

#### IMPIEGO PREVISTO

Il Prolex™ Staph Latex Kit fornisce una piattaforma rapida per l'identificazione delle specie stafilococciche isolate e nello specifico lo *Staphylococcus aureus* che possiedono la coagulasi legata (elemento di coagulasi) e / o la proteina A di altre specie di stafilococchi.

#### INTRODUZIONE E SPIEGAZIONE

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.<sup>1</sup> Anche tossinfezioni alimentari, setticemie, sindrome da shock tossico e molte altre condizioni sono state attribuite ad infezione da *S. aureus*.<sup>2</sup> Essers e Radebold 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.<sup>3,6</sup>

#### PRINCIPIO DEL METODO

Il Prolex™ Staph Latex Kit utilizza particelle di lattice di polistirene blusensibilizzate con fibrinogeno ed IgG. Quando le colonie di stafilococchi che possiedono la coagulasi legata (elemento di coagulasi) e/o la proteina A sono mescolate con il reagente, le particelle di lattice agglutineranno in modo marcato entro 20 secondi.

#### MATERIALI FORNITI

- **Staph Test Latex Reagent (PL.083B / PL.084B):** due flaconi con contagocce, contenenti ciascuna 2,5 ml (kit per 100 analisi 001 PL.080B) o 7,5 ml (kit per 300 analisi 002 PL.081B) di particelle di lattice rivestite di IgG e fibrinogeno umano. Le particelle di lattice sono risospese in tampone contenente 0,098% sodio azide come conservante.
- **Reagente al lattice con controllo negativo (PL.085B / PL.086B):** un flacone con contagocce contenente 2,5 ml (PL.080B) o 7,5 ml (PL.081B) di particelle di lattice non rivestite sospese in tampone contenente 0,098% sodio azide come conservante.
- Test card
- Mixing stick
- Istruzioni per l'uso

#### MATERIALE NECESSARIO, MA NON FORNITO

- Ago o ansa per inoculazione
- Timer

#### STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Tutti i componenti del kit devono essere mantenuti ad una temperatura compresa tra 2 e 8°C. I reagenti conservati in queste condizioni resteranno stabili fino alla data di scadenza riportata sulle etichette del prodotto. **Non congelare.**

#### AVVERTENZE

1. Non usare i reagenti oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.
2. I reagenti contengono una minima quantità di sodio azide. Il sodio azide può reagire in modo esplosivo con le condutture in 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. Per la manipolazione, la lavorazione e lo smaltimento di tutti i materiali utilizzati per eseguire il test è necessario adottare precauzioni universali.
4. Il kit è destinato esclusivamente ad uso diagnostico *in vitro*.
5. Per ottenere risultati attendibili, è necessario seguire scrupolosamente le procedure, le condizioni di conservazione, le precauzioni e le limitazioni

descritte in queste istruzioni.

6. Questi reagenti contengono materiali di origine umana o animale e devono essere manipolati come potenziale portatori e trasmettitori di malattie.

#### 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, per il test sono preferibili colonie di ceppi cresciuti su terreni non selettivi quali agar-sangue dopo 18-24 ore di incubazione. Studi clinici hanno tuttavia dimostrato che questo test funziona se il ceppo viene isolato da terreni cromogenici. L'utilizzatore deve sempre verificare che il test dia i risultati previsti qualora per la coltura iniziale del campione si utilizzi un terreno di coltura diverso dall'agar sangue.

#### PROTOCOLLO DEL TEST

1. Togliere il kit dal frigorifero 10 minuti prima dell'uso e attendere che i reagenti al lattice raggiungano la temperatura ambiente.
2. Risospendere il reagente al lattice capovolgendo più volte il flacone con contagocce.
3. Erogare 1 goccia di Staph Test Latex Reagent in un cerchio sulla test card.
4. Utilizzando un'ansa o un ago sterile trasferire due colonie del ceppo da testare nel 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 nell'intero cerchio.
6. Osservare la presenza di agglutinazione per max. 20 secondi.
7. Il kit contiene anche un Negative Control Latex Reagent da utilizzarsi conformemente alle esigenze del cliente.

