

STAPHYTECT PLUS

REF DR0850

ES

1. UTILIDAD

Staphytest Plus™ es una prueba de aglutinación de látex¹ en porta para la diferenciación de *Staphylococcus aureus* que poseen el factor de agregación (“clumping factor”), Proteína A y cierto polisacárido capsular encontrado en las cepas meticilín-resistentes MRSA (del inglés “methicillin-resistant” *S. aureus*), de aquellos que no poseen estas propiedades.

2. PRINCIPIOS DE LA PRUEBA

Tradicionalmente, la diferenciación entre estafilococos coagulasa positivos y coagulasa negativos ha venido realizándose mediante la prueba de coagulasa en tubo que detecta la estafilocoaagulasa extracelular o bien mediante pruebas de coagulasa en portaobjetos que detectan la coagulasa unida (“clumping factor”) presente en la superficie celular bacteriana. También hay otras pruebas disponibles incluyendo la de hemaglutinación pasiva (Staphylase DR-595 de Oxoid) y la prueba de DNasa. Alrededor del 97% de las cepas de *Staphylococcus aureus* de procedencia humana poseen ambas coagulasas, la unida y la estafilocoaagulasa extracelular. La Proteína A se encuentra en la superficie celular de aproximadamente el 95% de los *S. aureus* humanos y tiene la facultad de unirse al fragmento Fc de la inmunoglobulina G (IgG)².

Ciertas cepas de *S. aureus* meticilín-resistentes (MRSA) pueden expresar cantidades indetectables de factor de agregación (“clumping factor”) y de Proteína A^{3,4,5}. No obstante, se ha

observado que todas esas cepas poseen polisacárido capsular⁶. La cápsula puede enmascarar tanto a la Proteína A como al “clumping factor” obstaculizando la aglutinación. Staphytest Plus utiliza partículas de látex azules unidas a fibrinógeno porcino e IgG de conejo que incluyen anticuerpos policlonales frente a los polisacáridos capsulares de *S. aureus*^{7,8}.

Cuando el reactivo se mezcla en una tarjeta de reacción con colonias de *S. aureus*, se produce una aglutinación porreacción entre (i) el fibrinógeno y el “clumping factor”, (ii) el fragmento Fc de la IgG y la Proteína A, (iii) la IgG específica y el polisacárido capsular. La aglutinación puede darse con otras especies que posean “clumping factor” o Proteína A, como *Staphylococcus hyicus* y *Staphylococcus intermedius*. Si no está presente el “clumping factor”, la Proteína A ni los polisacáridos capsulares específicos, no se producirá aglutinación y el resultado será considerado como negativo. Los aislamientos de estafilococos más frecuentemente coagulasa y Proteína A negativos son *Staphylococcus epidermidis*.

3. COMPONENTES DEL EQUIPO (DR850M)


DR851M Staphytest Plus, Reactivo de Prueba (5,6 ml).

Partículas azules de látex con fibrinógeno porcino e IgG de conejo junto a anticuerpos policlonales específicos frente a polisacáridos capsulares de *S. aureus*. Cada frasco contiene reactivo suficiente para ∇ 100 pruebas.

DR852M Staphytest Plus, Reactivo de Control (5,6 ml).

Partículas de látex azules no 20 sensibilizadas. Cada frasco contiene reactivo para ∇ 100 pruebas.

DR500G Tarjetas de Reacción. Cada equipo contiene 35 Tarjetas de Reacción desechables.

 Folleto de instrucciones.

4. MATERIAL REQUERIDO Y NO SUMINISTRADO

Cronómetro

Asa microbiológica

Desinfectante apropiado

Control positivo: cepa de *S. aureus*, como ATCC 25923


Control negativo: cepa de *S. epidermidis*, como ATCC 12228.

5. PRECAUCIONES

 Este producto es para diagnóstico in vitro exclusivamente.


No congelar.

