

## **Staphaurex Kit**

**R30859901** – 120 testes

**R30859902** – 400 testes

**Staphaurex** é um kit para diferenciação rápida de estafilococos que produzem coagulase e/ou proteína A, sobretudo *Staphylococcus aureus*, de outros estafilococos que não produzem nenhum desses fatores, a partir de culturas isoladas em ágar.

- Kit para 120 ou 400 testes
- Resultados rápidos (20 segundos)

## INSTRUÇÕES DE USO

### STAPHAUREX KIT

(CÓD. 30859901 – 120 testes / COD. 30859902 – 400 testes)

#### Kit de teste rápido de látex para a identificação de *Staphylococcus aureus*.

## INTRODUÇÃO

STAPHAUREX KIT é um procedimento de aglutinação rápida em lâmina para diferenciação de bactérias da família staphylococci que possuem coagulase e/ou proteína A, sobretudo *Staphylococcus aureus*, de outras bactérias do gênero staphylococci que não possuem nenhum destes dois fatores.

### PRINCÍPIO DO TESTE

Testes de coagulase do plasma são frequentemente usados para auxiliar na identificação de *Staphylococcus aureus*. Dois fatores distintos estão envolvidos independentemente. O teste de coagulase em lâmina detecta o fator de aglutinação associado às células, às vezes citado como coagulase de ligação, que reage com fibrinogênio para causar agregação dos microorganismos<sup>1</sup>. O teste de coagulase em tubo detecta staphylocoagulase extracelular, às vezes chamada de coagulase livre, que atua a prótrombina iniciando, assim, a formação de coágulo no plasma. Aproximadamente 97% dos *S. aureus* isolados em humanos possuem ambos os fatores; cepas sem um dos fatores ocorrem em proporções desiguais<sup>2</sup>. Reações falso positivas e falso negativas podem ser encontradas em ambos os testes<sup>3</sup>.

Mais de 95% das cepas humanas de *S. aureus* produzem proteína A, independentemente do fator de aglutinação ou da staphylocoagulase, e isto pode ser associado às células ou pode ser extracelular<sup>4</sup>. A proteína A tem uma afinidade específica ao fragmento Fc da imunoglobulina G (IgG).

Foi demonstrado que culturas de *S. aureus* possuindo o fator de aglutinação e a proteína A podem ser identificadas usando partículas de látex revestidas com plasma humano, que aglutinam em um procedimento rápido em lâmina<sup>5</sup>. O reagente Staphaurex consiste em partículas de látex, poliestireno revestidas com fibrinogênio e IgG. Quando misturado em uma lâmina com uma suspensão de organismos de *S. aureus*, a reação do fator de aglutinação com o fibrinogênio, e/ou da proteína A com a IgG causa aglutinação rápida e forte das partículas de látex.

### REAGENTES

#### Conteúdo do Kit para 120 Testes

1- **Látex Teste:** 3 frascos contendo 1,7 ml de suspensão tamponada de látex poliestireno (cada frasco suficiente para 40 testes). As partículas de látex são revestidas com fibrinogênio humano e IgG. Contém 0,0025% de preservativo Bronidox®. (O Bronidox® 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano em 1,2 propilenoglicol é fornecido/fabricado pela Henkel KgaA, sendo também uma marca registrada da companhia).

Obs. Soluções concentradas de IgG e fibrinogênio, usadas para revestir as partículas de látex, foram testadas para a presença do antígeno de superfície da hepatite B, anti-HCV e anti-HIV-1/HIV-2 demonstraram resultados negativos.

2- **Cartões de Reação Descartáveis:** cartões com 6 áreas de reação, suficientes para 120 testes

3- **Bastões Descartáveis de Amostragem e/ou Mistura:** bastões suficientes para 120 testes

#### Folheto de Instruções de Uso

#### Conteúdo do Kit para 400 Testes

1- **Látex Teste:** 10 frascos contendo 1,7 ml de suspensão tamponada de látex poliestireno (cada frasco suficiente para 40 testes). As partículas de látex são revestidas com fibrinogênio humano e IgG. Contém 0,0025% de preservativo Bronidox®. (O Bronidox® 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano em 1,2 propilenoglicol é fornecido/fabricado pela Henkel KgaA, sendo também uma marca registrada da companhia).

Obs. Soluções concentradas de IgG e fibrinogênio, usadas para revestir as partículas de látex, foram testadas para a presença do antígeno de superfície da hepatite B, anti-HCV e anti-HIV-1/HIV-2 demonstraram resultados negativos.

