

Staphaurex Plus Kit

R30950102 – 150 testes

R30950201 – 450 testes

Staphaurex Plus é um kit para identificação rápida de estafilococos que possuem fator de aglutinação, proteína A e/ou antígenos de superfície característicos de *Staphylococcus aureus*.

Dois antígenos, tipo somático 18 e tipo capsular 5, foram associados com o fenótipo resistente à metilina (MRSA). A incorporação de antisoro desses antígenos pode aumentar a sensibilidade dos ensaios de aglutinação para cepas MRSA.

Investigações das cepas que são negativas nos ensaios rápidos mostraram que anticorpos para um único antígeno somático ou capsular são insuficientes para detectar todas as cepas que são negativas nos testes de 1ª geração de aglutinação de partículas. **Staphaurex Plus Kit** utiliza látex revestido por fibrogênio para detectar a maioria das cepas clínicas e IgG específica para um grupo, cuidadosamente selecionado, de cepas que são negativas nos testes de 1ª geração.

INSTRUÇÕES DE USO

STAPHAUREX PLUS KIT (CÓD. 30950102 – 150 testes / CÓD. 30950201 – 450 testes)

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

INTRODUÇÃO

STAPHAUREX PLUS KIT é um teste rápido de aglutinação do látex para a identificação de estafilococos que possuem fator de aglutinação, proteína A e/ou antígenos de superfície característicos de *Staphylococcus aureus*.

Resumo e Explicação do Teste

S. aureus possuem um número de propriedades que são usadas para confirmar a identificação. Estas incluem: coagulase livre, fator de aglutinação (coagulase ligada), termoinibitase e proteína A¹. O tubo teste de coagulase detecta a coagulase livre sendo considerado como um teste de referência para *S. aureus*¹. Este teste, entretanto, demora de 4 a 24 horas e o plasma pode mostrar uma variação de lote a lote². Nesta última década, ensaios de aglutinação de partículas foram desenvolvidos e proporcionaram uma identificação muito mais rápida^{3,4}. Estes ensaios de primeira geração são baseados em partículas de látex ou células vermelhas revestidas com fibrinogênio, para detectar o fator de aglutinação, ou fibrinogênio e imunoglobulina G (IgG), para detectar o fator de aglutinação e a proteína A estafilocócica.

Recentemente provou-se que estes testes não detectaram algumas cepas de *S. aureus*, particularmente uma proporção de cepas resistentes à meticilina / oxacilina (MRSA)^{5,6,7}. Algumas dessas cepas podem expressar níveis não detectáveis de fator de aglutinação e proteína A⁸.

Dois antígenos, tipo somático 18⁹, e tipo capsular 5^{10,11}, foram associados com o fenótipo resistente à meticilina. A incorporação de alguns desses antígenos pode aumentar a sensibilidade dos ensaios de aglutinação para cepas MRSA. Investigações das cepas que são negativas nos ensaios rápidos, mostraram que anticorpos para um único antígeno somático ou capsular são insuficientes para detectar todas as cepas que são negativas nos testes de 1ª geração de aglutinação de partículas. STAPHAUREX PLUS KIT utiliza látex revestido por fibrinogênio para detectar a maioria das cepas clínicas e IgG específica para um grupo, cuidadosamente selecionado, de cepas que são negativas nos testes de 1ª geração.

Princípio do Teste

O teste de látex STAPHAUREX PLUS KIT consiste em partículas de látex amarelas que foram revestidas por fibrinogênio e imunoglobulina G (IgG) de coelho específicas para *S. aureus*. Quando uma gota de reagente é misturada em um cartão com organismos de *S. aureus*, ocorre aglutinação rápida devido a interação de (i) fibrinogênio e fator de aglutinação, (ii) a porção Fc da IgG e proteína A ou (iii) IgG específica e antígeno de superfície de célula.

Algumas cepas de *Staphylococcus* spp, particularmente *S. saprophyticus*, podem causar agregação não específica de partículas de látex. Assim, um Controle Látex é fornecido para auxiliar na identificação de reações não específicas.

