

VERWENDUNGSZWECK

Der DiaMondial Staph Plus Kit ist ein Zeit sparendes Verfahren zur Differenzierung von Staphylokokken (insbesondere *Staphylococcus aureus*) und meticillinresistenten *S. aureus* (MRSA) von anderen Staphylokokkenstämmen in Kulturproben.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Obgleich die meisten Staphylokokkenarten üblicherweise auf Haut und Schleimhäuten heimisch sind, sind bestimmte Arten häufig Auslöser einer Reihe von Infektionserkrankungen bei Mensch und Tier. Die beim Menschen am häufigsten vorkommenden Staphylokokkeninfektionen sind superfizielle, abszedierende Infektionen, die von *S. aureus* hervorgerufen werden.¹ Auch Lebensmittelvergiftungen und toxisches Schocksyndrom wurden einer Infektion mit *S. aureus* zugeschrieben.² Essers und Radebold³ haben einen Zeit sparenden Objektträger-Agglutinationstest entwickelt, der sich als zuverlässiges Verfahren für den Nachweis von *S. aureus* im bakteriologischen Routinelabor erwiesen hat. Diese Testarten funktionieren gut, sie können aber bei bestimmten MRSA zu falsch negativen Ergebnissen führen, was auf die Expression von verkapselten Typ 5 und 8 Antigenen zurückgeführt wird.^{4, 5} Die Leistung der Fibrinogen und IgG enthaltenden Latexreagenzien wird durch Hinzufügen von IgG, das für die verkapselten Typen 5 und 8 von *S. aureus* spezifisch ist, verbessert.

TESTPRINZIP

Der DiaMondial Staph Plus Kit verwendet Polystyrol-Latexpartikel, die mit Fibrinogen und IgG, das für die verkapselten Typen 5 und 8 *S. aureus* spezifisch ist, sensibilisiert wurden. Werden Staphylokokkenkolonien, die mindestens einen Verklumpungsfaktor wie Protein A und/oder verkapselte Antigene 5 oder 8 enthalten, mit den Latexreagenzien vermischt, kommt es innerhalb von 20 Sekunden zu einer starken Agglutination der Latexpartikel.

REAGENZIEN

Staph Plus Latex Reagent (DML1101 / DML1131): Zwei Fläschchen enthalten je 2,5 ml (100 test/kit - DML1100) oder 7,5 ml (300 test/kit - DML1130) Latexpartikel, die mit menschlichem Fibrinogen und Kaninchen-IgG beschichtet sind, das verkapselte Antigene 5 und 8 exprimierende *S. aureus* nachweist. Die Latexpartikel sind in einem Puffer suspendiert, der 0,098 % Natriumazid als Konservierungsmittel enthält.

Latex Negative Control (DML1102 / DML1132): Ein Fläschchen mit 5,0 ml (DML1100) oder zwei fläschchen enthalten je 7,5 ml (DML1130) nicht-sensibilisierten Latexpartikeln in einem Puffer, der 0,098 % Natriumazid als Konservierungsmittel enthält.

VORSICHTSHINWEISE

- Reagenzien nach Ablauf des auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr einsetzen.
- Die Reagenzien enthalten Natriumazid. Natriumazid ist toxisch und kann bei Kontakt mit Kupfer- oder Bleirohren explosive Verbindungen bilden. Obwohl die Natriumazidkonzentration im Reagenz minimal ist, sollte beim Entsorgen gebrauchter Reagenzienreste immer sofort mit ausreichend Wasser nachgespült werden.
- Beim Umgang mit dem Test und der Entsorgung der klinischen Proben sollten alle geltenden Sicherheitsvorschriften eingehalten werden, da es sich um infektiöses Material handeln könnte.
- Das bei der Herstellung der Reagenzien verwendete Humanmaterial erwies sich in Tests als negativ in Bezug auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen HIV- und HBs-Antigene. Obwohl die Konzentration der Humanmaterialien sehr niedrig ist, kann das System infektiöse Erreger übertragen und sollte mit äußerster Vorsicht gehandhabt werden. Keine bekannte Testmethode kann die vollständige Gewissheit geben, dass aus Menschenblut gewonnene Produkte keine infektiösen Erreger übertragen. Beim Umgang mit dem Latexreagenz des Tests sollten daher dieselben Vorsichtsmaßnahmen befolgt werden, wie beim Umgang mit potenziell infektiösem Material.
- Einige Latexreagenzien enthalten Materialien tierischer Herkunft und sollten wie potentielle Träger und Überträger von Krankheiten gehandhabt werden.

- Der Kit ist ausschließlich für den Einsatz in der *In-vitro*-Diagnostik konzipiert.
- Die Latexreagenzien dürfen nicht eingefroren werden.
- Alle in dieser Testanleitung enthaltenen Hinweise zur Testdurchführung und -aufbewahrung sowie zu Vorsichtsmaßnahmen und Verfahrensbeschränkungen müssen genau befolgt werden, um gültige Ergebnisse zu erzielen.

STABILITÄT UND LAGERUNG

Alle Bestandteile des Kits müssen bei 2-8°C gelagert werden. Nicht einfrieren. Unter diesen Bedingungen gelagerte Reagenzien sind bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum einsetzbar.

PROBENGEWINNUNG UND KULTURVORBEREITUNG

Zur genauen Anleitung der Probengewinnung und Herstellung einer Primärkultur sollte mikrobiologische Standardliteratur herangezogen werden. Grundsätzlich sollte ein frisches (d. h. nach 18-36 Stunden Inkubation), gram-positives Isolat, das auf nicht-selektivem Medium, wie beispielsweise Blutagar, angezüchtet wurde, verwendet werden.

