

#### INFORMAZIONI PER L'ORDINE

Formato	Codice	Contenuto
Kit 2 x 50 det.	 CSI087245	2 flaconi x 1,5 ml

#### INTRODUZIONE

Gli stafilococchi sono comunemente presenti sulla pelle e sulle mucose come flora saprofitica ma possono essere spesso implicati in infezioni opportunistiche. Lo *S. aureus*, in particolare, è l'agente eziologico di molte malattie settiche. Alcuni ceppi di stafilococchi produttori enterotossine sono la causa di intossicazioni alimentari e, recentemente, una esotossina dello *S. aureus* è stata associata alla "toxic shock syndrome". Per questo è importante avere un sistema rapido per una identificazione rapida dello *S. aureus*. I metodi più comuni per l'identificazione presuntiva dei ceppi patogeni sono basati sulla ricerca della coagulasi (test in provetta per la coagulasi libera o test su vetrino per la coagulasi legata) o l'osservazione della crescita batterica come la fermentazione del mannitolo, la produzione della DNasi etc. Queste metodiche tradizionali richiedono un periodo di incubazione di 1 o più giorni. Recentemente sono stati sviluppati dei test al lattice per mezzo dei quali può essere dimostrata la presenza della coagulasi e della proteina A. Il metodo Sclavo Staphylo Rapid test consiste in un set per l'identificazione della presenza della coagulasi legata e/o della proteina A sulla superficie batterica del ceppo in esame, direttamente dalla coltura primaria, in pochi minuti e senza la necessità di ulteriori materiali o strumenti.

#### PRINCIPIO DEL METODO

Il campione viene aggiunto ad una cellletta di reazione in cui è stato precedentemente distribuito il lattice sensibilizzato con fibrinogeno e IgG umane. Se la coagulasi e/o la proteina A sono presenti nel campione causeranno una agglutinazione visibile.

#### COMPONENTI

##### Reagente L - 1 x 1,5 mL

Lattice sensibilizzato con fibrinogeno e IgG umane. Sospensione pronta all'uso.

Contiene sodio azide 0,9 g/L come conservante.

##### Lattice di Controllo - 1 x 1,5 mL

Lattice non sensibilizzato. Sospensione pronta all'uso.

Contiene sodio azide 0,9 g/L come conservante.

##### Bacchette di plastica numero 50.

Cartoncini monouso a fondo nero numero 10.

I reattivi contengono sodio azide che possono reagire con piombo e rame formando depositi esplosivi di metallo azidi. Per l'eliminazione diluire con grandi quantità di acqua.

#### PREPARAZIONE DEI REAGENTI

I reattivi al lattice sono pronti per l'uso. Portare a temperatura ambiente ed agitare dolcemente i reattivi al lattice per ottenere una sospensione omogenea delle particelle. Dopo l'apertura il reagente è stabile fino a data di scadenza se mantenuto nelle condizioni indicate in "Conservazione e stabilità". Evitare l'esposizione del reattivo a forti variazioni di temperatura.

#### Conservazione e stabilità

 = Temperatura di conservazione 2-8 °C

Conservati a 2-8°C, evitando la luce diretta, i reattivi sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla etichetta. Non congelare. Evitare contaminazione microbica. Verifiche di stabilità ripetute su tre lotti diversi di reattivo hanno confermato una validità totale del reattivo di 36 mesi a 2°-8° C. Una leggera variazione nella composizione dei reattivi può verificarsi da lotto a lotto, senza interferire sui risultati del test.

#### RACCOLTA E CONSERVAZIONE CAMPIONI

Da colture di isolamento primarie o secondarie, selezionare delle colonie isolate. Queste dovrebbero essere di aspetto circolare (diametro 2-4 mm), lisce e leggermente convesse. Si suggerisce una colorazione Gram per controllare la purezza del campione. Si sconsiglia l'esecuzione del test su colonie sviluppate su agar selettivi ad alta concentrazione salina a causa della difficoltà di un corretto campionamento e per la possibilità di false agglutinazioni. Dovrebbero essere usate colture di 18 ore, preferibilmente sviluppate su terreni di arricchimento come agar sangue o agar nutriente.

#### PROCEDIMENTO

##### Tecnica

- Per ogni campione da analizzare depositare su due celllette del cartoncino una goccia di reagente L ed una di lattice di controllo (mantenendo il contagocce in posizione verticale).
- Raccogliere il campione (3-4 colonie) con la bacchetta di plastica e stemperarlo accuratamente con la goccia di lattice Reagente L.  
**Attenzione:** non raccogliere parte del terreno di coltura, questo potrebbe interferire nella lettura della reazione.
- Ripetere il punto 2 anche con il lattice di controllo.
- Usando una bacchetta pulita per ogni cellletta, omogeneizzare accuratamente la miscela. Scartare la bacchetta usata.
- Rotare il cartoncino, osservare ogni cellletta per accertare la presenza di agglutinazioni (le agglutinazioni specifiche devono comparire entro un minuto).

