

Δοκιμή συγκόλλησης της πενικιλλινοδεσμευτικής πρωτεΐνης (PBP2΄) με λατέξ

REF	DR0900A.....	V50	EL
------------	--------------	------------	-----------

1. ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η δοκιμή αυτή είναι μια ταχεία εξέταση συγκόλλησης με λατέξ για την ανίχνευση της πενικιλλινοδεσμευτικής πρωτεΐνης PBP2΄ (καλούμενης επίσης PBP2a)⁷ σε απομονωμένα στελέχη σταφυλόκοκκου, με σκοπό την ταυτοποίηση του ανθεκτικού στη μεθικιλλίνη *Staphylococcus aureus* (MRSA), καθώς και ανθεκτικών στη μεθικιλλίνη και αρνητικών στην ηηκτάση σταφυλόκοκκων.

2. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Οι σταφυλόκοκκοι είναι η κύρια αιτία νοσοκομειακών λοιμώξεων και λοιμώξεων της κοινότητας σε παγκόσμιο επίπεδο². Σε πολλά ιδρύματα, περίπου το 25% έως 50% των στελεχών (*S. aureus*) και το 75% των αρνητικών στην ηηκτάση σταφυλόκοκκων (CoNS) παρουσιάζουν ανοχή ή σε μεθικιλλίνη¹². Τα στελέχη του MRSA προκαλούν ιδιαίτερη ανησυχία εξαιτίας της ευκολίας με την οποία ορισμένα επιδημικά στελέχη εξαπλώνονται και σχηματίζουν αποικίες σε εξασθενημένους ασθενείς. Για τη θεραπεία των ευαίσθητων στελεχών προτιμάται η χρήση πενικιλινών ανθεκτικών στην πενικιλινάση (PRP) επειδή τα βήτα-λακταμικά φάρμακα απορροφώνται πιο εύκολα στα σωματικά υγρά και τους ιστούς, προκαλούν λιγότερες επιπλοκές και δεν επεκτακά έναντι των ανθεκτικών στη βανκομυκίνη οργανισμών. Συνεπώς είναι σημαντικό ο προσδιορισμός της ανθεκτικότητας στη μεθικιλλίνη να είναι αξιόπιστος.

Τα στελέχη του *S. aureus* με μειωμένη ευαισθησία στην PRP ταξινομούνται ως εξής:

- iii(i) ανθεκτικά στη μεθικιλλίνη στελέχη *S. aureus* (MRSA) τα οποία παράγουν την χαμηλής συγγένειας πενικιλλινοδεσμευτική πρωτεΐνη PBP2΄ και κωδικοποιούνται από το γονίδιο *mecA*^{3,6} οριακά ανθεκτικά στη μεθικιλλίνη στελέχη *S. aureus* (BORSA), των οποίων η ανοχή θεωρείται εν γένει ότι οφείλεται στην υπερπαραγωγή της βήτα λακταμάσης τύπου Α¹⁰
- ii(ii) στελέχη με τροποποιημένες PBP λόγω μεταβολής στην ικανότητα δέσμευσης πενικιλλίνης ή υπερπαραγωγής PBP (Modified *S. aureus*, MODSA)¹⁻⁴. Τα στελέχη MODSA έχουν απομονωθεί σε σπάνιες, μόνο, περιπτώσεις, η δε κλινική ανταπόκρισή τους στη θεραπεία με βήτα λακτάμες δεν έχει μελετηθεί ικανοποιητικά. Κατά συνέπεια, για κλινικούς σκοπούς με με σπάνιες εξαιρέσεις, η παρουσία της PBP2΄ είναι υπεύθυνη για την ανθεκτικότητα στη μεθικιλλίνη κατά τη θεραπεία λοιμώξεων από *S. aureus* και CoNS^{2,6}.