Los reactivos contienen 0,095% de azida sódica como conservante. La azida sódica es tóxica y puede reaccionar con el plomo o cobre de las tuberías produciendo azidas metálicas que pueden ser explosivas. Para prevenir su acumulación en las tuberías, dejar correr abundante agua cuando se desechen por esta vía.

Xn	Nocivo
	R22 Nocivo por ingestión.
	S36 Úsese indumentaria protectora adecuada

Las muestras pueden contener microorganismos patógenos. Manipular con las debidas precauciones.

6. CONSERVACIÓN

 El equipo debe conservarse entre 2° y 8°C, protegido de la luz solar directa u otras fuentes de calor. No congelar.

En estas condiciones, los reactivos permanecerán activos hasta la fecha de caducidad que figura en la caja del equipo.

7. PROCEDIMIENTOS DE CONTROL

En cada ocasión en que se utilice el equipo, deben realizarse los siguientes procedimientos de control:

7.1. Control Positivo: Utilizar una cepa conocida de *S. aureus* como la ATCC 25923 (Culti-Loop™ R4607010). Seguir el método que figura en Procedimiento de la Prueba. Asegurarse de que la aglutinación se produce antes de 20 segundos.

7.2. Control Negativo: Utilizar una cepa conocida de *S. epidermidis*, como la ATCC 12228 (Culti-Loop™ R460500). Seguir el método que figura en Procedimiento de la Prueba. Asegurarse de que el reactivo permanece disperso y no aglutinado durante los 20 segundos de la prueba.

No utilizar la prueba si las reacciones con los microorganismos control son incorrectas.

Notas importantes al procedimiento

No permitir que los reactivos se contaminen por permitir que el goteador toque la muestra sobre la tarjeta de reacción.

Asegurarse de que los tapones están bien puestos tras utilizar los reactivos para prevenir la contaminación y la desecación de los mismos.

Después de utilizar el equipo, retornarlo a la nevera asegurándose de que los frascos permanecen boca arriba.

Recoger de la placa de cultivo la suficiente cantidad de microorganismos; si fuera insuficiente, conduciría a resultados falsos negativos.

8. TOMA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Consúltese un manual estándar para conocer los detalles de toma y preparación de las muestras

Se pueden analizar colonias de gérmenes grampositivos, catalasa positiva, obtenidas en alguno de los medios de cultivo siguientes:

Agar Sangre

Agar Nutritivo

Agar Triptona Soja

Agar Triptona Soja con 5% de Sangre

Agar Manitol Sal

Agar Columbia Sangre

Agar Columbia CNA

Agar Mueller-Hinton con 5% de Sangre

Agar Baird-Parker

Agar CLED

Agar Iso.Sensitest

Agar Iso.Sensitest con 5% de Sangre

Agar de Criba de Resistencia a Oxacilina (Oxacillin Resistance Screening Agar) (ORSA).

Se recomienda el uso de cultivos frescos (18 a 36 horas de incubación). La tendencia de las colonias a autoaglutinar 24 aumenta con periodos de incubación superiores a 36 horas.

9. MÉTODO ESTÁNDAR DE LA PRUEBA

9.1. Deje que los reactivos de látex se atemperen al ambiente. Asegúrese de agitarlos vigorosamente y expulse cualquier cantidad residual del gotero, a fin de conseguir una completa mezcla homogénea.

9.2. Dispense una gota de látex de prueba en uno de los círculos de la tarjeta de reacción y una gota del látex de control en el otro círculo.

9.3. Utilice un asa estéril para recoger el equivalente de 5 colonias presuntamente estafilocócicas de tamaño promedio (equivalente a un diámetro de crecimiento de 2–3 mm), obtenidas en una placa de cultivo y emulsiónelas con el Látex de Control. Extienda la mezcla hasta cubrir todo el círculo. Deseche el asa de forma apropiada.

9.4. Utilizando un asa nueva proceda de lamisma manera con el Látex de Prueba.

9.5. Haga girar la tarjeta a mano durante 20 segundos y observe si aparece aglutinación bajo condiciones normales de iluminación. No utilice lentes de aumento.

