

DrySpot Staphylect

Plus

REF DRO100M

ES

1. UTILIDAD

DrySpot Staphylect Plus™ es una prueba de aglutinación de látex¹ en porta para la diferenciación del *Staphylococcus aureus* que poseen el factor de agregación (“clumping factor”), Proteína A y cierto polisacárido capsular encontrado en las cepas meticilínresistentes MRSA (del inglés “methicillin-resistant” *S. aureus*), de aquellos que no poseen estas propiedades.

2. PRINCIPIOS DE LA PRUEBA

Tradicionalmente, la diferenciación entre estafilococos coagulasa positivos y coagulasa negativos ha venido realizándose mediante la prueba de coagulasa en tubo que detecta la estafilocoagulasa extracelular o bien mediante pruebas de coagulasa en portaobjetos que detectan la coagulasa unida (“clumping factor”) presente en la superficie celular bacteriana. También hay otras pruebas disponibles incluyendo la de hemaglutinación pasiva (Staphylase DR-595 de Oxoid) y la prueba de DNasa.

Alrededor del 97% de las cepas de *Staphylococcus aureus* de procedencia humana poseen ambas coagulasas, la unida y la estafilocoagulasa extracelular.

La Proteína A se encuentra en la superficie celular de aproximadamente el 95% de los *S. aureus* humanos y tiene la facultad de unirse al fragmento Fc de la inmunoglobulina G (IgG)².

Ciertas cepas de *S. aureus* meticilín-resistentes (MRSA) pueden expresar cantidades indetectables de factor de agregación (“clumping factor”) y de Proteína A^{3,4,5}. No obstante, se ha observado que todas esas cepas poseen polisacárido capsular⁶. La cápsula puede enmascarar tanto a la Proteína A como al “clumping factor”, obstaculizando la aglutinación.

DrySpot Staphylect Plus utiliza partículas de látex azules unidas a fibrinógeno porcino e IgG de conejo que incluyen anticuerpos policlonales frente a los polisacáridos capsulares de *S. aureus*^{7,8}.

El reactivo se presenta desecado en la tarjeta de reacción. Cuando el reactivo de la tarjeta se mezcla con colonias de *S. aureus* emulsionadas en solución salina se da una aglutinación por reacción entre (i) el fibrinógeno y el “clumping factor”, (ii) el fragmento Fc de la IgG y la Proteína A, y (iii) IgG específica y el polisacárido capsular. La aglutinación puede darse con otras especies que posean “clumping factor” o Proteína A, como *Staphylococcus hyicus* y *Staphylococcus intermedius*. Si no está presente el “clumping factor”, la Proteína A ni los polisacáridos capsulares específicos, no se producirá aglutinación y el resultado será considerado como negativo. Los aislamientos de estafilococos más frecuentemente coagulasa y Proteína A negativos son *Staphylococcus epidermidis*.

3. COMPONENTES DEL EQUIPO

Tarjetas Reactivo DrySpot Staphylect Plus.

Partículas azules de látex recubiertas con fibrinógeno porcino e IgG de conejo junto a anticuerpos policlonales específicos frente a polisacáridos capsulares de *S. aureus* (área de reacción de prueba).

Partículas azules de látex sensibilizadas con globulina no reactiva (área de reacción de control).

4 bolsas que contienen 10 tarjetas y un saquito absorbente de humedad. Hay 3 áreas de prueba y 3 áreas control en cada tarjeta. Con un total de 120 pruebas.

Pinza de plástico para conservar las bolsas abiertas.

Folleto de instrucciones.

4. MATERIAL REQUERIDO Y NO SUMINISTRADO

Solución Salina (0,85%)

Cronómetro

Pipeta o goteador (50 µl)

Asa microbiológica estéril

Desinfectante de laboratorio apropiado

Control positivo: cepa de *S. aureus*, como ATCC® 25923

Control negativo: cepa de *S. epidermidis*, como ATCC® 12228.

5. PRECAUCIONES

Este producto es para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.

Las muestras pueden contener microorganismos patógenos. Manipular con las debidas precauciones.

6. CONSERVACIÓN Y APERTURA DE BOLSAS

El equipo debe conservarse entre 2° y 25°C. Si se mantiene en un ambiente frío permitir que las bolsas se estabilicen a la temperatura ambiente antes de su apertura para prevenir la formación de condensación en las tarjetas. Si absorben humedad los reactivos DrySpot se deteriorarán y darán falsos resultados.

Abrir las bolsas cortando con una tijera justo por debajo del sello.

Una vez abiertas, extraer el número de tarjetas requeridas para las pruebas inmediatas. (Realizar la prueba en un máximo de 10 minutos) y cerrar seguidamente la bolsa, mediante la pinza de plástico que se suministra.

Si se hace uso de un número de pruebas menor, cortar la tarjeta de reacción por las líneas indicadas y devolver las porciones no utilizadas a la bolsa. No introducir áreas de reacción utilizadas en la bolsa, ya que se contaminará el resto de las tarjetas.

En estas condiciones, los reactivos permanecerán activos hasta la fecha de caducidad que figura en la caja del equipo.

7. PROCEDIMIENTOS DE CONTROL

En cada ocasión en que se utilice el equipo, deben realizarse los siguientes procedimientos de control:

- Control Positivo: Utilizar una cepa conocida de *S. aureus*, como la ATCC® 25923 (Thermo Scientific Culti-Loops™ R4607010). Seguir el método que figura en Procedimiento de la Prueba. Asegúrese de que la aglutinación se produce antes de 20 segundos.
- Control Negativo: Utilizar una cepa conocida de *S. epidermidis*, como la ATCC® 12228 (Thermo Scientific Culti-Loops™ R4606500). Seguir el método que figura en Procedimiento de la Prueba. Asegurarse que el reactivo permanece disperso y no aglutinado durante los 20 segundos de la prueba.

No utilizar la prueba si las reacciones con los microorganismos control son incorrectas.

8. NOTAS IMPORTANTES AL PROCEDIMIENTO

No tocar las áreas comprendidas dentro de los círculos de la tarjeta de reacción. Ya que pueden contaminarse y, por tanto, afectar a los resultados.

En ambientes con alta humedad, no dejar las bolsas de plástico abiertas más de 2 minutos. Si hay evidencias de humedad en las áreas de reacción, no utilizarlas.

No añadir la solución salina directamente sobre las áreas con reactivo desecado.

Las pinzas para cerrar las bolsas deben guardarse para futuros usos, permitiendo tener abiertos diferentes paquetes.

Aunque la conservación del equipo o de las bolsas a temperatura ambiente es apropiada, no hacerlo cerca de fuentes de calor o cuando la luz del sol pueda provocar un aumento de la temperatura.

Recoger de la placa de cultivo la suficiente cantidad de microorganismos; si fuera insuficiente, se producirán resultados falsos negativos.

9. TOMA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Consúltese un manual estándar para conocer los detalles de toma y preparación de las muestras⁹.

Se pueden analizar colonias de gérmenes grampositivos, catalasa positiva, obtenidas en alguno de los medios de cultivo siguientes:

Agar sangre, agar nutritivo, agar triptona soja, agar triptona soja con 5% de sangre, agar manitol sal, agar Columbia sangre, agar Columbia CNA, agar Mueller-Hinton con 5% de sangre, agar Baird-Parker, agar CLED, agar IsoSensitest, agar IsoSensitest con 5% de sangre, agar de Criba de Resistencia a Oxacilina (Oxacillin Resistance Screening Agar) (ORSA). Brilliance MRSA 2 Agar

Se recomienda el uso de cultivos frescos (18 a 36 horas de incubación). La tendencia de las colonias a autoaglutinar aumenta con periodos de incubación superiores a 36 horas.

10. MÉTODO ESTÁNDAR DE LA PRUEBA

- Añada 1 gota (50 µl) de suero fisiológico (0,85%) a los círculos pequeños (al fondo de cada área oval), de cada una de las dos áreas de reacción, (prueba y control), asegurándose de que el líquido no se mezcle con los reactivos de látex desecados.
- Utilice un asa estéril recoger el equivalente de 5 colonias presuntamente estafilocócicas de tamaño promedio (equivalente a un diámetro de crecimiento de 2–3 mm), obtenidas en una placa de cultivo y emulsiónelas con esmero en la gota de suero fisiológico.
- Con el asa estéril, mezcle la suspensión extendiéndola hacia las manchas de Látex Control desecado, hasta que éste se haya resuspendido completamente y cubra toda el área de reacción. Deseche el asa según los procedimientos adecuados.
- Utilizando un asa nueva proceda de la misma manera con el Látex de Prueba.
- Haga girar la tarjeta a mano durante 20 segundos y observe si aparece aglutinación bajo condiciones normales de iluminación. No utilice lentes de aumento.
- Una vez finalizada la prueba, deseche las tarjetas de reacción en un recipiente con desinfectante.

11. MÉTODO PARA EL OXACILLIN RESISTANCE SCREENING AGAR

- Utilice un asa estéril para recoger el equivalente de 5 colonias presuntamente estafilocócicas de tamaño promedio (equivalente a un diámetro de crecimiento de 2–3 mm), a partir de la placa de cultivo y extiéndalas por el área reactiva de control, formando una capa fina, sin tocar el reactivo de látex.
- Añada una gota de suero fisiológico (0,85%) directamente sobre la capa de cultivo para conseguir una suspensión uniforme y mezcle INMEDIATAMENTE.

3–6. Siga las instrucciones del Método Estándar.

12. LECTURA E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultado positivo

Se considera resultado positivo si se produce la aglutinación de las partículas azules de látex en un máximo de 20 segundos. Esto indica la presencia presumible de *S. aureus*.

Resultado negativo

Se considera resultado negativo si no se da aglutinación y permanece una suspensión azul homogénea en las áreas de reacción en un máximo de 20 segundos. Esto indica que el aislamiento no es, presumiblemente, de *S. aureus*.