IM KIT ENTHALTENE MATERIALIEN

Staph Plus Latex Reagent
Latex Negative Control
Einmalkarten mit 10 Testkreisen
Einweg-Mischstäbchen.

NOTWENDIGE, NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- Zeitgeber
- Die folgenden ATCC-Stämme werden zur Qualitätskontrolle empfohlen;
Positive Kontrolle: *Staphylococcus aureus* ATCC-Nr. 25923
Negative Kontrolle: *Staphylococcus epidermidis* ATCC-Nr. 12228

TESTDURCHFÜHRUNG

- Reagenz etwa 10 Minuten vor dem Gebrauch in Raumtemperatur (22-28 °C) bringen.
- Latexreagenz vor dem Gebrauch durch Schütteln mischen.
- Einen Tropfen des Staph Plus Latex Reagent in die einzelnen Felder der Agglutinationstestkarte geben.
- Zwei infrage kommende Kolonien mithilfe eines Mischstäbchens auf ein Feld aufbringen, mit dem Latexreagenz mischen und über das ganze Testfeld verteilen.
- Agglutinationskarte vorsichtig hin und her bewegen, sodass sich die Mischung über das gesamte Testfeld verteilt.
- Nach 20 Sekunden unter normalen Lichtverhältnissen die Agglutination ablesen.
- Ist das Ergebnis positiv, werden die Schritte 2 bis 6 auf dieselbe Weise mit der Negativkontrolle wiederholt.

QUALITÄTSKONTROLLE

Die folgenden Verfahren zur Überprüfung der Leistung der Reagenzien empfohlen:

- Einen bekannten positiven Stamm wie zum Beispiel *S. aureus* ATCC-Nr. 25923 nach dem Testprotokoll testen. Der Organismus muss mit dem Staph Plus Latex Reagent innerhalb von 20 Sekunden verklumpen. Bei der Latex Negative Control darf keine Agglutination auftreten.
- Einen bekannten negativen Stamm wie zum Beispiel *S. epidermidis* ATCC-Nr. 12228 nach dem Testprotokoll testen. Innerhalb von 20 Sekunden darf es zu keiner sichtbaren Agglutination mit dem Staph Plus Latex Reagent und der Latex Negative Control auftreten.

Den Kit nicht verwenden, wenn die Reaktion mit den Kontrollorganismen inkorrekt ist.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Positive Ergebnisse: Eine signifikant schnell ablaufende, starke Verklumpung (innerhalb von 20 Sekunden) mit dem Latex-Testreagenz und keine Agglutination mit der Negativkontrolle. Reaktionen, die erst nach diesen 20 Sekunden auftreten,

sollten ignoriert werden.

Negative Ergebnisse: Keine sichtbare Agglutination der Latexpartikel.
Nicht-interpretierbare Ergebnisse: Falls ein Organismus sowohl mit Staph Plus Latex Reagent als auch der Latex Negative Control agglutiniert, ist der Test nicht interpretierbar. Dies deutet darauf hin, dass die Kulturen Autoagglutination verursachen.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN









- Falsch negative oder falsch positive Ergebnisse können auftreten, wenn nicht-adäquate Mengen der Kultur oder des Reagenzes eingesetzt werden.
- Einige selten vorkommende Staphylokokken-Isolate von *S. hyicus* und *S. intermedius* können das Latexreagenz ebenfalls agglutinieren⁶.
- Einige Streptokokken und möglicherweise auch andere Organismen, die Faktoren mit der Fähigkeit zur Bindung von Immunglobulin besitzen, sowie einige Arten von *Escherichia coli* können ebenfalls zu einer unspezifischen Agglutination von Latexreagenzien führen⁷.

LEISTUNGSMERKMALE

Der DiaMondial Staph Plus Kit wurde mit 50 *S. aureus* Referenzstämmen überprüft, einschließlich je 5 verkapselten Typen 5 und 8, die nicht von Staph-Latexreagenzien identifiziert werden, die Organismen nachweisen, die nur Koagulationsfaktor exprimieren und/oder Protein A und 9 koagulase-negativen Staphylokokken-Referenzstämme. Der DiaMondial Staph Plus Kit identifizierte alle Stämme in dieser Studie richtig. Dies zeigt, dass der Kit eine Empfindlichkeit von 100 % und eine Spezifität von 100 % hat. In einer gesonderten Studie wurde der DiaMondial Staph Plus Kit mit 50 MRSA und 50 meticillinempfindlichen *S. aureus* überprüft. Der DiaMondial Staph Plus Kit identifizierte in dieser Studie alle Stämme richtig. Dies zeigt, dass der Kit eine Empfindlichkeit von 100 % und eine Spezifität von 100 % hat.

QUELLEN

- Schleifer, K.H., and Kloos, W.E. (1975). Int. J. Syst. Bacteriol. **25**: 50-61.
- Schlievert, P.M., Shands, K.N., Dan, B.B., Schmid, G.P. and Nishimura, R.D. (1981). J. Infect. Dis. **143**: 509-516.
- Essers, L. and Radebold, K. (1980). J. Clin. Microbiol. **12**: 641-643.
- Fournier J M, Boutonnier A, and Bouvet A. (1989). J Clin Microbiol. **27**: 1372-1374.
- Fournier, J.M., Bouvet, A. et al. (1987). J Clin Microbiol. **25**: 1932-1933.
- Phillips, W. and Kloos, W. (1981). J. Clin. Microbiol. **14**: 671-673.
- Myhre, E.B. and Kuusela, P. (1983). Inf. Imm. **40**: 29-34.

	=Verwendung bis
	=Chargen-Nr.
	=Bestell-Nr.
	=Hersteller
	=Ausreichend für <n> Tests
	=Medizinische Ausrüstung zur In-vitro-Diagnostik
	=Temperatureinschränkungen
	= Vor Verwendung die Anweisungen lesen