9.6. Una vez finalizada la prueba, deseche las tarjetas de reacción en un recipiente con desinfectante.

9.7. Método para el Oxacillin Resistance Screening Agar

9.7.1 Igual que en el método estándar.

9.7.2 Utilice un asa estéril para recoger el equivalente de 5 colonias presuntamente estafilocócicas de tamaño promedio (equivalente a un diámetro de crecimiento de 2–3 mm), a partir de la placa de cultivo y extiéndalas por un círculo, formando una capa fina, sin tocar el reactivo delátex.

9.7.3 Añada una gota de látex de control directamente sobre la capa de cultivo para conseguir una suspensión uniforme y mezcle INMEDIATAMENTE.

9.7.4 4–6. Igual que en método estándar.

10. LECTURA E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Resultado positivo

Se considera resultado positivo si se produce la aglutinación de las partículas de látex en un máximo de 20 segundos. Esto indica la presencia de *S. aureus*.

Resultado negativo

Se considera resultado negativo si no se da aglutinación y permanece una suspensión azul homogénea en las áreas de reacción en un máximo de 20 segundos. Esto indica que el aislamiento no es, presumiblemente, de *S. aureus*.

Resultado Equívoco

Una ligera granulación en el látex de prueba sin cambios en al aspecto del látexd e control se interpretará como un resultado equívoco. Se volverán a analizar las cepas después del subcultivo

en un medio no selectivo.

Resultados Ininterpretables

La prueba se considera ininterpretable si el reactivo control muestra aglutinación, lo cual indica que el cultivo es autoaglutinable.

Reacciones Granulares o de Aspecto Fibroso

En ocasiones, pueden verse reacciones granulares o de aspecto fibroso debido a la naturaleza particulada del material de prueba. Cuando se produzcan tales reacciones, deben interpretarse con el siguiente criterio:

El resultado es **positivo** cuando el aclaramiento del fondo azul es mayor con el reactivo de prueba que el que se da con el reactivo control. El resultado es **negativo** cuando no hay cambios significativos en el aclaramiento del fondo azul entre los reactivos de prueba y control.

Deben ignorarse las reacciones que se produzcan después de 20 segundos.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

11.1. La tendencia de las colonias aisladas a la autoaglutinación aumenta con periodos de incubación superiores al recomendado de 36 horas.

11.2. El anticuerpo utilizado en el Staphytest Plus se ha optimizado para evitar la potencial reactividad cruzada con antígenos comunes con los estafilococos coagulasa negativos. Se debe tener en cuenta que ello ha provocado una disminución de

la sensibilidad con algunas razas MRSA tipo 18.¹⁰

11.3. Algunas especies de estafilococos diferentes de *S. aureus*, particularmente *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis*, *S. xylosus*, *S. schleiferi* y *S. haemolyticus*^{11,12,13,14}, pueden producir resultados positivos en pruebas de coagulasa y/o métodos rápidos de aglutinación de látex. En caso necesario, estas especies se pueden diferenciar por métodos bioquímicos, p.e. mediante el uso de una prueba para la determinación de actividad PYR azinamidasa (Oxoid O.B.I.S. PYR ID0580M). *S. aureus* y *S. hyicus* son PYRazinamidasa negativa, mientras que las otras especies antecitadas son positivas^{15,16,17}. *S. hyicus* y *S. intermedius* se aislan muy raramente en el laboratorio clínico.

11.4. Los estafilococos aislados de orina que den un resultado débilmente positivo¹⁸ en el Staphytest Plus pueden ser *Staphylococcus saprophyticus*. Dichos aislados pueden ser identificados mediante pruebas bioquímicas adicionales, como la resistencia a novobiocina (*S. saprophyticus* es resistente a la novobiocina).

11.5. Algunos estreptococos y, con toda probabilidad, otros microorganismos que poseen factores fijadores de inmunoglobulinas o plasma pueden reaccionar en las pruebas de látex y algunas especies, como *Escherichia coli*, son capaces de aglutinar inespecíficamente las partículas de látex^{19,20}. Para evitar estos resultados inespecíficos se debe realizar una tinción de Gram, a fin de garantizar que se está trabajando únicamente con estafilococos típicos.

12. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Se ha llevado a cabo una evaluación del equipo Staphytest Plus

de Oxoid en los estudios que se mencionan a continuación. Sin embargo, obsérvese que el *S. aureus* muestra importantes variaciones antigénicas con respecto a sus distintas localizaciones geográficas.

Estudio Clínico

Se evaluó el método Staphytest Plus de Oxoid en un gran hospital francés, utilizando un total de 299 aislamientos con la coagulasa en tubo como método estándar. En el análisis de los datos que se menciona a continuación, se han omitido los resultados de las cepas conocidas por presentar reacciones cruzadas^{11,12,13,14} y los resultados de las cepas autoaglutinantes (n=283). La sensibilidad relativa fue del 96,5% y la especificidad relativa fue del 97,6%.

Estudio Industrial









Se evaluó el comportamiento de la prueba Staphytest Plus de Oxoid en laboratorios de alimentos, en el marco de un estudio multicéntrico desarrollado en el Reino Unido. Se evaluaron 621 muestras en total, formadas por colonias tomadas de agar Baird-Parker que se habían inoculado con alimentos o material ambiental. El método estándar utilizado fue el de coagulasa en tubo. En el análisis de los datos que se menciona a continuación, se han omitido los resultados de las cepas conocidas por presentar reacciones cruzadas^{11,12,13,14} y los resultados de las cepas autoaglutinantes 31(n=604). La sensibilidad relativa fue del 97,6% y la especificidad relativa fue del 97,1%.

Referencias:

- Essers, L. and Radebold, K. (1980). "Rapid and Reliable Identification of *Staphylococcus aureus* by a Latex Agglutination Test". J. Clin. Microbiol. 12: 641-643.
- Taussig, M. J. (1984). Processes in Pathology and Microbiology. 2nd Edn. 520-530. Blackwell, Oxford.
- Ruane, P. J., Morgan, M. A., Citron, D. M. and Mulligan, M. E. (1986). "Failure of Rapid Agglutination Methods to Detect Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus*". J. Clin. Microbiol. 24: 490-492.
- Roberts, J. I. S. and Gaston, M. A. (1987). "Protein A and coagulase expression in epidemic and nonepidemic *Staphylococcus aureus*". J. Clin. Pathol. 40: 837-840.
- Wanger, A. R., Morris, S. L., Ericsson, C., Singh, K. V. and LaRocco, M. T. (1992). "Latex Agglutination-Negative Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Recovered from Neonates: Epidemiologic Features and Comparison of Typing Methods". J. Clin. Microbiol. 30: 2583-2588.
- Fournier, J. M., Boutonnier, A. and Bouvet, A. (1989). "Staphylococcus aureus Strains Which Are Not Identified by Rapid Agglutination Methods Are of Capsular Serotype 5". J. Clin. Microbiol. 27: 1372-1374.
- Fournier, J. M., Bouvet, A., Boutonnier, A., Audurier, A., Goldstein, F., Pierre, J., Bure, A., Lebrun, L. and Hochkeppel, H. K. (1987). "Predominance of Capsular Polysaccharide Type 5 among Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus*". J. Clin. Microbiol. 25: 1932-1933.
- Karakawa, W. W., Fournier, J. M., Vann, W. F., Arbeit, R., Schneerson, R. S. and Robbins, J. B. (1985). "Method for the Serological Typing of the Capsular Polysaccharides of *Staphylococcus aureus*". J. Clin. Microbiol. 22:445-447.
- Kloos, W. E. and Jorgensen, J. H. (1988). Staphylococci. pp. 143-153. In Manual of Clinical Microbiology. 4th Edn. (Eds) Lennette, E. H., Balows, A., Hausler, W. J. and Shadomy, H. J. Assoc. Amer. Microbiol. Washington.
- Data on file at Oxoid Ltd.

