

DrySpot Staphytect

Plus

REF	DRO100M	SV
------------	---------	-----------

1. AVSEDD ANVÄNDNING

DrySpot Staphytect Plus™ är en latex agglutinationstest¹ för differentiering av *Staphylococcus aureus* genom detektering av “clumping factor”, protein A och vissa polysackarider som påträffas hos meticillin resistenta *S. aureus* (MRSA).

2. TESTPRINCIP

Traditionellt har differentiering mellan koagulaspositiva och koagulasnegativa stafylokokker utförts med en röркоagulastest som detekterar extracellulärt stafylokoagulas, eller med en objektglaskoagulastest som detekterar “clumping factor” (bundet koagulas) som finns på bakteriecellens yta. Flera andra differentieringstester finns, däribland passiv hemagglutinationstest (Oxoids Staphylase – DR595) och Dnase.

Det har rapporterats att omkring 97% av alla humana stammar av *S. aureus* innehåller såväl bundet koagulas som extracellulärt stafylokoagulas.

Protein A påträffas på cellytan på omkring 95% av alla humana stammar av *S. aureus* och har förmågan att binda Fc-delen av immunglobin G (IgG)².

Det har observerats att vissa meticillin resistenta stammar av *S. aureus* (MSRA) kan uppvisa ej detekterbara halter av “clumping factor” och protein A^{3,4,5}. Det har emellertid kunnat påvisas att alla dessa stammar innehåller kapsulära polysackarider⁶. Kapseln kan maskera såväl protein A som “clumping factor” och därigenom förhindra agglutination.

DrySpot Staphytect Plus använder blå latexpartiklar belagda med svinfibrogen och kanin-IgG, med specifika polyklonala antikroppar mot kapsulära polysackarider av *S. aureus*^{7,8}.

Reagensen finns redan i intorkat utförande på reaktionskortet. När reagensen blandas med kolonier av *S. aureus* utspädda i saltlösning sker en snabb agglutination till följd av reaktionen mellan (i) fibrinogen och “clumping factor”, (ii) Fc-delen av IgG och protein A samt (iii) specifikt IgG och kapsulära polysackarider. Agglutination kan också uppkomma med andra arter som innehåller en “clumping factor” eller protein A, såsom *Staphylococcus hyicus* och *Staphylococcus intermedius*. Om vare sig, “clumping factor”, protein A eller specifika kapsulära polysackarider förekommer sker ingen agglutination, och resultatet ska betraktas som negativt. De vanligaste koagulas och protein A-negativa isolaten för stafylokokker är *Staphylococcus epidermidis*.

3. INNEHÅLL

Reagenskort för DrySpot Staphytect Plus.

Blå latexpartiklar belagda med svinfibrinogen och kanin-IgG, tillsammans med specifika polyklonala antikroppar mot kapsulära polysackarider för *S. aureus*. (Testreaktionsområde.)

Blå latexpartiklar med icke-reaktivt globulin känslighet. (Kontrollreaktionsområde.)

Fyra påsar med vardera 10 kort och en fuktabsorberande påse. Varje kort har tre test- och tre kontrollreaktionsområden. Sammanlagt 120 tester.

Plastpåsklämma för förvaring av öppnade påsar.

Instruktionsbroschyr.

4. MATERIAL SOM BEHÖVS MEN SOM INTE INGÅR:

Saltlösning (0,85%)

Timer

Pipett (50 µl)

Sterila, öglor

Lämpligt desinfektionsmedel för laboratoriebruk

Positiv kontroll: *S. aureus*-stam såsom ATCC® 25923

Negativ kontroll: *S. epidermidis*-stam såsom ATCC® 12228.

5. FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Denna produkt är endast avsedd för diagnostisk *in vitro*-bruk.

Provmaterialet kan innehålla patogena organismer. Iaktta lämpliga försiktighetsåtgärder vid hanteringen.

6. FÖRVARING OCH ÖPPNING

Kitet skall förvaras vid en temperatur mellan 2 och 25°C. Om det förvaras kallt måste påsarna få nå rumstemperatur innan de öppnas, för att fuktkondensation inte ska ske på korten. DrySpotreagenserna försämras och ger upphov till falska resultat om de tillåts absorbera fukt.

Öppna påsarna genom att klippa upp dem med en sax alldeles under förslutningen.

Ta ut de kort som behövs för de omedelbart förestående testen, bör ske inom 10 minuter direkt efter öppnandet och återförslut sedan påsen omedelbart, med den bifogade påsklämman.

Om bara ett fåtal tester ska utföras kan reaktionskorten klippas längs linjerna varefter de delar som inte används läggs tillbaks i påsen. Lägg inte tillbaks använda delar i påsen eftersom detta kontaminerar de återstående korten i påsen.

Under dessa förhållanden behåller reagenserna sin aktivitet fram till den sista användningsdag som anges på förpackningen.

7. KONTROLLFÖRFARANDEN

Följande kontrollförfaranden måste genomföras varje gång kitet ska användas.

- Positiv kontroll: Använd en känd *S. aureus*-stam såsom ATCC® 25923 (Thermo Scientific Culti-Loops™ R4607010). Tillämpa den metod som framgår av testförfarandet. Kontrollera att agglutination äger rum inom 20 sekunder.
- Negativ kontroll: Använd en känd *S. epidermidis*-stam såsom ATCC® 12228 (Thermo Scientific Culti-Loops™ R4606500). Tillämpa den metod som framgår av testförfarandet. Säkerställ att reagensen förblir jämn och icke-agglutinerad under testens 20 sekunder.

Använd inte testen om reaktionen med kontrollorganismerna blir felaktig.

8. VIKTIG INFORMATION OM FÖRFARANDET

Vidrör inte cirklarna på reaktionskorten eftersom detta kan förorsaka kontamination och inverka på reaktionen.

Lämma inte påsarna öppna i mer än två minuter i fuktiga miljöer. Om det finns spår av fukt på latexprickarna skall reaktionskorten inte användas.

Placera inte saltlösningsdroppen direkt på de torra latexprickarna.

Påsklämmorna kan sparas för framtida bruk, så att flera förpackningar kan öppnas. Kitet eller påsarna kan förvaras vid rumstemperatur, men de får inte förvaras nära en värmekälla eller där exponering för solljus kan leda till förhöjda temperaturer.

Säkerställ att tillräckligt med material tas från odlingsplattan. En otillräcklig mängd kan ge upphov till falska negativa reaktioner.

9. PROVTAGNING OCH PROVBEREDNING

Konsultera en standardhandbok för detaljinformation om provtagning och provbehandling⁹.

Grampositiva och katalaspositiva kolonier från ett av följande odlingsmedier kan användas:

Blood Agar

Nutrient Agar

Tryptone Soya Agar

Tryptone Soya Agar med 5% blod

Mannitol Salt Agar

Iso-Sensitest Agar

Columbia Blood Agar

Columbia CNA Agar

Mueller-Hinton Agar med 5% blod

Baird-Parker Agar

CLED

Iso-Sensitest Agar med 5% blod

Oxacillin Resistance Screening Agar (ORSA)

Brilliance MRSA 2 Agar[†]

Användning av färska odlingar som odlats över natten rekommenderas (18 till 36 timmars inkubation). Koloniernas tendens till autoagglutination ökar vid inkubation utöver den rekommenderade 36-timmarsperioden.

10. STANDARD TESTMETOD

- Tillsätt en droppe (50 µl) saltlösning (0,85%) till de små ringarna (nedtill i varje oval) i såväl test- som kontrollreaktionsområdena. Se till att vätskan inte blandar sig med de torkade latexreagenserna.
- Använd en steril ögla för att ta upp motsvarigheten till fem medelstora misstänkta stafylokokkolonier (ca 2–3 mm diameter) och blanda in dessa försiktigt i saltlösningsdroppen. Se till att den resulterande uppslamningen blir jämn.
- Blanda in uppslamningen i de torkade kontrollatexprickarna till dess att en jämn blandning erhållits och sprid ut blandningen över reaktionsområdet med hjälp av öglan. Kassera öglan på lämpligt sätt.
- Gör på samma sätt med testlatexen med en ny steril ögla.
- Ta upp kortet och vagga det i upp till 20 sekunder och observera det med avseende på agglutination under normala belysningsförhållanden. Använd inte förstoringsglas.
- När testen är avslutad ska reaktionskorten kasseras på ett säkert sätt.

11. TESTMETOD FÖR OXACILLIN RESISTANCE SCREENING AGAR (ORSA)

- Använd en steril ögla för att ta upp motsvarigheten till fem medelstora misstänkta stafylokokkolonier (ca 2–3 mm diameter) tillsätt dessa till kontrollreaktionsområdet, använd öglan och sprid ut tills en tunn yta erhålls. Se till att det ej blandar sig med de torkade latexreagenserna.
- Tillsätt en droppe (50 µl) saltlösning (0,85%) direkt till den tunna ytan av bakterier, blanda omedelbart för att erhålla en jämn lösning.

Steg 3–6 utföres enligt standard metoden.

12. LÄSNING OCH TOLKNING AV RESULTATEN

Positiva resultat

Ett resultat är positivt om agglutination av de blå testlatexpartiklarna sker inom 20 sekunder. Detta identifierar presumptivt stammen som en *S. aureus*.

Negativa resultat

Ett negativt resultat erhålls om ingen agglutination sker och man fortfarande har en jämn blå uppslamning i testcirkeln efter 20 sekunder. Det identifierar presumtivt stammen som en icke *S. aureus*.

Osäkert resultat

En viss grumlighet hos testlatexet, i kombination med ingen förändring av utseendet hos kontrollatexet, ska tolkas som ett osäkert resultat. Stammarna ska testas om efter omodling på ett icke-selektivt media.

Otydbart resultat

Testet är otydbart om kontrollreagensen uppvisar agglutination. Det indikerar att odlingen ger upphov till autoagglutination.

Småkorning eller trädig reaktioner

Ibland kan en småkorning eller trädig reaktion uppstå beroende på testmaterialets partikelkarakteristika. När sådana reaktioner uppstår skall de tolkas enligt följande kriterier:

Resultatet är **positivt** om testreagensen ger en större upplärning mot den blå bakgrunden jämfört med reaktionen i kontrollreagensen.

Resultatet är **negativt** när det inte sker några markanta förändringar i upplärningen mot den blå bakgrunden för testreagens respektive kontrollreagensen.

Ignorera reaktioner som sker efter 20 sekunder.

13. TESTETS BEGRÄNSNINGAR

- De isolerade koloniernas tendens till autoagglutinationsreaktioner ökar vid inkubationstider utöver den rekommenderade 36-timmarsperioden.
- De antikroppar som används i Staphytect Plus har optimerats för undvikande av korsreaktioner med de delade antigenerna från koagulasnegativa stafylokokker. Observera att detta har kunnat visas reducera känsligheten för vissa MRSA-stammar av typ 18¹⁰.
- Andra arter av stafylokokker än *S. aureus*, i synnerhet *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis*, *S. xylosus*, *S. schleiferi* och *S. haemolyticus*^{11,12,13,14}, kan föranleda positiva resultat vid koagulastester och/eller snabba latexförfaranden. Om det behövs kan arterna identifieras med biokemiska testförfaranden. *S. hyicus* och *S. intermedius* påträffas mycket sällan på kliniska laboratorier.
- Stafylokokker som isolerats från urinprover som ger ett svagt positivt¹⁷ resultat med Staphytect Plus kan vara *Staphylococcus saprophyticus*. Ytterligare identifiering av sådana isolat kan utföras med biokemiska tester och novobiocin känslighet (*S. saprophyticus* är novobiocin resistent).
- Vissa streptokokker, och möjligen andra organismer som innehåller immunoglobin- eller plasmabindande faktorer kan reagera vid latextestet, och vissa arter såsom *Escherichia coli* har förmåga att agglutinera latexpartiklar^{18,19} icke-specifikt. För att lösa sådana icke-specifika resultat bör en gramfärgning utföras så att endast typiska stafylokokker testas.

14. PRESTANDAKARAKTERISTIKA

Prestandakaraktistika för Oxoids DrySpot Staphytest Plus har fastställt med hjälp av data från de studier som redovisas nedan. Det är emellertid viktigt att observera att *S. aureus* kan uppvisa betydande antigenvariationer variationer med avseende på olika geografiska platser.

Klinisk studie

Oxoids DrySpot Staphytest Plus utvärderades vid ett stort australiensiskt undervisningssjukhus. Sammanlagt 300 isolat testades med röркоagulas som "gold" standardmetod. Vid den efterföljande dataanalysen utelämnades resultat från stammar kända som korsreaktorer^{11,12,13,14} och resultat från autoagglutinerande stammar (n=284). Den relativa känsligheten var 100% och den relativa specificiteten var 96,3%.









Industriell studie

Oxoids DrySpot Staphytest Plus utvärderades vid livsmedelslaboratorier under en multicenterstudie i Storbritannien. Sammanlagt 621 prov utvärderades. De utgjordes av kolonier från Baird-Parker Agar som inokulerats med livsmedels- eller miljömaterial. "Gold" standardmetod var röркоagulas. Vid den efterföljande dataanalysen utelämnades resultat från stammar kända som korsreaktorer^{11,12,13,14} och resultat från autoagglutinerande stammar (n=603). Den relativa känsligheten var 98,4% och den relativa specificiteten var 96,9%.

15. REFERENCES:

- 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 non-epidemic *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 7 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., Hausser, W. J. and Shadomy, H. J.: Assoc. Amer. Microbiol. Washington.
- Data on file at Oxoid Ltd.
- Jean-Pierre, H., Darbas, H., Jean-Rousseng, 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. (2000). "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 Fibronectin to Group A, C and G Streptococci". Infect.Immun. 40: 29–34.
- Runehagen, A., Schonbeck, C., Hedner, U., 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.

	Katalognummer
	Medicinsk utrustning för diagnostik in vitro
	Se bruksanvisning
	Temperaturbegränsning
	Lotnummer
	Använd före
	Innehåller tillräckligt med material för <n> tester
	Tillverkare



 DR0100M.....120 Tests

IFU X5241D Reviderad December 2012



OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, England.