Ο ανθεκτικός στη μεθικιλλίνη φαινότυπος μπορεί να παρουσιάζει μεγάλο βαθμό ετερογένειας, γεγονός που καθιστά δύσκολη την ανίχνευση μέσω συμβατικών μεθόδων δοκιμής ευαισθησίας σε αντιμικροβιακούς παράγοντες, όπως η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC), η χρήση δίσκου και η ανίχνευση σε τρυβλίο με άγαρ. Η ακρίβεια αυτών των μεθόδων επηρεάζεται από το μέγεθος του ενοφθαλμίσματος, τον χρόνο και τη θερμοκρασία επώασης, το μέσο, το pH, τη συγκέντρωση άλατος και άλλους παράγοντες^{8,9}. Επιπλέον, αυτές οι μέθοδοι καλλιέργειας απαιτούν 24ωρη επώαση για ακριβή αποτελέσματα. Οι CoNS συχνά παράγουν χαμηλότερες ποσότητες PBP2΄ και απαιτούν επαγωγή μέσω έκθεσης σε μία από τις PRP για την παραγωγή ανιχνεύσιμης ποσότητας προϊόντος^{2,3,12}.

Για τον προσδιορισμό της ανθεκτικότητας στη μεθικιλλίνη χρησιμοποιείται κατά κανόνα η ανίχνευση του γονιδίου *mecA* λόγω της ακριβείας της, αλλά η μέθοδος αυτή έχει υψηλές απαιτήσεις από άποψη υλικών και εργατωριών, καθώς και μεγάλο κόστος εκτέλεσης^{1,6}. Η δοκιμή ανίχνευσης της PBP2΄ με λατέξ της Oxoid διαθέτει το πλεονέκτημα της άμεσης ανίχνευσης της πρωτεΐνης PBP2΄ σε σύντομο χρονικό πλαίσιο και με ελάχιστες απαιτήσεις σε εργατώρες. Μπορεί επίσης να υπερέχει σε ακρίβεια της μεθόδου με ανίχνευση του γονιδίου *mecA*, καθώς δεν προκύπτουν ψευδώς θετικά αποτελέσματα με στελέχη τα οποία ενώ φέρουν το γονίδιο *mecA* δεν έχουν την ικανότητα να παράγουν το πρωτεϊνικό προϊόν του γονιδίου αυτού. Επιπλέον, ο προσδιορισμός δεν ανιχνεύει στελέχη που παρουσιάζουν υπερπαραγωγή βήτα λακταμάσης ή PBP.

Η δοκιμή PBP2΄ της Oxoid έχει αξιολογηθεί σε παγκόσμιο επίπεδο, με χαρακτηριστικά, αποδοθεϊμμένα, από υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα^{4,5,11}.

Σωματίδια λατέξ ευαισθητοποιημένα με μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της PBP2΄ αντιδρούν ειδικά με ανθεκτικούς στη μεθικιλλίνη σταφυλόκοκκους προκαλώντας συγκόλληση που είναι ορατή δια γυαλό οφθαλμού.

3. ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΟΥ ΚΙΤ

TEST LATEX	DR0901 Συνθετικά σωματίδια λατέξ δοκιμής ευαισθητοποιημένα με μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της PBP2΄
CONTROL LATEX	DR0902 Συνθετικά σωματίδια λατέξ ελέγχου επικαλυμμένα με αντίσωμα κουνελιού και ευαισθητοποιημένα με μονοκλωνικό αντίσωμα της ίδιας υποκατηγορίας IgG, τα οποία δεν επιδεκνούνται καμία αντιδραστικότητα με πρωτεΐνες του <i>S. aureus</i>
EXTRACTION REAGENT 1	DR0903 Αντιδραστήριο εκχύλισης 1
EXTRACTION REAGENT 2	DR0904 Αντιδραστήριο εκχύλισης 2
	Κάρτες δοκιμής Ξυλάκια ανάμειξης Φύλλο οδηγιών

4. ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Μικροπιπέτα και ρύγχη (50 μl)
- Μικροβιολογικοί κρίκοι (5 μl/1 μl)|
- Ζέον υδατόλουτρο ή θερμικό μπλοκ
- Φυγόκεντρος (1500 x g)
- Σωληνάρια μικροφυγοκέντρωσης (safe lock)
- Κατάλληλο απολυμαντικό εργαστηρίου

5. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

IVD Το προϊόν αυτό προορίζεται μόνο για in vitro διαγνωστική χρήση.