#### PROCEDURE DI CONTROLLO QUALITÀ

- A. Per verificare le prestazioni dei reagenti si consiglia di eseguire le seguenti procedure:
  1. Sottoporre a test un ceppo positivo noto come ad esempio *S. aureus* ATCC n. 25923 o equivalente attenendosi al protocollo. L'organismo deve agglutinare lo Staph Test Latex Reagent entro 20 secondi. Non deve invece verificarsi alcuna agglutinazione con il Negative Control Latex Reagent.
  2. Sottoporre a test un ceppo negativo noto come ad esempio *S. epidermidis* ATCC n. 12228 o equivalente attenendosi al protocollo. Non deve verificarsi alcuna agglutinazione visibile dello Staph Test Latex Reagent e dei Negative Control Latex Reagent entro 20 secondi.
  3. Non utilizzare il kit se le reazioni degli organismi di controllo non sono corrette.
- B. Procedura CQ supplementare (Opzionale)  
 Staph Positive Control (PL.089B / 1 ml volume) è disponibile per la vendita e può essere usato con il Prolex™ Staph Latex Kit. La seguente procedura viene utilizzata combinata con questo reagente:
  1. Siglare due cerchi sulla test card (uno come positivo e uno come negativo).
  2. Erogare una goccia di Staph Test Latex Reagent nel cerchio siglato come positivo.
  3. Erogare una goccia di Staph Negative Control Latex Reagent nel cerchio siglato come negativo.
  4. Erogare una goccia di Controllo Positivo in entrambi i cerchi positivo e negativo e mescolare per coprire completamente i cerchi.
  5. Esaminare la presenza di agglutinazione entro 20 secondi.
  6. Il Controllo Positivo deve agglutinare lo Staph Test Latex Reagent entro 20 secondi. Non deve invece verificarsi alcuna agglutinazione con il Negative Control Latex Reagent. Non utilizzare i reagenti se i risultati ottenuti con i controlli non sono corretti.

#### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

- **Risultato positivo:** Forte agglutinazione entro 20 secondi con il Staph Test Latex Reagent. In caso di utilizzo di un controllo negativo non dovrebbe esserci alcuna agglutinazione con il Negative Control Latex Reagent. La coagulasi avvenuta dopo 20 secondi e oltre non deve essere presa in considerazione.
- **Risultato negativo:** Nessuna agglutinazione visibile delle particelle di Staph Test Latex Reagent.
- **Risultato non risolutivo:** In caso di comparsa di una debole aggregazione o di una reazione aspecifica (viscosità) all'interno del cerchio dopo 20 secondi, ripetere il test utilizzando una sottocoltura fresca. Se dopo il nuovo test si ottiene lo stesso risultato, utilizzare strumenti biochimici per identificare l'isolato.
- **Risultato non interpretabile:** Se l'isolato agglutina sia con il Prolex™ Staph Latex che con il Negative Control Latex, il test non è interpretabile.

#### LIMITI DEL METODO

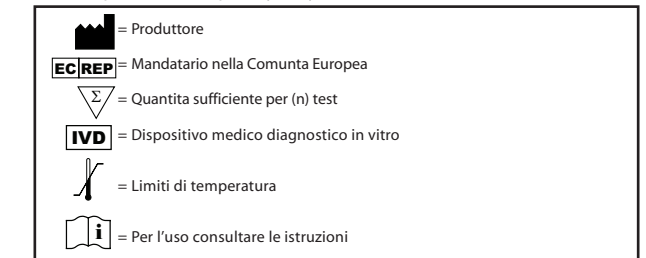
1. Falsi positivi o falsi negativi possono verificarsi qualora vengano utilizzati quantitativi non appropriati di coltura batterica o di reagente;
2. Alcuni rari isolati di stafilococchi, in particolare *S. hyicus* e *S. intermedius*, possono agglutinare il reagente.<sup>4</sup>
3. Anche alcuni streptococchi e potenzialmente altri organismi che possiedono fattori di legame alle immunoglobuline e alcune specie come *Escherichia coli* possono agglutinare i reagenti in modo aspecifico.<sup>5</sup>

#### PERFORMANCE DEL METODO

Il Prolex™ Staph Latex Kit (PL.080B/PL.081B) è stato analizzato nel Dipartimento di Microbiologia Clinica di un ospedale del Regno Unito. Sono stati testati un totale di 100 ceppi noti (50 MSSA, 30 MRSA e 20 CNS). I ceppi erano cresciuti in terreno cromogenico. I test per coagulasi e DNase sono stati utilizzati per confermare lo *Staphylococcus* e le strisce di meticillino su terreno nutriente per confermare l'MRSA. I CNS sono stati identificati da metodo multipoint oppure API. Il PL.080B/PL.081B ha identificato correttamente tutti i ceppi di *Staphylococcus aureus* come positivi e tutti i CNS hanno dato risultato negativo. In questo studio si è riscontrato che il Prolex™ Staph Latex Kit ha una sensibilità del 100% e 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. Phillips, W. and Kloos, W. (1981). J. Clin. Microbiol. 14: 671-673.
5. Myhre, E.B. and Kusela, P. (1983). Inf. Imm. 40: 29-34.
6. Berke, A. and Tilton, R.C. (1986). J. Clin. Microbiol. 23: 916-919.



**Le presenti istruzioni per l'uso sono state accuratamente tradotte dalla versione originale in lingua inglese. In caso di ambiguità o apparente discrepanza rivolgersi al servizio assistenza Pro-Lab.**

Revisione: 2023 01