

Rabbit Coagulase Plasma

KATALOGOVÉ ČÍSLO: PL.850-3, PL.850-5, PL.850-10, PL.850-20, PL.850-30

ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Rabbit Coagulase Plasma je standardizovaná a lyofilizovaná králičí plazma, která se používá pro kvalitativní detekci produkce enzymu plazmakoagulázy bakteriemi *Staphylococcus aureus*.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Diferenciace *Staphylococcus aureus* od koaguláza negativních species, včetně *Staphylococcus epidermidis* a *Staphylococcus saprophyticus*, je velmi důležitá nejen proto, že *Staphylococcus* je zdravotním rizikem přední důležitosti, ale také proto, že novější species jsou stále více spojené se septikémií, bakteriální endokarditidou, kolonizací umělých kloubů a infekcemi močového ústrojí. Identifikace stafylokoků je založena na morfologii kolonií, kultivačních a biochemických charakteristikách a mikroskopii. Nicméně, nejvíce používaným kritériem pro diferenciaci mezi species¹ je detekce koagulázy. Schopnost stafylokoka produkovat koagulázu, enzym schopný koagulovat plazmu, byla prvně referována Loblem v roce 1903². Od té doby zkoušelo mnoho výzkumných pracovníků korelovat produkci koagulázy s patogenitou stafylokoků. Chapman, Berens, Nilson a Curcio ve své studii o produkci koagulázy a hemolyzinu stafylokoky ukázali, kmeny produkující koagulázu byly obvykle patogenními, bez ohledu na to jejich hemolytické nebo chromogenní vlastnosti³. Mnohem novější zkušenosti ukázaly, že schopnost stafylokoků produkovat koagulázu nemůže být vždy spolehlivým ukazatelem indikace patogenicity⁴.

PRINCIP TESTU

Staphylococcus aureus produkuje 2 typy koagulázy, volnou a vázanou. Volná koaguláza je extracelulární enzym produkovaný ve chvíli, kdy je organismus kultivovaný v bujónu. Vázaná koaguláza, také známá jako aglutinační faktor, zůstává přichycena k buněčné stěně organismu.

Zkumavkový test se provádí přidáním 2-4 kolonií izolátu do zkumavky, která obsahuje rehydratovanou koagulázovou plazmu, a inkubuje se při 37 °C po dobu až 4 hodin. Tvorba sraženiny indikuje produkci koagulázy. Zkumavkový test je nejčastěji používanou metodou z důvodu jeho větší přesnosti díky jeho schopnosti detekovat jak volnou, tak vázanou koagulázu.

Skličkový test se provádí pomocí husté suspenze testovaného izolátu v kapce fyziologického roztoku na čistém sklíčku s následným přidáním kapky plazmy. Vše se poté jemně smíchá klíčkou a pozoruje se shlukování. Tento test je méně přesný než test zkumavkový a vyžaduje, aby všechny negativní testy byly potvrzeny zkumavkovým testem. Tento test detekuje pouze vázanou koagulázu.

ČINIDLA

Coagulase Plasma je lyofilizovaná králičí plazma do které je jako anti-koagulans je přidáno EDTA. EDTA není bakteriemi využívána, tedy nemůže dojít ke vzniku falešně pozitivních koagulázových reakcí bakteriemi, které využívají citrát⁵.

Rabbit Coagulase Plasma je dodávána v několika velikostních baleních:

Kat. číslo	Velikost	Objem pro rekonstituci	Přibližný počet zkumavkových testů
PL.850-3	10 lahviček/balení	3 ml / lahvička	6 x 10
PL.850-5	10 lahviček/balení	5 ml / lahvička	10 x 10
PL.850-10	Individuální lahvička	10 ml / lahvička	20
PL.850-20	Individuální lahvička	20 ml / lahvička	40
PL.850-30	Individuální lahvička	30 ml / lahvička	60

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

REKONSTITUCE

Rabbit Coagulase Plasma rekonstituujte přidáním sterilní destilované nebo deionizované vody do lahvičky v objemu, který je indikován na etiketě výrobku. Jemně kružte lahvičkou, dokud se výrobek kompletně nerozpustí. Pokud není výrobek kompletně rozpuštěn, nebo obsahuje fibrinové shluky nebo provazce, výrobek nepoužívejte.

POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ KITU

- Sterilní destilovaná nebo deionizovaná voda
- Inokulační kličky
- Zkumavky 12 mm x 75 mm
- Sterilní 1 ml pipety
- Vodní lázeň (37 °C)
- Sklíčka
- Pozitivní & negativní kontrolní kmeny (viz Kontrola kvality)

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Rabbit Coagulase Plasma je určena pouze pro *in vitro* diagnostiku.
2. Nepoužívejte činidla pro jejich datum expirace, které je uvedeno na etiketě výrobku.
3. Měla by být brána na zřetel obecná upozornění týkající se manipulací, zpracování a likvidace všech klinických vzorků a činidel.
4. Činidla obsahují materiál zvířecího původu a mělo by s nimi být zacházeno jako s potencionálními nosiči a přenašeči nemocí.
5. Aby bylo možno získat validní výsledky testů, je třeba dodržovat postupy, skladovací podmínky, upozornění a limitace specifikované v tomto návodu.

STABILITA A SKLADOVÁNÍ

- Neotevřené, nerekonstituované lahvičky uchovávejte při 2-8 °C.
- Rekonstituované lahvičky plazmy uchovávejte při 2-8 °C, nebo alikvóty o objemu 0,5 ml okamžitě zamrazte a uchovávejte při -20 °C. Opakovaně nerozmrazujte a nezmrazujte.
- Neotevřené, nerekonstituované lahvičky, pokud jsou uchovávány dle instrukcí, jsou stabilní až do data expirace uvedeném na etiketě výrobku.
- Rekonstituovaná plazma, pokud je skladována při teplotě 2-8 °C, je stabilní po dobu 5 dnů, nebo pod dobu 30 dnů, pokud jsou alikvóty skladovány při -20 °C, s tím, že nesmí být překročeno datum expirace uvedené na etiketě výrobku.

PŘÍPRAVA VZORKU

1. Ověřte, že testovaný izolát je čistý a že vykazuje následující charakteristiky *Staphylococcus aureus*:
 - Správnou morfologii na izolační půdě
 - G+ koky
 - Kataláza pozitivní
2. Pro testování organismu použijte 2-4 kolonie (1 plná klička)

PROTOKOL TESTU

A. Zkumavkový koagulázový test

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

1. Pomocí sterilní 1 ml pipety přeneste 0,5 ml rekonstituované plazmy do testovací zkumavky 12x75 mm.
2. Pomocí sterilní kličky emulgujte v plazmě 2-4 kolonie testovaného organismu.
3. Jemně promíchejte.
4. Inkubujte ve vodní lázni při 37 °C po dobu 4 hodin.
5. Po 1 hodině zkontrolujte tvorbu sraženiny jemným poklepáním na stěny zkumavky. Pokud není evidentní žádná tvorba sraženiny, kontrolujte dále v 4 hodinovém limitu každých 30 minut.
6. Pokud se po 4 hodinách inkubace nevytvořily žádné sraženiny, reinkubujte při pokojové teplotě po zbývající čas a tvorbu sraženiny zkontrolujte po 24 hodinách. Nereinkubujte testy, které produkovaly sraženinu již po 4 hodinách, protože některé kmeny *S. aureus* produkují fibrinolysin, který může při další inkubaci sraženinu lyzovat.
7. Výsledky zaznamenejte.

B. Sklíčkový koagulázový test

(detekuje pouze vázanou koagulázu nebo aglutinační faktor)

1. na čisté a suché sklíčko nakápněte kapku rekonstituované plazmy a stranou kapku fyziologického roztoku.
2. Kličku plnou testovaných kolonií emulgujte v kapce plazmy a v kapce fyziologického roztoku.
3. Po následující 1 minutu kontrolujte vznik shluků.
4. Výsledky zaznamenejte.

KONTROLA KVALITY

Paralelně s testem, kvůli zjištění validity testu, použijte pozitivní a negativní kontrolní kultury.

Organismus	Očekávaný výsledek Zkumavkový test	Očekávaný výsledek Sklíčkový test
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Vznik sraženiny	Vznik shluků
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Bez vzniku sraženiny	Bez vzniku shluků

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

A. Zkumavkový koagulázový test

- Pozitivní výsledek: po 24 hodinách je viditelný jakýkoli stupeň srážení koagulázové plazmy.
- Negativní výsledek: žádné srážení koagulázové plazmy.

