

M43 MICROGEN STAPH

Przeznaczenie testu

MICROGEN® Staph jest szybkim testem lateksowym do potwierdzenia identyfikacji prawdopodobnych kolonii *Staphylococcus aureus* z podłożu wzrostowych.

Zasada testu

Cząsteczki lateksowe są pokryte fibrynogenem (do którego wiąże się koagulaza) i IgG (które wiążą się z białkiem A). Po zmieszaniu z zawiesiną *S. aureus* cząsteczki lateksowe błyskawicznie reagują tworząc zauważalne agregaty. Żadna zauważalna aglutynacja nie zachodzi w nieobecności posiadających koagulazę/białko A gronkowców.

Zawartość opakowania

- Odczynnik M43a odczynnik lateksowy na gronkowce:

M43	5 ml
M433	5 x 5 ml

 Cząsteczki lateksowe pokryte ludzkim fibrynogenem i IgG konserwowane 0,099% roztworem azydku sodowego (niebieska nakrętka).
- Kontrola (+) M43b kontrola dodatnia:

M43	1 ml
M433	2 x 1 ml

 Inaktywowany preparat *S. aureus* konserwowany 0,099% roztworem azydku sodowego (czarna nakrętka).
- Instrukcja użycia
- Jednorazowe kartoniki aglutynacyjne
- Jednorazowe pałeczki do mieszania

Dodatkowe materiały wymagane ale nie wchodzące w skład zestawu

- Ezy bakteriologiczne.

Środki ostrożności

Środki bezpieczeństwa:

1. Odczynniki dostarczone w tym zestawie przeznaczone są tylko do diagnostyki *in vitro*. Azydek sodowy, który służy do konserwowania odczynników w zestawie, może reagować z ołowianą lub miedzianą instalacją kanalizacyjną, tworząc potencjalnie wybuchowe azydki metali. Utylizować zalewając dużą objętością wody, aby zapobiec osadzaniu się azydków.
2. IgG i fibrynogen użyte do uczulenia cząsteczek lateksu otrzymano z ludzkiej plazmy, która po przebadaniu okazała się ujemna na obecność przeciwciał przeciw HIV-1, HIV-2 i HbsAg. Pomimo tego powinno się odczynnik traktować jak materiał potencjalnie zakaźny.
3. Należy podjąć odpowiednie środki ostrożności podczas pracy i utylizacji potencjalnych patogenów. Dekontaminację materiału zakaźnego powinno się przeprowadzać przy pomocy podchlorynu sodowego w końcowym stężeniu 3% przez 30 min. Ścieki płynne zawierające kwasy należy zneutralizować przed wylaniem.
4. Kontrola dodatnia została inaktywowana w czasie procesu wytwarzania. Jednak powinna być traktowana jak materiał potencjalnie zakaźny.

Środki proceduralne:

1. MICROGEN Staph powinien być używany zgodnie z dołączoną instrukcją.
2. Pozwolić wszystkim odczynnikiem na osiągnięcie temperatury pokojowej przed użyciem.
3. Nie rozcieńczać żadnego odczynnika z zestawu.
4. Nie mieszać odczynników z różnych partii i zestawów.
5. Nie zamrażać żadnych odczynników.
6. Uważać, żeby zakraplacz z odczynnikiem lateksowym nie dotknął kontroli dodatniej lub próbek bakteriologicznych.
7. Zachować ostrożność podczas zapisywania wyników aglutynacji. Reakcje, które są zbyt silne lub „włókniste” mogą nie być prawdziwą aglutynacją.
8. Przed użyciem upewnić się, że karta jest czysta i sucha.

Przechowywanie i termin ważności

MICROGEN Staph powinien być przechowywany w temp. 2 - 8°C, kiedy nie jest używany. Zestawu nie należy używać po upływie daty ważności wydrukowanej na naklejce na kartonie.

Materiał do badania

Wybrać 1 - 2 izolowane kolonie rosnące przez 18 - 24 godz. w temp. 35 - 37°C na podłożu do izolacji wstępnej, takim jak agar z 5% krwi. Morfologia badanych drobnoustrojów powinna przypominać morfologię *S. aureus*. Powinno się badać pojedyncze czyste kolonie, aby zminimalizować możliwość błędnych wyników. Jeżeli to konieczne, rozizolować szczep na nowej płycie agarowej. Bakterie z kolonii o atypowej morfologii sprawdzić pod względem barwienia metodą Grama, aby zwiększyć prawdopodobieństwo, że wybrano do badania gronkowce.

Sposób wykonania

Kontrola jakości:

1. Kontrola dodatnia: dodać jedną kroplę kontroli dodatniej (M43b) do kółka na karcie testowej. Wymieszać lateks MICROGEN Staph przez delikatne odwracanie buteleczki i dodać 1 kroplę do tego samego kółka na karcie reakcyjnej; zamieszać pałeczką. Nie pozwolić, żeby zakraplacz dotknął do kontroli dodatniej. Delikatnie obracać kartę. Po 2 minutach powinna uwidocznić się aglutynacja, wskazująca na wynik dodatni. Jeżeli nie widać aglutynacji, powinno się użyć nowy zestaw.
2. Kontrola ujemna: wymieszać lateks MICROGEN® Staph przez delikatne odwracanie buteleczki i dodać 1 kroplę do kółka na karcie reakcyjnej. Pobrać jedną świeżą (18-24 godz.) kolonię znanego gronkowca koagulazo-ujemnego, np. *Staphylococcus epidermidis* i zawiesić ją w kropli odczynnika lateksowego na karcie. Delikatnie obracać kartę przez 2 minuty. Nie powinna zająć żadna aglutynacja.