Ο χρόνος θέρμανσης πρέπει να είναι τρία λεπτά. Η θέρμανση άνω των πέντε λεπτών μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα μείωση της ευαισθησίας. Η θέρμανση μόνο για ένα λεπτό ή λιγότερο μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα μη ειδική συγκόλληση. Όταν απομακρύνετε το υπερκείμενο υγρό μετά τη φυγοκέντρωση για χρήση στη δοκιμή, φροντίστε να αποσύρете την πιπέτα προσεκτικά ώστε να αποφυγέτε την άντληση στερεού υλικού από το κάτω μέρος του σωληναρίου. Η μεταφορά στερεού υλικού μπορεί να προκαλέσει μη ειδική συγκόλληση. Ανακινήστε καλά τα αντιδραστήρια λατέξ για να σχηματιστεί ένα ομοιογενές εναώρημα πριν από τη χρήση.

Τα αντιδραστήρια περιέχουν 0,095% αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό. Το αζίδιο του νατρίου είναι τοξικό και μπορεί να αντιδράσει με σωληνών μολύβδου ή χαλκού σχηματίζοντας μεταλλικά αζίδια, τα οποία είναι ισχυρά εκρηκτικά κατά την επαφή. Για την αποφυγή συσσώρευσης αζιδίων στους σωληνές, ξεπλύνετε με άφθονο νερό αμέσως μετά την απόρριψη των αποβλήτων.

Επειδή τα υλικά του δείγματος ενδέχεται να περιέχουν παθογόνους οργανισμούς, πρέπει να τηρούνται οι κατάλληλες προφυλάξεις κατά τον χειρισμό τους. Υπάρχει το ενδεχόμενο τα βακτήρια να μην εξουδετερωνονται κατά τη διαδικασία εκχύλισης. Επομένως, κατά τον χειρισμό του προϊόντος εκχύλισης πρέπει τηρούνται οι ίδιες προφυλάξεις.

Τα αντιδραστήρια εκχύλισης 1 και 2 περιέχουν ένα ήπιο ερεθιστικό και ασθενές οξύ. Να αποφεύγετε την άμεση επαφή φορώντας κατάλληλο προστατευτικό εξοπλισμό. Αν το υλικό έρθει σε επαφή με το δέρμα, τους βλεννογόνους ή τα μάτια πλύνετε αμέσως την περιοχή ξεπλύνοντας με άφθονο νερό.

6. ΦΥΛΑΞΗ

Το κιτ πρέπει να φυλάσσεται στους 2-8 °C. Υπό αυτές τις συνθήκες, τα αντιδραστήρια θα διατηρήσουν τη δραστηριότητά τους έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο κουτί.

7. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ

Για κάθε καινούργια παρτίδα του κιτ και σε εβδομαδιαία βάση μετέπειτα, πρέπει να εκτελούνται οι ακόλουθες διαδικασίες ελέγχου.

1. Θετικός μάρτυρας

Χρησιμοποιήστε ένα γνωστό στέλεχος MRSA όπως το ATCC® 43300 (Thermo Scientific Culti-Loops™ R4609022). Ακολουθήστε τη μέθοδο που παρέχεται στη διαδικασία της δοκιμής. Βεβαιωθείτε ότι πραγματοποιείται συγκόλληση εντός 3 λεπτών.

2. Αρνητικός μάρτυρας

Χρησιμοποιήστε γνωστό στέλεχος του ευαίσθητου στη μεθικιλλίνη *Staphylococcus aureus* (MSSA) όπως το ATCC® 25923 ή το ATCC® 29213, (Thermo Scientific Culti-Loops® R4607010 ή R4607011). Ακολουθήστε τη μέθοδο που παρέχεται στη διαδικασία της δοκιμής. Βεβαιωθείτε ότι δεν πραγματοποιείται καμία συγκόλληση εντός 3 λεπτών. Μη χρησιμοποιείτε τη δοκιμή εάν από τις αντιδράσεις με τους οργανισμούς ελέγχου προκύψουν λανθασμένα αποτελέσματα.

3. Μη χρησιμοποιείτε τα κιτ εάν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης τους.