B. Sklíčkový koagulázový test

- Pozitivní výsledek: Makroskopické shlukování v plazmě během 1 minuty nebo žádné shlukování ve fyziologickém roztoku.
- Negativní výsledek: Žádné shlukování ani v plazmě, ani ve fyziologickém roztoku.
- Neinterpretovatelný výsledek: Pokud je shlukování viditelné u obou testů, indikuje to, že izolát vykazuje autoaglutinaci a je nevhodný pro testování pomocí sklíčkového koagulázového testu. V takovém případě by měl být izolát testován zkumavkovým koagulázovým testem.

LIMITACE PROCEDURY

1. Ačkoli mají zkumavkové a sklíčkové koagulázové testy vynikající shodu, u stafylokokových species, které produkují aglutinační faktor., se může objevit falešná pozitivita u sklíčkového koagulázového testu. Sem patří kmeny *S. lugdenensis* a *S. schleiferi* subsp. *schleiferi*.
2. Některé species nebo organismy využívají svým metabolismem citrát, což může způsobit vznik falešně pozitivních reakcí při koagulázové aktivitě. Normálně by toto nemělo způsobit problémy, protože

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

koagulázový test se provádí téměř exkluzivně u stafylokoků. Nicméně je možné, že organismy, které využívají citrát, kontaminují stafylokokové kultury, u kterých se provádí koagulázový test a poté je možné díky prodloužené inkubaci vznik falešně pozitivních výsledků právě z důvodu utilizace citrátu. Přítomnost EDTA v koagulázové plazmě by měla tento problém eliminovat.







- Při kontrole výsledků koagulázového testu by měly být zkumavky během prvních 4 hodin inkubace kontrolovány každých 30 minut. Některé kmeny *Staphylococcus aureus* produkují fibrinolysin, který může sraženiny lyzovat dříve. Pokud jsou zkumavky odečítány až po 24 hodinách, může se objevit reverze na falešnou negativitu.

PROVÁDĚCÍ CHARAKTERISTIKY

Pro-Lab Rabbit Coagulase Plasma byla vyhodnocena pomocí 30 kmenů *S. aureus* a 30 kmenů koaguláza negativních stafylokoků (2 *S. epidermidis*, 4 *S. warneri*, 2 *S. simulans*, 2 *S. hominus*, 2 *S. capitis*, 2 *S. cohnii*, 2 *S. auricularis*, 2 *S. xylosus*, 2 *S. sciuri*, 1 *S. oxford*, 3 *S. saprophyticus*, 1 *S. avium* a 5 *S. haemolyticus*). Pro-Lab Rabbit Coagulase správně identifikovala všechny kmeny, což ve studii indikuje 100% senzitivitu a 100% specifickou výrobu.

LITERATURA

- Bannerman, T.L. and Peacock, S.J.** (2007). Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci, In Manual of Clinical Microbiology, 9th Edition. Edited by Murray, P.R., Baron, E.J., Landry, M.L., Jorgensen, J.H. and Tenover, M.A. American Society for Microbiology, Washington, D.C. page 390-411.
- Loeb, L.** (1903). The influence of certain bacteria on the coagulation of the blood. J. Med. Res. 10:407-419.
- Chapman, G.H., Berens, C., Nilson, E.L. and Curcio, L.G.** (1938). The differentiation of pathogenic Staphylococci from non-pathogenic types. J. Bact. 35:311-333.
- Morton, H.E. and Cohn, J.** (1972). Coagulase and deoxyribonuclease activities of Staphylococci isolated from clinical sources. Applied Micro. 23-725-733.
- Baird-Parker, A.C.** (1974). Staphylococcus In Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Edition. Edited by Williams and Wilkins. Baltimore. Page 484-489.

	Použitelné do		Obsah dostačuje pro <n> testů
LOT	Číslo šarže	IVD	Pro použití in vitro
	Varování		Rozmezí teplot
REF	Katalogové číslo		Viz návod k použití
EC REP	Zplnomocněný zástupce		Výrobce

Poslední revize: 2013/1



UK – *44 (0)151 353 1613, Fax *44 (0)151 353 1614, 3 Bassendale Road, Bromborough, Merseyside. CH62 3Q

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz