negativi: aspetto lattiginoso senza una visibile agglutinazione delle particelle di lattice.

Risultati non interpretabili: se un organismo agglutina sia con i reagenti Staph Xtra Latex e con il Negative Control Latex il test è non interpretabile. Questo indica che la coltura causa agglutinazione.

LIMITI DEL METODO

1. Falsi positivi o falsi negativi possono verificarsi qualora vengano utilizzati quantitativi non appropriati di coltura batterica o di reagente.
2. Alcuni rari isolati di stafilococchi, in particolare *S. hycus* e *S. intermedius*, possono agglutinare il reagente.⁶
3. Alcuni streptococchi e potenzialmente anche altri organismi che possiedono fattori di legame alle immunoglobuline e alcune specie come *Escherichia coli* possono agglutinare i reagenti in modo aspecifico⁷.

SENSIBILITÀ E SPECIFICITÀ DEL KIT

Prolex™ Staph Xtra Kit è stato analizzato in uno studio che comprendeva 50 ceppi di riferimento di *S.aureus*, includendo 5 ceppi di tipi capsulari 5 e 8 che non sono stati identificati dai reagenti di Staph Latex che identificano gli organismi che esprimono solo gli agenti di aggregazione e/o la proteina A, e 9 ceppi di referenza di *Staphylococcus* coagulasi negativi. Il kit Prolex™ Staph Xtra Latex identifica correttamente tutti i ceppi identificati nello studio indicando che il kit ha una sensibilità del 100% e una specificità del 100%. In uno studio separato kit Prolex™ Staph Xtra Latex è stato valutato utilizzando 50 ceppi di MRSA e 50 ceppi di *S.aureus* meticillino sensibili. Il kit Prolex™ Staph Xtra Latex ha identificato correttamente tutti i ceppi nello studio evidenziando una sensibilità ed una specificità del 100%.

BIBLIOGRAFIA

1. Schleifer, K.H., and Kloos, W.E. (1975). Int. J. Syst. Bacteriol. 25: 50-61.
2. Schlievert, P.M., Shands, K.N., Dan, B.B., Schmid, G.P. and Nishimura, R.D. (1981). J. Infect. Dis. 143: 509-516.
3. Essers, L. and Radebold, K. (1980). J. Clin. Microbiol. 12: 641-643.
4. Fournier J M, Boutonnier A and Bouvet A. (1989). J. Clin Microbiol. ;27 :1372-1374
5. Fournier J M, Bouvet A, et al. (1987). J. Clin Microbiol. 25 :1932-1933

6. Phillips, W. and Kloos, W. (1981). J. Clin. Microbiol. 14: 671-673.
7. Myhre, E.B. and Kuusela, P. (1983). Inf. Imm. 40: 29-34.

PRODUTTORE Prolab Diagnostic, Canada

CONFEZIONE

17PL1080	Prolex Staph Xtra Latex kit	100 test
17PL1081	Prolex Staph Xtra Latex kit	300 test