8. ΣΗΜΑΝΤΙΚΗ ΣΗΜΕΙΩΣΗ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Μην αφήνετε τα αντιδραστήρια να επιμολυνθούν αφήνοντας το σταγονομετρικό άκρο να έλθει σε επαφή με το δείγμα επάνω στην κάρτα αντίδρασης. Βεβαιωθείτε ότι τα υγράματα εφαρμόζουν καλά μετά τη χρήση, ούτως ώστε να αποφευχθεί η επιμολύνηση και η ήθρανση των αντιδραστηρίων. Μετά τη χρήση, τοποθετήστε ξανά το κιτ στο ψυγείο και βεβαιωθείτε ότι τα φιαλίδια είναι σε όρθια θέση.

9. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΚΑΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Μπορούν να υποβληθούν σε δοκιμή αποικίες από οποιοδήποτε εκ των ακόλουθων μέσων καλλιέργειας:

Tryptone Soya Agar (Tryptic Soy Agar) με 5% αίμα προβάτου (TSA blood), Columbia Agar με 5% αίμα προβάτου, Mueller-Hinton Agar. Συνιστάται η χρήση πρόσφατων καλλιεργειών (18 - 24 ωρών). Οστόσο, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη δοκιμή καλλιέργειες 24 - 48 ωρών, εάν κάτι τέτοιο απαιτείται για την επίτευξη επαρκούς ανάπτυξης. Τα δεδομένα απόδοσης που αναφέρονται στο παρόν φυλλάδιο προέκυψαν κατόπιν χρήσης των συγκεκριμένων μέσων στο πλαίσιο της υποβολής στην Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α. Τα δεδομένα στο αρχείο δείχνουν ότι η δοκιμή είναι επίσης αποτελεσματική με αποικίες *S. aureus* από Tryptone Soya Agar και Columbia Agar με 5% αίμα αλόγου, Iso-Sensitest Agar και DSTA. Επειδή τα μέσα αυτά χρησιμοποιούνται ευρέως στην Ευρώπη αλλά όχι στη Βόρεια Αμερική, δεν χρησιμοποιήθηκαν στις δοκιμές που διεξήχθησαν για την παραγωγή των δεδομένων που παρουσιάζονται στην ενότητα σχετικά με τα Χαρακτηριστικά απόδοσης.

Ειδικές απαιτήσεις:

Η δοκιμή PBP2΄ πρέπει να διεξάγεται μόνο σε ειδή σταφυλόκοκκου (θετικούς κατά Gram κόκκους). Για να προσδιοριστεί εάν το στέλεχος που απομονώνεται είναι *S. aureus* ή άλλο είδος σταφυλόκοκκου, πρέπει να διενεργηθεί δοκιμή με ηηκτάση ή ισοδύναμη δοκιμή .

Προετοιμασία ενοφθαλμίσματος:

Για τον *S. aureus*, η δοκιμή μπορεί να εκτελεστεί από καλώς απομονωμένες αποικίες στο τρυβλίο πρωτογενούς απομόνωσης, εάν υπάρχει επαρκής ανάπτυξη, ή από υποκαλλέργεια του απομονωμένου στελέχους. Δεν έχει διαπιστωθεί παρεμβολή άλλων μικροοργανισμών που υπάρχουν στο τρυβλίο στον προσδιορισμό. Για αρνητικούς στην ηηκτάση σταφυλόκοκκους, απαιτείται επαγωγή για την παραγωγή επαρκούς PBP2΄.

1. Προετοιμάστε εναώρημα ζωμού του οργανισμού ισοδύναμο με πρότυπο McFarland 1 και απλώςτε το σχηματίζοντας παράλληλες γραμμές σε υπόστρωμα TSA με αίμα, Columbia Blood Agar ή Mueller-Hinton Agar. Εναλλακτικά, ενοφθαλμίστε το τρυβλίο άγαρ με αρκετές αποικίες και απλώςτε το με τη μέθοδο των παράλληλων γραμμών σε τέσσερα τεταρτημόρια.

2. Τοποθετήστε έναν δίσκο οξακυλλίνης (1 μg/ml) στο στρώμα των οργανισμών ή στο κύριο τεταρτημόριο του ενοφθαλμίσματος.

3. Επωάστε στους 37 °C για τουλάχιστον 24 ώρες αλλά όχι πάνω από 48 ώρες.