Reagentes	Componentes do Kit	
	150 Testes	450 Testes
STAPHAUREX PLUS KIT		
Látex Teste (tampa amarela)	1 frasco conta-gotas	3 frascos conta-gotas
Látex Controle (tampa cinza)	1 frasco conta-gotas	3 frascos conta-gotas
Cartões de Reações descartáveis	Suficiente para 150 testes	Suficiente para 450 testes
Bastões de Mistura descartáveis	Suficiente para 150 testes	Suficiente para 450 testes

Descrição dos reagentes, preparação para o uso e condições de armazenamento recomendadas

Látex Teste. 6,2 mL de uma suspensão tamponada de partículas de látex de poliestireno amarelas revestidas com fibrinogênio humano e IgG de coelho. Contém 0,05 % de Bronidox® como conservante¹². (O Bronidox® 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano em 1,2 propilenolol é fornecido/fabricado pela Henkel KgaA, sendo também uma marca registrada da companhia).

Látex Controle. 6,2 mL de uma suspensão tamponada de partículas de látex de poliestireno amarelas revestidas por proteína de soro bovino não reativo com *S. aureus*. Contém 0,05 % de Bronidox® como conservante¹². (O Bronidox® 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano em 1,2 propilenolol é fornecido/fabricado pela Henkel KgaA, sendo também uma marca registrada da companhia).

As suspensões de látex devem atingir temperatura ambiente (18 a 25°C) antes do uso. Após armazenamento prolongado, alguma agregação ou ressecamento do látex pode ocorrer ao redor da tampa do frasco. Nestas circunstâncias, o frasco de látex deve ser homogeneizado vigorosamente por alguns segundos até que a ressuspensão seja completa.

As suspensões de látex devem ser armazenadas em posição vertical de 2 a 8 °C, pois nessas condições manterão atividade até a data de expiração do kit. Não congele as suspensões de látex. Evite armazenamento à temperatura ambiente. Cartões de Reação e Bastões para mistura devem ser armazenados à temperatura ambiente. STAPHAUREX PLUS KIT foi desenvolvido usando-se os Cartões de Reação descartáveis. Não substituir os Cartões de Reação por lâminas de microscópio descartáveis quando as amostras são testadas usando STAPHAUREX PLUS KIT.

Avisos e Precauções

1. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

Informação de Saúde e Segurança

1. **CUIDADO.** Este kit contém componentes de origem humana. Nenhum teste conhecido pode oferecer segurança completa que produtos derivados de origem humanas não transmitirão infecção. Assim, todo material de origem humana deve ser considerado como potencialmente infectante. É recomendado que estes reagentes e amostras sejam manuseados usando-se boas práticas de laboratório estabelecidas.
2. Materiais não descartáveis devem ser esterilizados por qualquer procedimento apropriado após o uso, embora o método de preferência seja autoclavar por 15 minutos a 121°C. Materiais descartáveis devem ser autoclavados ou incinerados, após o uso. Respingos de materiais potencialmente infectantes devem ser removidos imediatamente com papel absorvente e as áreas contaminadas lavadas com um desinfetante bactericida padrão. Materiais usados para limpar respingos, incluindo luvas, devem ser descartados como rejeito biológico.
3. Use avental de laboratório, luvas descartáveis e proteção para os olhos enquanto manusear amostras e realizar o ensaio, lave bem as mãos quando terminar.
4. Quando usados de acordo com os princípios de Boas Práticas de Laboratório, bons padrões de higiene ocupacional e de acordo com as Instruções de Uso, os reagentes fornecidos não são considerados como prejudiciais à saúde.