Resultado equívoco

Una ligera granulación en el látex de prueba sin cambios en el aspecto del látex de control se interpretará como un resultado equívoco. Se volverán a analizar las cepas después del subcultivo en un medio no selectivo.

Resultados ininterpretables

La prueba se considera ininterpretable si el reactivo control muestra aglutinación, lo cual indica que el cultivo es autoaglutinable.

Reacciones granulares o de aspecto fibroso

En ocasiones, pueden verse reacciones granulares o de aspecto fibroso debido a la naturaleza particulada del material de prueba. Cuando se produzcan tales reacciones, deben interpretarse con el siguiente criterio:

El resultado es **positivo** cuando el aclaramiento del fondo azul es mayor con el reactivo de prueba que el que se da con el reactivo de control.

El resultado es **negativo** cuando no hay cambios significativos en el aclaramiento del fondo azul entre los reactivos de prueba y control.

Deben ignorarse las reacciones que se produzcan después de 20 segundos.

13. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La tendencia de las colonias aisladas a la autoaglutinación aumenta con periodos de incubación superiores al recomendado de 36 horas.
- El anticuerpo utilizado en al Staphylect Plus se ha optimizado para evitar la potencial reactividad cruzada con antígenos comunes con los estafilococos coagulasa negativa. Se debe tener en cuenta que ello ha provocado una disminución de la sensibilidad con algunas razas MRSA tipo 18¹⁰.
- Algunas especies de estafilococos diferentes de *S. aureus*, particularmente *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis*, *S. xylosus*, *S. schleiferi* y *S. haemolyticus*^{11,12,13,14}, pueden producir resultados positivos en pruebas de coagulasa y/o métodos rápidos de aglutinación de látex. En caso necesario, estas especies se pueden diferenciar por métodos bioquímicos, p.e. mediante el uso de una prueba para la

determinación de actividad PYRazimidasa (Oxoid O.B.I.S. PYR ID0580M). *S. aureus* y *S. hyicus* son PYRazimidasa negativa, mientras que las otras especies antecitadas son positivas^{15,16}. *S. hyicus* y *S. intermedius* se aíslan muy raramente en el laboratorio clínico.

- Los estafilococos aislados de orina que den un resultado débilmente positivo en el Staphytest Plus pueden ser *Staphylococcus saprophyticus*¹⁷. Dichos aislados pueden ser identificados mediante pruebas bioquímicas adicionales, como la resistencia a novobiocina (*S. saprophyticus* es resistente a la novobiocina).
- Algunos estreptococos y, con toda probabilidad, otros microorganismos que poseen factores fijadores de inmunoglobulinas o plasma pueden reaccionar en las pruebas de látex y algunas especies, como *Escherichia coli*, son capaces de aglutinar inespecíficamente las partículas de látex^{18,19}. Para evitar estos resultados inespecíficos se debe realizar una tinción de Gram, a fin de garantizar que se está trabajando únicamente con estafilococos típicos.

14. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Se ha llevado a cabo una evaluación del equipo DrySpot Staphytest Plus de Oxoid en los estudios que se mencionan a continuación. Sin embargo, obsérvese que el *S. aureus* muestra importantes variaciones antigénicas con respecto a sus distintas localizaciones geográficas.

Estudio clínico

Se evaluó el método DrySpot Staphytest Plus de Oxoid en un gran hospital docente australiano, utilizando un total de 300 aislamientos con la coagulasa en tubo como método estándar. En el análisis de los datos que se menciona a continuación, se han omitido los resultados de las cepas conocidas por presentar reacciones cruzadas^{11,12,13,14} y los resultados de las cepas autoaglutinantes (n=284). La sensibilidad relativa fue del 100% y la especificidad relativa fue del 96,3%.

Estudio industrial

Se evaluó el comportamiento de la prueba DrySpot Staphytest Plus de Oxoid en laboratorios de alimentos, en el marco de un estudio multicéntrico desarrollado en el Reino Unido. Se evaluaron 621 muestras en total, formadas por colonias tomadas de agar Baird-Parker que se habían inoculado con alimentos o material ambiental. El método estándar utilizado fue el de coagulasa en tubo. En el análisis de los datos que se menciona a continuación, se han omitido los resultados de las cepas conocidas por presentar reacciones cruzadas^{11,12,13,14} y los resultados de las cepas autoaglutinantes (n=603). La sensibilidad relativa fue del 98,4% y la especificidad relativa fue del 96,9%.

15. REFERENCIAS:

- 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., Hausler, W. J. and Shadomy, H. J.: Assoc. Amer. Microbiol. Washington.
- Data on file at Oxoid Ltd.
- Jean-Pierre, H., Darbas, H., Jean-Roussenq, 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 8 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.

	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Consulte las instrucciones de uso
	Límite de temperatura
	Código de lote
	Fecha de caducidad
	Contenido suficiente para <n> pruebas
	Fabricante



 DR0100M.....120 Tests

IFU X5241D Revisado el diciembre 2012



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