Προσοχή: Για την αποφυγή ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων, μην εκτελέσετε τη δοκιμή εάν δεν υπάρχει διαθέσιμη επαρκής ποσότητα ενοφθαλμίσματος. Φροντίστε ώστε να συλλέγεται πάντα τους οργανισμούς σε μικρή απόσταση από το τρυβλίο.

10. ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Διαδικασία εκχύλισης της PBP2΄

1. Προσθέστε τέσσερις σταγόνες από το αντιδραστήριο εκχύλισης 1 σε σωληνάριο μικροφυγοκέντρωσης.
2. Στη δοκιμή θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν τουλάχιστον 1,5 x 10⁹ (3-5 μl) κύτταρα. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με χρήση αποστειρωμένων κρίκων των 5μl προκειμένου να ληφθεί επαρκής ποσότητα ώστε να γεμίσει η εσωτερική διάμετρος του κρίκου. Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποστειρωμένος κρίκος 1 μl για τη λήψη αποικιών σε ποσότητα ύψους 1 mm που να υπερκαλύπτει την εξωτερική διάμετρο του κρίκου. Εναυωρήστε την καλλιέργεια δοκιμής στο σωληνάριο μικροφυγοκέντρωσης. Υποβάλετε σε περιδίνηση σε συσκευή vortex εάν υπάρχουν συσσωματώματα. Το εναώρημα θα πρέπει να εμφανίζεται πολύ θολό.
3. Τοποθετήστε το σωληνάριο σε ζέον υδατόλουτρο ή σε θερμικό μπλοκ (ΑΝΩ ΤΩΝ 95 °C) και θερμάνετε για τρία λεπτά.
4. Αφαιρέστε το σωληνάριο μικροφυγοκέντρωσης και αφήστε το να κρύνσει σε θερμοκρασία δωματίου.
5. Προσθέστε μία σταγόνα του αντιδραστηρίου εκχύλισης 2 στο σωληνάριο και αναμειξτε καλά.
6. Υποβάλετε σε φυγοκέντρωση στα 1.500 x g για πέντε λεπτά, (δηλ. 3.000 rpm σε ακτίνα περιστροφής 15 cm ή 4.500 rpm σε ακτίνα περιστροφής 4,5 cm). Χρησιμοποιήστε το υπερκείμενο υγρό για τη δοκιμή.

Διαδικασία συγκόλλησης με λατέξ

1. Για κάθε υπερκείμενο υγρό που θα υποβληθεί σε δοκιμή, επισιμάνετε έναν κύκλο στην κάρτα δοκιμής που θα χρησιμοποιηθεί για τη δοκιμή με το λατέξ δοκιμής και έναν άλλο κύκλο που θα χρησιμοποιηθεί για τη δοκιμή με το λατέξ ελέγχου.
2. Αναμειξτε καλά τα αντιδραστήρια λατέξ ανακινώντας δυνατά ώστε να ομογενοποιηθεί το λατέξ πριν από κάθε χρήση, και προσθέστε μία σταγόνα του λατέξ δοκιμής ή του λατέξ ελέγχου σε κάθε επισιμασμένο κύκλο.
3. Τοποθετήστε 50μl του υπερκείμενου υγρού στον κύκλο δοκιμής και στον κύκλο ελέγχου φροντίζοντας να αποφύγετε το ίζημα. Αναμειξτε σχολαστικά το λατέξ και το υπερκείμενο υγρό σε κάθε κύκλο με το ξυλάκι ανάδευσης.
4. Σηκώστε την κάρτα και ανακινήστε την για τρία λεπτά το πολύ και ελέγξτε εάν υπάρχει συγκόλληση υπό κανονικές συνθήκες φωτισμού. Καταγράψτε τα αποτελέσματα των αντιδράσεων δοκιμής και ελέγχου.
5. Απορρίψτε την κάρτα αντιδράσεων με ασφάλεια σε απολυμαντικό ή κάδο μολυσματικών αποβλήτων.

11. ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Εμφανίζεται συγκόλληση με το λατέξ δοκιμής αλλά όχι με το λατέξ ελέγχου εντός 3 λεπτών	Θετικό για PBP2΄ (MRSA)
Καμία συγκόλληση σε κανένα αντιδραστήριο λατέξ εντός 3 λεπτών	Αρνητική για PBP2΄ (MSSA)
Εμφανίζεται συγκόλληση με το λατέξ ελέγχου εντός 3 λεπτών	Απροσδιόριστο αποτέλεσμα

Ισχύς της αντίδρασης συγκόλλησης

Αρνητικό (-) = ομοιογενές εναώρημα σωματιδίων χωρίς ορατά συσσωματώματα
Ασθενώς θετικό (+) = μικρά αλλά σαφή συσσωματώματα σε θολό υπόβαθρο
Ισχυρώς θετικό (+) = μεγάλα και μικρά συσσωματώματα σε ελαφρώς θολό υπόβαθρο ή μεγάλα συσσωματώματα σε πολύ διαγνής υπόβαθρο.

Σημείωση: Περιστασιακά, μπορεί να παρατηρείται λεπτόκοκκη υφή στις αρνητικές αντιδράσεις ή ινώδης υφή στις αντιδράσεις. Σε αυτές τις περιπτώσεις για την ερμηνεία του αποτελέσματος θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ο βαθμός διαύγειας του υποβάθρου. Ένα αδιαφανές υπόβαθρο υποδεικνύει αρνητικό αποτέλεσμα και ένα διαυγές υπόβαθρο θα πρέπει να ερμηνεύεται ως θετικό αποτέλεσμα.

12. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Τα απροσδιόριστα αποτελέσματα πρέπει να υποβάλλονται σε επαναληπτική δοκιμή με νέο εκχύλισμα. Εάν κατά την επαναληπτική δοκιμή το αποτέλεσμα είναι εκ νέου απροσδιόριστο, η ανεπιβεβαιωτικότητα στη μεθικυλλίνη πρέπει να προσδιοριστεί με άλλες μεθόδους. Μπορεί να προκύψουν ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα εάν χρησιμοποιείται ανεπαρκής ποσότητα καλλιέργειας για τη δοκιμή. Σε αυτές τις περιπτώσεις, η δοκιμή θα πρέπει να επαναληφθεί με επαρκή ποσότητα καλλιέργειας.

Γενικά οι αντιδράσεις από τις οποίες προκύπτουν αληθή θετικά αποτελέσματα είναι ισχυρές. Τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα είναι γνωστό ότι προκύπτουν, αν και σπάνια, από ασθενείς αντιδράσεις. Τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να επιβεβαιωθούν με επαναληπτική δοκιμή με πρόσφατη καλλιέργεια.

Τα τροποποιημένα στελέχη *S. aureus* (MODSA) και τα οριακά ανθεκτικά στελέχη *S. aureus* (BORSA) δεν διαθέτουν την PBP2' και δεν αναμένεται να αντιδράσουν σε αυτόν τον προσδιορισμό.

Τα στελέχη οριζμένων οργανισμών μπορεί να παρουσιάζουν χαμηλή ανθεκτικότητα στη μεθικυλλίνη ή, σε σπάνιες περιπτώσεις, μπορεί να παράγουν χαμηλές ποσότητες της PBP2' και να δίνουν ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα.

Λόγω περιορισμών στην ευαισθησία και στην ειδικότητα των μεθόδων της δοκιμής ευαισθησίας CLSI για τους αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκου⁵, ιδίως για στελέχη εκτός του *Staphylococcus epidermidis*, τα αποτελέσματα με τον προσδιορισμό της PBP2' μπορεί να μη συμφωνούν με τα αποτελέσματα των καθιερωμένων δοκιμών ευαισθησίας. Τα στελέχη με MIC ≥0,5 μg/ml θα πρέπει να θεωρούνται ανθεκτικά στη μεθικυλλίνη, ανεξάρτητα από τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της PBP2'.

13. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

1. Η δοκιμή συγκόλλησης της πενικιλινοδεσμευτικής πρωτεΐνης με λατέξ της Oxoid (Oxoid Penicillin-Binding Protein Latex Agglutination Test) έχει αξιολογηθεί σε τέσσερα εργαστήρια σε διαφορετικές γεωγραφικές τοποθεσίες με χρήση πρόσφατων κλινικά απομονωμένων στελεχών *Staphylococcus aureus*. Σε δοκιμή υποβλήθηκαν 201 απομονωμένα στελέχη με μεθόδους NCCLS και με τη δοκιμή PBP2' της Oxoid από κάθε ένα από τα τρία μέσα. Βρέθηκε μία ασθενής, ψευδώς θετική αντίδραση με λατέξ της Oxoid (αρνητική κατά την επανάληψη) σε μέσο TSA με αίμα. Όλες οι θετικές αντιδράσεις ήταν ισχυρές, εκτός από 3 ασθενείς (άλλα θετικές) αντιδράσεις σε μέσο Mueller-Hinton Agar. Η ευαισθησία της δοκιμής με λατέξ στην ανίχνευση του MRSA σε κάθε μέσο ήταν 100%, ενώ η ειδικότητα ήταν 99% για το μέσο TSA με αίμα και 100% για δοκιμές σε όλα τα άλλα μέσα.

Τα αποτελέσματα της δοκιμής 201 πρόσφατων κλινικών απομονωμένων στελεχών του *S. aureus* από 4 εργαστήρια είναι τα εξής:

	MRSA	BORSA ^A	MSSA
Αρ. στελεχών υπό δοκιμή	68	3	130
Ανάπτυξη σε Oxacillin Salt Agar (NCCLS)	68	0	0
MIC ≥4 μg/ml (NCCLS)	68	0	0
Θετική αντίδραση με λατέξ σε μέσο TSA Blood	68	0	1 (1) ^B
Θετική αντίδραση με λατέξ σε μέσο Columbia Blood	68	0	0
Θετική αντίδραση με λατέξ σε μέσο Mueller-Hinton	68 (3) ^B	0	0

^A Οι συγκεντρώσεις MIC ήταν 2 μg/ml και το mecA ήταν αρνητικό.

^B Ο αριθμός των ασθενών αντιδράσεων παρουσιάζεται εντός παρενθέσεων.

2. Δοκιμή στελεχών πρόκλησης του *S. aureus* σε τρεις γεωγραφικά διακριτές περιοχές: Τρία εργαστήρια εξέτασαν το καθένα από μία ομάδα στελεχών πρόκλησης του *S. aureus* που είχαν συλλεχθεί προγενέστερα και πραγματοποίησαν σύγκριση των αποτελεσμάτων της PBP2' με τις μεθόδους NCCLS για τον προσδιορισμό του MRSA. Υποβλήθηκαν σε δοκιμή συνολικά 724 στελέχη από το μέσο TSA με αίμα. Η ευαισθησία της δοκιμής PBP2' της Oxoid ήταν 98,5% και η ειδικότητα ήταν 100%. Η ευαισθησία της μεθόδου ανίχνευσης σε άγαρ (agar screen) και της μεθόδου MIC ήταν 98,7% και 99,2% και οι ειδικότητες ήταν 90,0% και 88,7%. Επίσης υποβλήθηκαν σε δοκιμή ξεχωριστά δύο στελέχη MODSA. Το αποτέλεσμα της δοκιμής με λατέξ ήταν για αμφότερα τα στελέχη αρνητικό.

3. Δοκιμή αρνητικών στην πηκτάση σταφυλόκοκκων Δύο εργαστήρια εξέτασαν αρνητικούς στην πηκτάση σταφυλόκοκκους για PBP2' μετά από επαγωγή με δίσκους οξακιλίνης. Το ένα εργαστήριο υπέβαλε σε δοκιμή 115 ανθεκτικά στη μεθικυλλίνη στελέχη και 45 ευαίσθητα στη μεθικυλλίνη στελέχη, συμπεριλαμβανομένων 58 πρόσφατων κλινικά απομονωμένων στελεχών. Η ευαισθησία ήταν 96,5% για τη δοκιμή με το μέσο TSA blood και 95,6% με το μέσο Mueller-Hinton Agar. Η ειδικότητα ήταν 100% για το μέσο TSA blood και 98% για το μέσο Mueller-Hinton Agar. Η λήψη καλού ενοφθαλμίσματος ήταν πιο δύσκολη με το μέσο Mueller-Hinton Agar. Το δεύτερο εργαστήριο υπέβαλε σε δοκιμή 212 ανθεκτικά στη μεθικυλλίνη στελέχη και 203 ευαίσθητα στη μεθικυλλίνη στελέχη με ευαισθησία 99,5% και ειδικότητα 99,5%. Η ανάπτυξη για τη λήψη ενοφθαλμίσματος πραγματοποιήθηκε σε μέσο Columbia Agar.