Procedura badawcza:

1. Wymieszać lateks MICROGEN Staph przez delikatne odwracanie buteleczki i dodać 1 kroplę do kółka na czystej, suchej karcie reakcyjnej.
2. Pobrać jałową eż jedną kolonię badanego szczepu i zawiesić w kropli odczynnika lateksowego na karcie. Rozprowadzić na powierzchni kółka pałeczką do mieszania.
3. Delikatnie obracać kartę przez 2 minuty i obserwować czy pojawia się aglutynacja.
4. Po odczycie wrzucić zużyte karty i pałeczki do roztworu odpowiedniego środka dezynfekcyjnego.

Interpretacja wyników

Aglutynacja po 2 minutach jest wynikiem dodatnim i wskazuje na obecność *S. aureus*. Brak aglutynacji wskazuje na nieobecność *S. aureus* i innych szczepów gronkowców koagulazo- dodatnich, posiadających białko A.

Ograniczenia testu

1. Wyniki należy interpretować w połączeniu ze wszystkimi dostępnymi informacjami laboratoryjnymi i klinicznymi.
2. Badać tylko czyste, pojedyncze kolonie, ponieważ mieszane kolonie mogą dawać błędne wyniki.
3. Hodowle starsze od 30-godzinnych mogą dawać autoaglutynację.
4. Podłoża o wysokiej zawartości soli, takie jak Mannitol Salt Agar, hamują wytwarzanie białka A, co może prowadzić do fałszywie ujemnych wyników.
5. Szorstkie szczepy gronkowców mogą dawać fałszywie dodatnie reakcje. Szczepy te spotyka się rzadko i można je odróżnić od gładkich szczepów po morfologii kolonii. Obecność szczepu szorstkiego można potwierdzić przez zawieszenie kolonii w soli fizjologicznej i sprawdzenie, czy zawiesina jest gładka, czy nie.
6. Włóknista reakcja na karcie może nie być prawdziwą reakcją dodatnią. Wymagane są dalsze testy biochemiczne.
7. Pewne drożdżaki mogą dawać fałszywie dodatnie wyniki.
8. Wszystkie koagulazo- dodatnie gronkowce reagują z MICROGEN® Staph i dlatego *S. aureus* nie można w ten sposób odróżnić od *S. intermedius* i *S. hyicus*. Jednak te dwa ostatnie gatunki rzadko izoluje się z materiałów od ludzi. Częściej izoluje się je od zwierząt lub są saprofitami.
9. MICROGEN Staph jest przeznaczony do identyfikacji wstępnej *S. aureus*.
10. Identyfikacje kolonii dających wyniki dodatnie powinno się potwierdzić testami biochemicznymi.

Charakterystyka porównawcza

Porównano MICROGEN Staph z dobrze znanym dostępnym w handlu lateksowym testem aglutynacyjnym dla *S. aureus*. Badano przy pomocy obu testów 121 szczepów *S. aureus* i innych ściśle spokrewnionych szczepów gronkowcowych oraz 56 potencjalnie reagujących krzyżowo bakterii.

		MICROGEN Staph		ogółem
		dodatnie	ujemne	
Test komercyjny	dodatnie	63*	0	63
	ujemne	0	114	114
Ogółem		63	114	177

Czułość: $63/63 = 100\%$

Swoistość: $114/114 = 100\%$

Zgodność: $177/177 = 100\%$

Spośród 63 szczepów z tej grupy, 9 reagowało krzyżowo z obu testami. Były to szczepy *C. diversus* (1), *A. baumannii* (2), *P. stuartii* (1), *B. cereus* (2), *K. oxytoca* (1), *paucicellulosa* (2). Jednak wszystkie wyżej wymienione szczepy albo nie rosły, albo miały bardzo nietypową morfologię, kiedy hodowano je na podłożach wybiórczych dla gronkowców. W przypadku *B. cereus* aglutynacja była nietypowa (włóknista).

Odtwarzalność

Odtwarzalność w obrębie serii ustalono badając czułość i swoistość testów z jednej serii dla rozcieńczeń seryjnych antygenów szczepów referencyjnych i antygeny kontrolnego z zestawu oraz dla panelu materiałów bakteryjnych. Różni operatorzy wykonywali testy przy 3 różnych okazjach. Końcowe rozcieńczenia otrzymane dla antygenów szczepów referencyjnych i kontroli dodatniej oraz wyniki jakościowe dla panelu badanego były identyczne dla wszystkich trzech oznaczeń.

Odtwarzalność dla różnych serii badano oznaczając czułość i swoistość 3 serii produktu dla seryjnych rozcieńczeń antygenów szczepów referencyjnych i kontroli dodatniej oraz dla panelu materiałów bakteryjnych. Nie zaobserwowano rozbieżności pod względem końcowego miana dla 3 serii, a wyniki jakościowe dla panelu szczepów były zgodne w 100%.



Microgen Bioproducts Ltd
1 Admiralty Way, Camberley
Surrey, GU15 3DT