- Jean-Pierre, H., Darbas, H., Jean-Roussenq, A. and Boyer, G. (1989) "Pathogenicity in Two Cases of *Staphylococcus schleiferi*, a Recently Described Species". J. Clin. Microbiol. 27: 2110-2111.
- Freney, J., Brun, Y., Bes, M., Heugnier, H., Grimont, F., Grimont, P. A. D., Nerville, C. and Fleurette, J. (1988). "Staphylococcus lugdunensis sp. nov. and *Staphylococcus schleiferi* sp. nov., Two species from Human Clinical Specimens". Int. J. Sup. Bacteriol. 38: 168-172.
- Phillips, W. E. and Kloos, W. E. (1981). "Identification of Coagulase-Positive *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus hyicus*. subsp. *hyicus* Isolates from Veterinary Clinical Specimens". J. Clin. Microbiol. 14:671-673.
- van Griethuysen, A., Bes, M., Etienne, J., Zbinden, R. and Kluytmans, J. (2001). "An International Multicenter Evaluation of a new Latex Agglutination Test for Identification of *Staphylococcus aureus*". J. Clin. Microbiol. 39: 86-89.
- Schnitzler, N., Rainer, M., Conrads, G., Frank, D. and Haase, G. (1988). "Staphylococcus lugdunensis: Report of a case of Peritonitis and an Easy-To-Perform Screening Strategy". J. Clin. Microbiol. 26: 1939-1949.
- Ann-Herbert, A., Crowder, C. G., Hancock, G. A., Jarvis, W. R. and Thornsberry, C. (1998). "Characteristics of Coagulase-Negative Staphylococci That Help Differentiate These Species of the Family Micrococcaceae". J. Clin. Microbiol. 36: 812-813.
- Gregson, D. B., Low, D. E., Skulnick, M. and Simor, A. E. (1988). "Problems with Rapid Agglutination Methods for Identification of *Staphylococcus aureus* When *Staphylococcus saprophyticus* Is Being Tested". J. Clin. Microbiol. 26:1398-1399.
- Myhre, E. B. and Kuusela, P. (1983). "Binding of Human Fibrinectin to Group A, C and G Streptococci". Infect. Immun. 40: 29-34.
- Runehagen, A., Schonbeck, C., Hedner, H., Hessel, B. and Kronvall, G. (1981). "Binding of Fibrinogen Degradation Products to *S. aureus* and to -Hemolytic Streptococci Group A, C and G". Acta. path. microbiol. Scand., Sect B. 89: 49-55.

DEFINICIONES DE LOS SÍMBOLOS

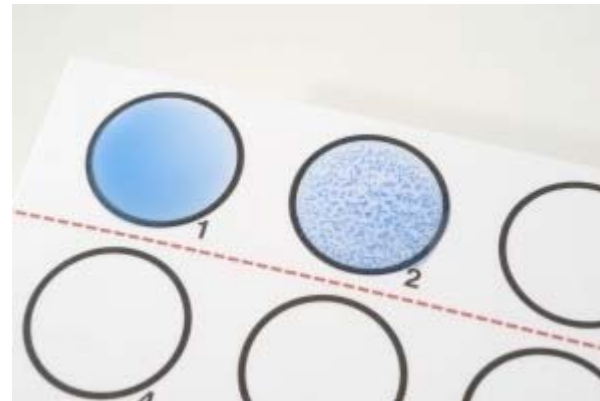
	Nº del catálogo
	Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro
	Para uso en laboratorio
	Consultar las instrucciones de uso
	Límite de temperatura (Temp. de almacenamiento)
	Código del lote (nº de lote)
	Fecha de caducidad
	Fabricado por



Oxoid Ltd Wade Road Basingstoke Hants, RG24 8PW

Para obtener asistencia técnica, por favor póngase en contacto con su distribuidor local.

X5420E revisado abril 2012



SISTEMAS AVANZADOS DE ANÁLISIS, S.L.

CIF: B-47700026

C/ Cardenal Torquemada, 24

Tel. 983 251 143 • 637 596 017

47010 VALLADOLID

www.analisisavanzados.com