Precauções Analíticas

1. Não use reagentes após a data de expiração estabelecida.
2. Reagentes de Látex que mostram sinais de agregação ou "pouca agregação" antes do uso devem ter sido congelados e não devem ser usados.
3. Quando usar o frasco conta-gotas, é importante deixá-lo em posição vertical e que a gota se forme na extremidade. Se o conta-gotas se tornar molhado, um volume incorreto se formará ao redor e não na ponta, se isto ocorrer seque o conta-gotas antes de continuar.
4. Não toque as áreas de reação nos cartões.
5. Não interprete aglutinação que aparece depois de 30 segundos como um resultado positivo. Agitação prolongada pode resultar em reações falso-positivas com algumas coagulases negativas isoladas.

Prazo de Validade : 12 meses à partir da data de fabricação

Coleta das Amostras e Armazenamento

Para detalhes sobre coleta de amostras e tratamento consulte textos técnicos padrão¹. As culturas devem ser testadas em qualquer um dos seguintes meios:

Ágar Sangue	Ágar Columbia CNA	Ágar Sangue Columbia
Ágar Nutriente	Ágar Mueller Hinton com sangue 5%	
Ágar Tryptone soya	Ágar Baird-Parker	
Ágar Tryptone soya com sangue 5%	Ágar Sal-Manitol (*)	

(*) Nota: Crescimento de amostras em meio contendo antibióticos ou em meios altamente suplementados com sal como Ágar Sal-Manitol, pode apresentar aglutinação contendo grumos em cordão. É RECOMENDADO O USO DE CULTURAS FRESCAS QUE CRESCERAM DURANTE A NOITE.

Materiais Fornecidos

Reagentes de látex suficientes são fornecidos para 150 ou 450 testes, ver Componentes do Kit.

Procedimento do Teste

Por favor, ler "Precauções Analíticas" antes de realizar o teste.

1. Amostras crescidas em meio contendo antibióticos ou meio com alto suplemento de sal como Agar Sal-Mantol podem apresentar uma aglutinação contendo grumos em cordão.
2. Algumas espécies de estafilococos em adição ao *S. aureus* notadamente *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis*, *S. schleiferi*, podem apresentar resultados positivos no teste de coagulase e podem reagir em procedimentos rápidos de látex. Se necessário, estas espécies podem ser identificadas por procedimentos de testes bioquímicos. *S. hyicus* e *S. intermedius* são raramente encontradas no laboratório clínico.
3. Algumas outras espécies estafilocócicas coagulase-negativas, como *S. capitis*, possuem fatores que ligam proteínas do plasma, que não reagem no teste Staphaurex Plus. Porém algumas cepas identificadas bioquimicamente como *S. saprophyticus* apresentaram reações positivas fracas, e identificação adicional através de urina pode ser necessária.
4. Alguns estreptococos e possivelmente outros organismos possuem imunoglobulina ou outros fatores que ligam proteínas do plasma que podem reagir e existem muitas bactérias como *E. coli*, que são capazes de aglutinar não especificamente partículas de látex. Para eliminar interferência potencial destes organismos, os testes de coloração Gram e catalase devem ser realizados, pois assim somente organismos com morfologia estafilocócica são testados.

5. Todos os resultados questionáveis devem ser checados quanto à pureza e identificados por um método alternativo.

Características específicas de Desempenho
 O desempenho do STAPHAUREX PLUS KIT foi avaliado em quatro laboratórios microbiológicos norte-americanos e em dois europeus, em um total de 646 culturas clínicas isoladas de rotina (presumidamente estafilocócicas) e em 671 culturas de estoque. As culturas foram testadas em paralelo com o procedimento do tubo de coagulase, coloração Gram e pelo menos um teste rápido alternativo para a identificação de *S. aureus*. Os resultados estão resumidos nas Tabelas 1 e 2.

Culturas Clínicas Isoladas
S. aureus resistente à meticilina (MRSA)
 Um total de 151 culturas frescas de *S. aureus* que mostraram ser resistentes a um ou mais antibióticos foram testadas nos laboratórios de referência americanos e europeus. STAPHAUREX PLUS KIT identificou corretamente 150 dessas culturas. A cultura discrepante foi positiva em um teste de tubo de coagulase e em um teste rápido de látex alternativo.
 A sensibilidade do STAPHAUREX PLUS KIT neste grupo de culturas MRSA é estimada ser de 99,34% (150/151).

S. aureus sensíveis à meticilina (MSSA)
STAPHAUREX PLUS KIT identificou corretamente 335 de 337 culturas confirmadas de *S. aureus* dos laboratórios microbiológicos de referência. As culturas isoladas discrepantes incluíram uma que também apresentou resultado negativo com um teste alternativo.
 A sensibilidade do STAPHAUREX PLUS KIT neste grupo de culturas MSSA é estimada ser de 99,40% (335/337).

Outros estafilococos
 Um total de 157 culturas frescas estafilocócicas não-*S. aureus* foram também testadas. STAPHAUREX PLUS KIT apresentou resultados negativos em 150 dessas culturas, as quais incluíram *S. epidermidis* e *S. haemolyticus*. As sete culturas restantes apresentaram um resultado positivo no STAPHAUREX PLUS KIT incluindo três que eram também positivas em um teste rápido alternativo. A especificidade do STAPHAUREX PLUS KIT neste grupo de culturas estafilocócicas não-*S. aureus* é estimada ser de 95,50% (150/157).

Desempenho Total do STAPHAUREX PLUS KIT em comparação com o Tubo da Coagulase em culturas isoladas de S. aureus

Sensibilidade Relativa	99,4%
Especificidade Relativa	95,5%
Concordância total	98,4%

Nota: STAPHAUREX PLUS KIT apresentou um resultado não interpretável com 0,15% (1/646) das culturas frescas, que foram excluídas do resumo acima.

Culturas Armazenadas
S. aureus resistente à meticilina (MRSA)
 Um total de 282 de culturas armazenadas de *S. aureus* que mostraram ser resistentes a um ou mais antibióticos, foram testadas. Staphaurex Plus identificou corretamente 281 dessas culturas. A cultura discrepante foi positiva com um teste de tubo de coagulase e negativa com um teste rápido de látex alternativo.
 A sensibilidade do STAPHAUREX PLUS KIT neste grupo de culturas MRSA é estimada ser de 99,65% (281/282).

S. aureus sensíveis à meticilina (MSSA)
STAPHAUREX PLUS KIT identificou corretamente 242 de 248 culturas confirmadas como *S. aureus* de laboratórios microbiológicos de referência. As culturas discrepantes incluíram quatro, que também apresentaram um resultado negativo com um teste alternativo.
 A sensibilidade do STAPHAUREX PLUS KIT neste grupo de culturas MSSA é estimada ser de 97,6% (242/248).

Outros estafilococos
 Um total de 139 culturas estafilocócicas armazenadas não-*S. aureus* foram também testadas. STAPHAUREX PLUS KIT apresentou um resultado negativo com 132 dessas culturas isoladas, as quais incluíram *S. saprophyticus*, *S. epidermidis* e *S. haemolyticus*. As sete culturas restantes que deram resultado positivo com STAPHAUREX PLUS KIT incluíram duas que eram também positivas com um teste rápido alternativo.
 A especificidade do STAPHAUREX PLUS KIT neste grupo de culturas estafilocócicas não-*S. aureus* é estimada ser de 95,0% (132/139).

Passo 1 Misturar vigorosamente e examinar os reagentes de látex quanto a agregação antes do uso.
 Consultar a seção de Controle de Qualidade e Inspeção Visual para obter instruções adicionais.

Passo 2 Para cada amostra teste colocar uma gota de LÁTEX TESTE em um círculo de um Cartão de Reação e uma gota de LÁTEX CONTROLE em um outro círculo. Garanta que os frascos conta-gotas sejam manuseados verticalmente para dispensar uma gota precisa.

Passo 3 Usar um bastão de mistura, remover um crescimento de colônias suficiente de uma cultura pura ou de colônias bem isoladas para cobrir a ponta do bastão. Como um guia, uma quantidade de crescimento equivalente a seis colônias de tamanho médio deve ser usada.

Passo 4 Emulsificar a amostra de cultura na gota de LÁTEX TESTE homogeneizando com a ponta do bastão. Misturar bem, mas não tão vigorosamente ou a superfície do cartão pode ser danificada. Algumas cepas, particularmente de espécies diferentes das cepas de *S. aureus* são difíceis de emulsificar e isto deve ser notado, desde que grumos de cultura não-emulsificadas podem fazer com que o látex tenha a aparência "irregular" ou "em cordão" quando pronto. Espalhar o látex por aproximadamente metade da área do círculo. Descartar o bastão de mistura seguindo as normas de segurança.

Passo 5 Usar outro bastão, para emulsificar uma amostra de cultura similar no CONTROLE LÁTEX.

Passo 6 Agitar o Cartão delicadamente por 30 segundos enquanto observa a aglutinação. O cartão deve ser seguro a uma distância normal de leitura (25-35 cm). Não usar lentes de aumento.

Passo 7 Descartar o Cartão de Reação usado, segundo as normas de segurança.

Controle de Qualidade
 Os seguintes procedimentos devem ser realizados com cada lote de kit teste e periodicamente durante a vida útil do kit. Normas locais podem necessitar que procedimentos de controle de qualidade sejam realizados em cada ensaio teste. Um ensaio deve ser definido como um período de até 24 horas.
 Qualquer desvio dos resultados esperados indica que deve haver um problema com os reagentes, o qual deve ser solucionado antes de realizar testes adicionais com amostras clínicas.

Inspeção Visual
 Deve-se inspecionar a agregação das suspensões de látex quando elas são adicionadas no Cartão de Reação. Se há evidência de aglutinação antes da adição de amostra teste, a suspensão não deve ser usada. Após armazenamento prolongado algumas agregações ou ressecamento podem ocorrer ao redor do frasco. Se isto é observado, o frasco deve ser agitado vigorosamente por alguns segundos até que a ressuspensão seja completa.

Procedimento de Controle
 O desempenho dos reagentes Teste e Látex Controle deve ser confirmado usando culturas frescas e crescidas durante a noite de cepas de bactéria de referência, seguindo-se o método descrito no Procedimento do Teste. Cepas de referência disponíveis são mostradas abaixo.

Espécies	Resultados Esperados	
	Látex Teste	Látex Controle
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	+	-
<i>S. epidermidis</i> (ATCC 12228)	-	-

Resultados do Teste
Resultado Positivo
 Aglutinação do Látex Teste acompanhada por ausência de aglutinação do Látex Controle indica a presença tanto de coagulase, proteína A como de antígenos comumente encontrados em *S. aureus*, na cultura testada. A maioria das reações positivas serão praticamente instantâneas. Resultados falso-positivos podem ocorrer se a leitura do teste é feita depois de 30 segundos.
Resultado Negativo
 Ausência de aglutinação em ambos os reagentes significa que a cultura testada não é *S. aureus*.
Resultados Não-Definidos
 Aglutinação visível do Látex Controle, tanto mais forte como mais fraca que o Látex Teste, indica reação não-específica.
Limitações do Procedimento

Desempenho Total do STAPHAUREX PLUS KIT em comparação com o teste Tubo de Coagulase em Culturas armazenadas de *S. aureus*

Sensibilidade Relativa	98,7%
Especificidade Relativa	95,0%
Concordância total	97,9%

Nota: STAPHAUREX PLUS KIT apresentou um resultado não-interpretável com 0,3% (2/671) das culturas armazenadas, que foram excluídas do resumo acima.

Tabela 1

Reatividade do STAPHAUREX PLUS KIT em Culturas clínicas presumidamente estafilocócicas^a Resultado do STAPHAUREX PLUS KIT

	Positivo	Negativo	Total
<i>S. aureus</i> resistente à meticilina (MRSA)	150	1	151
<i>S. aureus</i> sensível à meticilina (MSSA)	335	2	337
Culturas isoladas não- <i>S. aureus</i> ^b	7	150	157

^a STAPHAUREX PLUS KIT apresentou um resultado não interpretável com 1 amostra. Esta foi excluída da tabela.

^b inclui *S. saprophyticus*, *S. epidermidis* e *S. haemolyticus*.

Tabela 2

Reatividade do STAPHAUREX PLUS KIT em Culturas estafilocócicas armazenadas^a

Resultado do STAPHAUREX PLUS KIT	Positivo	Negativo	Total
<i>S. aureus</i> resistente à meticilina (MRSA)	281	1	282
<i>S. aureus</i> sensível à meticilina (MSSA)	242	6	248
Culturas isoladas não- <i>S. aureus</i> ^b	7	132	139

^a STAPHAUREX PLUS KIT apresentou um resultado não interpretável com 2 amostra. Estas foram excluídas da tabela.

^b inclui *S. saprophyticus*, *S. epidermidis* e *S. haemolyticus*.

Referências Bibliográficas.

- 1 Kloos, W.E. and Lambe, D.W. (1991). Staphylococcus. Manual of Clinical Microbiology, 5th Ed. Edited by Balows, A., Hausler, W.J., Herrmann, K.L, Isenberg, H.D. and Shadomy, H.J., American Society for Microbiology, Washington, D.C. Pages 222-237.
- 2 Selepak, S. T. and Witebsky F.G. (1985) Inoculum size and lot-to-lot variation as significant variables in the tube coagulase test for *Staphylococcus aureus* J. Clin. Microbiol. 22, 835-837.
- 3 Essers, L. and Radebold, K. (1980) Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* by a Latex Agglutination Test, J. Clin. Microbiol. 12, 641-643.
- 4 Orsi, A, Bartoloni, A, Martelli, L., Colao, M.G. (1989). Evaluation of six different agglutination methods for rapid identification of *Staphylococcus aureus*, Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 8, 655-656.
- 5 Piper J., Hadfield, T., McClesky, F., Evans, M, Friedstrom, S., Lauderdale, P. and Winn, R. (1988) Efficacies of rapid agglutination testes for identification of Methicillin-resistant Staphylococcal strains as *Staphylococcus aureus* J. Clin. Microbiol. 26, 1907-1909.
- 6 Ruane, P., Morgan, MA, Citron, DM, and Mulligan, ME. (1986). Failure of rapid agglutination methods to detect Oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* J. Clin. Microbiol. 24, 490-492.
- 7 Wanger, AR., Morris, SL, Ericsson, C., Singh, KV and LaRocco, MT. (1992). Latex agglutination-negative Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* recovered from Neonates - epidemiologic features and comparison of typing methods J Clin. Microbiol. 30, 2583-2588.
- 8 Roberts, JIS, And Gaston, MA (1987). Protein A and Coagulase expression in epidemic and non-specific *Staphylococcus aureus* J. Clin. Pathol. 40, 837-840.
- 9 Chabbert, Y.A. and Pillet, J. (1967) . Correlation between "Methicilin resistance" and serotype in *Staphylococcus* Nature 213, 1137.
- 10 Nelles, M.J., Niswander, C.A., Karakawa, W.W., Vann, W.F. and Arbeit, R.D. (1985). Reactivity of type-specific monoclonal antibodies with *Staphylococcus aureus* clinical isolates and purified capsular polysaccharide. Infect. Immun. 49, 14-18.

11 Fournier, J.M., Bouvet, A, Boutonnier, A, Audurier, A, Goldstein, F, Pierre, J., Bire, A, Lebrun, L., Hochkeppel, H.K., (1987) . Predominance of capsular polysaccharide Type 5 among oxacilin-resistant *Staphylococcus aureus* J. Clin. Microbiol. 25, 1932-1933.

12 HenkelKgaA Bromidox® L. Manufacturers information and Safety Data Sheet for

EDIÇÃO INSTRUÇÃO DE USO: JULHO/2003
 LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E VALIDADE: VIDE RÓTULOS DOS FRASCOS E KIT