#### Controllo Qualità

Eseguire il controllo qualità ogni volta che si usa il kit utilizzando la stessa tecnica utilizzata per i campioni.

**Controllo positivo MSSA:** *S. aureus* ATCC 25923

**Controllo positivo MRSA:** *S. aureus* ATCC 43300

**Controllo negativo:** *S. epidermidis* ATCC 12228

#### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

##### Positivo

La reazione positiva è evidenziata dalla formazione di agglutinato con assenza di fondo lattescente nel pozzetto con il reagente L ed assenza di agglutinazione in quello contenente il lattice di controllo. La reazione, nella maggior parte dei casi, è immediata. Vanno comunque ignorate le agglutinazioni che compaiono dopo 1 minuto. La reazione positiva è indice di presenza di coagulasi e/o proteina A nel ceppo esaminato

##### Negativo

La reazione negativa è evidenziata dalla mancanza completa di agglutinato sia con il Reagente L che con il lattice di controllo; nel caso che non vi sia stata una completa emulsione, si possono evidenziare tracce di granulosità.

**Nota:** scartare tutti i materiali usati seguendo le procedure previste per i materiali infetti.

#### Limiti del Test

Il metodo Sclavo Staphylo Rapid test è destinato alla individuazione della presenza di coagulasi e/o proteina A nel campione. Usualmente questa è associata allo *S. aureus* ma altri microrganismi possono agglutinare il reattivo al lattice. Per aumentare la specificità, dovrebbero essere sottoposti a questo test solo i ceppi di morfologia stafilococcica. Se il risultato di laboratorio contrasta con il quadro clinico si suggerisce di eseguire ulteriori analisi.

#### Caratteristiche del metodo

Il metodo Sclavo Staphylo Rapid test è stato eseguito su 217 ceppi (identificati sia con metodi molecolari che con test biochimici) coltivati su agar sangue. Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

SENSIBILITA'		
MSSA	139/139	100%
MRSA	72/75	98%
SPECIFICITA'		
STAPH (NON AUREUS)	0/13	100%

#### Precauzioni d'uso

Oltre alle eventuali indicazioni di rischio relative a componenti attivi, i reagenti possono contenere componenti non attivi quali conservanti e detergenti. La concentrazione totale di tali componenti è inferiore ai limiti riportati nella direttiva 1272/2008 CE e successive modifiche e integrazioni. Si raccomanda comunque di manipolare i reagenti secondo le norme di buona pratica di Laboratorio

**Il prodotto è conforme al D.L. 8 Settembre 2000, n. 332 "Attuazione della direttiva 98/79/CE relativa ai dispositivi medico diagnostici in vitro".**

#### Smaltimento reagenti

Lo smaltimento deve avvenire in accordo con le disposizioni comunitarie in materia di rifiuti o con le disposizioni nazionali o regionali vigenti.

#### Bibliografia

- Kloos W.E. and Jorgensen J.H., (1985) Aerobic bacteria: staphylococci. In, Lennette, E.H., IV (ed) . Manual of clinical microbiology, p. 143-153.
- Parisi J.T., (1985). Coagulase-negative staphylococci and the epidemiological typing of *S. epidermidis*. Microbiol. Rev. 49: 126-139.
- Bergdoll (1972) in "The staphylococci" Ed. J.O. Cohen Wiley-Interscience N.Y.
- Schlievert, et al. (1981) Identification and characterization of an exotoxin from *S. aureus* associated with toxic shock-syndrome. J. Infect. Dis. 143 509-516.
- Myrik, B.A., and P.D. Ellner. (1982) Evaluation of the latex slide agglutination test for identification of *S. aureus*. J. Clin.Microbiol. 15: 275-277.
- Maggi T., Parigi R., Brignali S. and Meacci F. Valutazione di un test di agglutinazione al lattice per l'identificazione di *S. aureus*. 36° Congresso Naz. AMCLI. Rimini 2-5/10-2007.

#### Simboli utilizzati

 = Dispositivo medico diagnostico in vitro

 = Numero di catalogo

 = Numero del lotto

 = Fabbricante

 = Data di scadenza

 = Temperatura di conservazione

 = Istruzioni per l'uso