2- **Cartões de Reação Descartáveis:** cartões com 6 áreas de reação, suficientes para 400 testes

3- **Bastões Descartáveis de Amostragem e/ou Mistura:** bastões suficientes para 400 testes

#### Folheto de Instruções de Uso

#### Advertências e Precauções.

- Estes reagentes são somente para uso diagnóstico *in vitro*.  
- As amostras teste podem conter microorganismos patogênicos e devem ser manuseadas com as devidas precauções.  
- Material não descartável deve ser esterilizado por procedimento apropriado após o uso, como por exemplo autoclavagem por 15 a 121°C. Materiais descartáveis devem ser incinerados ou autodoados.

- Não pipetar com a boca. Usar avental de laboratório, luvas descartáveis e proteção para os olhos quando estiver manuseando amostras e fazendo uso do kit. Lavar as mãos quando finalizar o procedimento.

#### Armazenamento e Vida Útil dos Reagentes

- O Látex Teste é fornecido pronto para uso e deve ser armazenado na posição vertical a 2-8°C, onde irá manter sua atividade até a data mostrada no rótulo do frasco.  
- NÃO CONGELAR.  
- EVITAR O ARMAZENAMENTO A TEMPERATURA AMBIENTE.  
- NÃO EXPOR O REAGENTE A LUZ FORTE NA BANCADA DE TRABALHO.

- Não utilizar os reagentes fora da data de validade  
- O reagente látex deve ser levado a temperatura ambiente (15 - 30°C) antes do uso  
- Não tocar nas áreas de reação dos cartões descartáveis  
- Não interpretar aglutinação que ocorrer após 20 segundos como resultado positivo. - Agitação prolongada pode resultar em reações falso-positivas.

Uma falha dos reagentes ao reagir como descrito na seção "Procedimentos de Controle de Qualidade" pode indicar deterioração. Reagentes de látex que mostram sinais de agregação ou de precipitação, devem ser bem misturados antes do uso. Se isto ocorrer, o reagente pode ter sido congelado ou mantido a uma temperatura elevada e não deve ser usado.

#### Coleta e Preparação da Amostra

Para detalhes sobre coleta e tratamento das amostras, livros texto padrão devem ser consultados<sup>6</sup>. As culturas devem ser testadas diretamente da placa de cultura primária, caso haja um crescimento suficiente. Alternativamente, uma sub-cultura deve ser feita em ágar sangue ou nutriente para testes subsequentes. Os melhores resultados são obtidos de meios enriquecidos como Ágar Sangue ou Ágar Nutriente. Ágar Columbia CNA e Ágar Baird-Parker também dão resultados satisfatórios. O USO DE CULTURAS FRESCAS CRESCIDAS DURANTE A NOITE, É RECOMENDADO. Crescimento em Ágar DNase pode ser testado dentro de 15 minutos do crescimento da placa com ácido clorídrico. Organismos crescendo em meios seletivos hipertônicos, como Ágar Manitol-Sal, tendem a mostrar "rugosidade" ou "viscosidade" no látex, e a interpretação das reações obtidas no teste pode ser mais difícil quando estes meios são usados. É recomendado que a cultura passe por um teste de coloração de Gram em associação com o teste de látex para confirmar a morfologia estafilocócica dos microorganismos.

#### Materiais Fornecidos.

Seguem abaixo materiais fornecidos nos kits para 120 e 400 testes.  
1- Suspensões de Látex Teste (conforme descrito na seção Reagentes)  
2- Cartões de Reação Descartáveis com 6 áreas de reação (suficientes para 120 e 400 testes)

### - Nota:

Os cartões podem ser cortados quando forem realizados menos de seis testes.

3- Bastões de amostragem ou de mistura descartáveis (suficientes para 120 e 400 testes).

4- Folheto de Instruções de Uso

### PROCEDIMENTO

1. Cada frasco do reagente de látex contém 1,7 ml (suficiente para 40 testes). Agitar o látex para obter uma suspensão homogênea e dispensar uma gota em um círculo do cartão de reação para cada cultura a ser testada.

2. Com um bastão de mistura, coletar um pouco da cultura tocando com a extremidade achatada do bastão. Como guia, uma quantidade de crescimento equivalente a seis colônias de tamanho médio deve ser coletada. Antes da amostragem das colônias do Ágar DNase que foi preenchido com ácido clorídrico, inclinar a placa para que o crescimento não esteja coberto por ácido clorídrico.

3. Emulsificar a amostra de cultura em uma gota de látex esfregando com a extremidade achatada do bastão. Esfregar bem, mas não muito forte ou poderá danificar a superfície do cartão. Algumas cepas, principalmente de espécies diferentes de *S. aureus* são difíceis de emulsificar e isto deve ser notado, uma vez que os pedaços de colônias não emulsificadas podem fazer com que o látex pareça "áspero" ou "viscoso" na leitura. Espalhar o látex por aproximadamente metade da área do círculo. Descartar o bastão de mistura de maneira segura.

4. Girar o cartão cuidadosamente por 20 segundos e examinar se há aglutinação, segurando o cartão a uma distância normal de leitura (25-35 cm) dos olhos. Não usar lentes de aumento. Os padrões obtidos são claros e podem ser reconhecidos sob quaisquer condições normais de iluminação.

5. Descartar o cartão em desinfetante e não reutilizar.

### Leitura dos Resultados

**Resultado Positivo:** Um resultado positivo é indicado pelo desenvolvimento de um padrão de aglutinação, mostrando as partículas de látex aglutinadas bem visíveis com clareamento do fundo branco (Figura 1). A maioria das reações positivas serão praticamente instantâneas.

**Resultado Negativo:** Um resultado negativo é indicado quando o látex não aglutina e o fundo branco continua não modificado durante o teste (Figura 2). Deve também ser notado que pequenos grânulos podem ser vistos em padrões negativos devido à natureza particulada de ambos o reagente. NOTA: Uma granulação aumentada pode ser observada se as Suspensões de Látex forem giradas por mais de 20 segundos. Reações ásperas ou viscosas aparecem como manchas brancas ou agregados filamentosos (Figura 3) e devem ser interpretadas como segue:

1) Quando acompanhadas por um fundo branco elas devem ser registradas como negativas.  
2) Quando acompanhadas por um fundo claro elas são consideradas positivas.

Deve-se tomar cuidado na interpretação de tais resultados.

Figura 1



Figura 2



Figura 3



### Interpretação dos Resultados

Uma reação positiva indica a presença ou de coagulase ou de proteína A, ou ambas, na cultura em teste e um resultado negativo indica a ausência delas.

### Procedimentos de Controle de Qualidade.

Sub circunstâncias normais, no dia-a-dia do teste, será fácil observar se o reagente falhou ou operou apropriadamente. A suspensão de látex deve sempre ser inspecionada para a presença de grânulos quando é dispensada no cartão de teste. Alguns grânulos podem ser removidos agitando vigorosamente, mas se houver evidência de auto-aglutinação, a suspensão não deve ser usada. Além disso, culturas estoques de *S. aureus* e de *S. epidermidis* devem ser usadas periodicamente como controles.

### Limitações do Procedimento

- Amostras crescidas em meios hipertônicos como Ágar Manitol-Sal tendem a não emulsificar bem, dando reações "ásperas" ou "viscosas" (veja Leitura dos Resultados) e podem ser relativamente fracas no seu conteúdo de proteína A e de coagulase.

- Algumas espécies de *Staphylococcus* junto com *S. aureus* e *S. hyicus* e *S. intermedius* podem mostrar resultados positivos em testes de coagulase convencionais<sup>7</sup>, e podem também reagir no procedimento de látex. Se necessário, estas espécies podem ser identificadas por procedimentos de testes bioquímicos, mas elas não são consideradas de grande importância clínica no homem.

- Outras espécies estafilocócicas que não possuem coagulase, como *S. capitis*, mas possuem fatores de ligação de proteínas plasmáticas<sup>8</sup> não reagem no Teste STAPHAUREX. Entretanto, algumas cepas identificadas bioquimicamente como sendo de *S. saprophyticus* produzem reações fracas e uma maior identificação de colônias isoladas de amostras urinárias pode ser necessária.

- Algumas bactérias do gênero streptococci e possivelmente outros microorganismos que possuem imunoglobulina ou outros fatores de ligação de proteínas plasmáticas podem reagir no teste de látex<sup>9,10,11</sup>. Há várias espécies como a *Escherichia coli* e *Candida albicans* que são capazes de aglutinar não-especificamente às partículas de látex. Para eliminar a interferência destes organismos, um teste de coloração de Gram deve ser realizado para que somente organismos com morfologia estafilocócica sejam testados.

### Características de Desempenho.

STAPHAUREX KIT foi avaliado em cinco centros, em um total de 940 culturas clínicas de rotina (supostas, em seu isolamento estafilocócicas). As culturas foram também testadas por dois ou mais dos seguintes procedimentos estabelecidos: coagulase em lâmina, coagulase em tubo, DNase, testes bioquímicos (Tabela 1).

### Sensibilidade

525 das culturas clínicas testadas deram uma reação positiva em pelo menos um dos testes estabelecidos para identificação de *S. aureus* e 516 destas amostras eram positivas em dois ou mais testes (Tabela 1)

STAPHAUREX KIT identificou corretamente 522 das 525 culturas supostas de *S. aureus*. Duas das três culturas que deram resultado negativo não possuíam fator de aglutinação, nem proteína A ou não produziam coagulase livre e foram identificadas depois como espécies estafilocócicas diferentes de *S. aureus*. A terceira amostra não estava disponível para uma maior identificação. A sensibilidade do STAPHAUREX KIT foi calculada como sendo de 99,8% (522/523).

### Especificidade

STAPHAUREX KIT obteve um resultado negativo em 413 das 415 culturas que não reagiram em nenhum dos testes estabelecidos para a identificação de *S. aureus* (especificidade de 99,5%, Tabela 1). As duas culturas que deram resultado positivo com o STAPHAUREX KIT foram ambas identificadas como sendo de *S. saprophyticus*.

**Valores Previsíveis**  
Os valores previsíveis de testes STAPHAUREX KIT positivos e negativos eram de 99.6% (52/524) e de 99.8% (415/416) respectivamente.

**TABELA 1**

**Identificação de *S. aureus*: correlação entre testes laboratoriais estabelecidos\* e STAPHAUREX KIT em 940 culturas clínicas de rotina**

**STAPHAUREX KIT**

	+	1 <sup>b</sup>	Totais
<i>S. aureus</i> = resultado positivo em teste estabelecido*	515	1 <sup>b</sup>	516
<i>S. aureus</i> = resultado positivo em um teste estabelecido*	7	2 <sup>c</sup>	9
Não <i>S. aureus</i>	2 <sup>c</sup>	413	415
Totais	524	416	940

- a Coagulase em lâmina, coagulase em tubo, DNase, testes bioquímicos  
b Cultura não estava disponível para maior identificação  
c Estas culturas não possuem fator de agregação, nem proteína A ou não produzem coagulase livre e foram identificados depois, por um Laboratório de Referência independente, como espécies estafilocócicas diferentes de *S. aureus*  
d Ambas as culturas identificadas como sendo de *S. saprophyticus*

**Referências Bibliográficas.**

- Essers, L. and Radebold, K. (1980). Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* by a latex agglutination test. *J. clin. Microbiol.*, **12**, 641.
- Jejlaszewicz, J., Switalski, L. M. and Adlam, C. (1983) *Staphylococci and Staphylococcal infections*, Vol. 2, Edited by Easmon, C.S.F. and Adlam, C. Academic Press, London, pages 525-557.
- Kloos W.E. and Jorgensen J.H. (1965). Manual of Clinical Microbiology, 4<sup>th</sup> Ed., Edited by Lennette, E.H., balows, A., Hausler, W.J. and Shadomy, H.J. American Society for Microbiology, Washington, D.C. pages 143-153.
- Langone, J.J. (1982). Protein A of *Staphylococcus aureus* and Related Immunoglobulin Receptors Produced by Streptococci and Pneumonococci. *Advances in Immunology*, **32**, 157
- Myhre, E.B. and Kronvall, G. (1980). Demonstration of specific Binding Sites for Human Serum Albumin in Group C and G Streptococci. *Inf. Immun.*, **27**, 6.
- Myhre, E.B. and Kronvall, G. (1980). Immunochemical Aspects of Fc-Mediated Binding of Human IgG Subclasses to Group A, C, and G Streptococci. *Molecular Immunol.*, **17**, 1563.
- Myhre, E.B. and Kuusela, P. (1983). Binding of Human Fibronectin to Group A, C, and G Streptococci. *Inf. Immun.*, **40**, 29.
- Osland, A. (1982). Properties of the Serum Factor involved in the Precipitation Reaction with *Staphylococcus capitis*. *Acta path. Microbiol. Immunol. scand. Sect B*, **90**, 197.
- 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.

- Runehegen, A., Schönbeck 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.
- Switalski, L.M. (1976). Isolation and Purification of Staphylococcal Clumping Factor. *Zbl. Bakt. Parasit. Infekt. Hyg. I. Abt.*, Supplement 5, 413.

**EDIÇÃO INSTRUÇÃO DE USO: JULHO/2003**

**LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E VALIDADE: VIDE RÓTULOS DOS FRASCOS E KIT**