4. Αναπαραγωγιμότητα Δέκα διαφορετικά καλά χαρακτηρισμένα στελέχη *S. aureus* (3 MRSA, 3 MSSA, 3 BORSA και 1 MODSA) απεστάλησαν σε τρία εργαστήρια σε διαφορετικές γεωγραφικές τοποθεσίες. Για το κάθε στέλεχος υποδείχθηκαν 5 δείγματα με κωδικοποιημένο και τυφλοποιημένο τρόπο. Και τα 150 αποτελέσματα δοκιμής ήταν σύμφωνα με τα αναμενόμενα αποτελέσματα για 100% αναπαραγωγιμότητα. Τα τρία mecA θετικά στελέχη έδωσαν θετικό αποτέλεσμα κάθε φορά που υποβλήθηκαν σε δοκιμή (45/45 δοκιμές). Τα τρία στελέχη MSSA και τα τρία στελέχη BORSA έδωσαν αρνητικά αποτελέσματα κάθε φορά που εκτελέστηκε η δοκιμή (90/90 δοκιμές). Τα στελέχη MODSA είχαν MIC οξακιλίνης ίση με 16μg/ml και, όπως ήταν αναμενόμενο, έδωσαν αρνητικό αποτέλεσμα στη δοκιμή με λατέξ της Oxoid κάθε φορά που εκτελέστηκε η δοκιμή (15/15 δοκιμές).

14. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bignardi G.E., Woodford N., Chapman A., et al (1996). J. Antimicrobiol. Chemother., 37:53-63.
2. Chambers H.F., (1997). Clin. Microbiol. Rev., 10:781-791.
3. Gerberding J.L., Miick C., Liu H.H., et al (1991). Antimicrob. Agents Chemother., 35:2574-2579.
4. Hussain Z., Stoakes L., Garrow S., et al (2000). J. Clin. Microbiol., 38:2051-2054.
5. Louie L., Matsumura S.O., Choi E., et al (2000). J. Clin. Microbiol., 38:2170-2173.
6. Murakami K., Minamide W., Wada K., et al (1991). J. Clin. Microbiol., 29:2240-2244.
7. Nakatomi Y., and Sugiyama J., (1998). Microbiol. Immunol., 42:739-743.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2000 Approved Standard Fifth Edition (M7-A5)). National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
9. Tenover F.C., Jones R.N., Swenson J.M., et al (1999). J. Clin. Microbiol., 37:4051-4058.
10. Thornsburry C. and McDougal L. (1983). J. Clin. Microbiol., 18:1084-1091.
11. Yamazumi T., Marshall S.A., Wilke W.W., et al (2001). J. Clin. Microbiol., 39:53-56.
12. York M.K., Gibbs L., Chehab F., et al (1996). J. Clin. Microbiol., 34:249-253.

15. ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

	Αριθμός καταλόγου
	Ιατροτεχνολογική συσκευή για <i>in Vitro</i> διαγνωστική χρήση
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Όρια θερμοκρασίας (Θερμοκρασία αποθήκευσης)
	Περιέχει επαρκή ποσότητα για <N> δοκιμές
	Κωδικός παρτίδας (Αριθμός παρτίδας)
	Χρήση έως (Ημερομηνία λήξης)
	Κατασκευαστής



Το έμβλημα ATCC Licensed Derivative™, το λεκτικό σήμα ATCC Licensed Derivative® και τα σήματα καταλόγου της ATCC είναι εμπορικά σήματα της ATCC. Η Oxoid Limited διαθέτει άδεια χρήσης αυτών των εμπορικών σημάτων και πώλησης των προϊόντων που προέρχονται από καλλιέργειες ATCC®.



Οδηγίες χρήσης X655SC, Αναθεώρηση Οκτώβριος 2015

Εκτυπώθηκε στο HB



Oxoid Limited,
Wade Road,
Basingstoke,
Hampshire, RG24 8PW
UK

Για τεχνική βοήθεια επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο.