

# DrySpot Staphytest Plus

**REF** DRO100M

**DE**

## 1. VERWENDUNGSZWECK

Der DrySpot Staphytest Plus™-Test ist ein Latex-Objektträger-Agglutinationstest<sup>1</sup> zur Differenzierung von *Staphylococcus aureus* durch Detektion des Clumping-Faktors, Protein A und bestimmten Polysacchariden, die von Methicillin-resistenten *S. aureus* (MRSA) gebildet werden, von Staphylokokken, die diese Eigenschaften nicht aufweisen.

## 2. TESTPRINZIP

In der traditionellen Mikrobiologie erfolgt die Differenzierung zwischen Koagulase-positiven und Koagulase-negativen Staphylokokken mit Hilfe des Röhrchen-Tests ("Tube Test") auf freie, extrazelluläre Koagulase oder mit dem Objektträger-Test ("Slide Test") auf zellwandgebundene Koagulase bzw. Clumping Faktor. Auch mit dem passiven Hämagglutinationstest zum Nachweis des Clumping-Faktors (Oxoid, Art.-Nr. DR 595A) oder der DNase-Prüfung auf DNase-Agar (Oxoid, Art.-Nr. CM 321B) stehen weitere Differenzierungs-Tests zur Verfügung.

Mehreren Untersuchungen zufolge weisen ca. 97% aller beim Menschen vorkommenden *Staphylococcus aureus*-Stämme sowohl die zellwandgebundene Koagulase, d.h. den Clumping-Faktor, als auch freie, extrazelluläre Koagulase auf. Protein A kann bei etwa 95% aller *S. aureus*-Stämme, die beim Menschen vorkommen, an der Zelloberfläche nachgewiesen werden. Protein A ist in der Lage den Fc-Anteil des Immunglobulins G (IgG) zu binden<sup>2</sup>.

Es ist beobachtet worden, daß bei bestimmten Methicillin-resistenten *S. aureus*-Stämmen der Clumping-Faktor und Protein A oftmals nicht nachweisbar sind<sup>3,4,5</sup>. Wie aus einer Studie hervorgeht, besitzen alle diese Stämme Kapselpolysaccharide<sup>6</sup>. Die Polysaccharid-Kapsel kann das Protein A und den Clumping-Faktor maskieren und bei Latex-Testen, die zum Nachweis dieser beiden Faktoren ausgerichtet sind, eine Agglutination verhindern.

Beim DrySpot Staphytest Plus-Test werden blaue Latexpartikel eingesetzt, die sowohl mit Schweinefibrinogen, Kaninchen-IgG als auch mit spezifischen polyklonalen Antikörpern gegen die Kapselpolysaccharide von *S. aureus* beschichtet sind<sup>7,8</sup>.

Das Latex-Reagenz liegt in getrockneter Form auf der Reaktionskarte vor. Werden Staphylokokken in einer physiologischen Kochsalzlösung emulgiert und mit dem Latex-Testreagenz auf der Reaktionskarte vermischt, so kommt es zu einer Agglutination, die hervorgerufen wird durch Reaktion zwischen (i) Fibrinogen und dem Clumping-Faktor, (ii) dem Fc-Anteil von IgG und Protein A, (iii) spezifischen Antikörpern und den Kapselpolysacchariden. Bei *S. aureus* ist diese Reaktion besonders deutlich. Die Reaktion kann auch mit anderen Spezies auftreten, wenn sie den Clumping-Faktor und/oder Protein A besitzen, wie z.B. *Staphylococcus hyicus* oder *Staphylococcus intermedius*. Wenn weder Clumping-Faktor, Protein A noch spezifische Kapselpolysaccharide vorhanden sind, bleibt die Agglutination aus, so daß das Ergebnis als negativ anzusehen ist. Unter den Clumping-Faktor- und Protein A-negativen Isolaten ist *Staphylococcus epidermidis* am häufigsten.

## 3. BESTANDTEILE DES TESTS

DR 101M DrySpot Staphytest Plus Reaktionskarten

Die Latexreagenzien sind in getrockneter Form auf den Reaktionskarten aufgebracht.

Testfeld: Blaue Latexpartikel, die mit Schweinefibrinogen, Kaninchen-IgG und spezifischen polyklonalen Antikörpern gegen die Kapselpolysaccharide von *S. aureus* beschichtet sind.

Kontrollfeld: Blaue Latexpartikel, die mit nicht-reaktiven Globulinen beschichtet sind.

4 Beutel enthalten jeweils 10 Reaktionskarten und einen Beutel mit Trocknungsmittel.

Auf jeder Reaktionskarte gibt es 3 Testfelder mit Latex-Testreagenz und 3 Testfelder mit Latex-Kontrollreagenz.

Der Inhalt einer Packung reicht für 120 Tests.

Plastikkammer zum Verschließen der geöffneten Beutel zwecks Lagerung.

Gebrauchsanweisung.

## 4. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE MATERIALIEN

Physiologische Kochsalzlösung (0,85%)

Pipette oder Tropfer (50 µl)

Stoppuhr

Impföse

Geeignetes Labordesinfektionsmittel (z.B. Natrium-Hypochloritlösung >1,3% w/v)

Positivkontrolle: *S. aureus* z.B. ATCC® 25923

Negativkontrolle: *S. epidermidis* z.B. ATCC® 12228.

## 5. VORSICHTSMASSNAHMEN

*In vitro* Diagnostikum.

Da das Probenmaterial eventuell pathogene Organismen enthält, sollten die entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden.

## 6. LAGERUNG UND ÖFFNEN DER BEUTEL

Lagerung bei 2–25°C.

Sofern die Beutel kühl gelagert werden, diese vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen, damit eine Kondenswasserbildung auf den Reaktionskarten vermieden wird. Die getrockneten Latex-Reagenzien könnten durch Feuchtigkeitsaufnahme qualitative Einbußen erleiden. Dieser Umstand könnte zu falschen Ergebnissen führen.

Die Beutel sind mit einer Schere genau unterhalb der Versiegelung zu öffnen.

Sofern die Beutel einmal geöffnet sind, sind nur soviel Reaktionskarten zu entnehmen, wie für sofortige Testungen (innerhalb der nächsten 10 Minuten) benötigt werden. Die Beutel sind sofort wieder zu verschließen, indem das offene Ende des Beutels zwischen die beiden Hälften der Plastikkammer geklemmt wird.

Wenn nur wenige Tests durchgeführt werden sollen, können die Reaktionskarten an den gekennzeichneten Linien auf der Karte auseinandergeschnitten werden. Die unbenutzten Abschnitte können weiterhin in den Beuteln aufbewahrt werden. Benutzte Testfelder nicht wieder in die Beutel zurückgeben, um eine Kontaminationsgefahr zu vermeiden.

Bei Einhaltung dieser Bedingungen bleibt die Aktivität der Reagenzien bis zum angegebenen Verfalldatum unbeeinträchtigt.

## 7. QUALITÄTSKONTROLLE

Die einwandfreie Reaktion der Latexreagenzien sollte folgendermaßen täglich vor den Routinetests untersucht werden:

1. Positivkontrolle: Verwenden Sie einen bekannten *S. aureus*-Stamm (z.B. *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923/Thermo Scientific Culti-Loops™ R4607010) und befolgen Sie die Anweisungen wie unter "Testmethode" beschrieben. Eine Agglutination sollte innerhalb von 20 Sekunden eintreten.

2. Negativkontrolle: Verwenden Sie einen bekannten *S. epidermidis* (z.B. *Staphylococcus epidermidis* ATCC® 12228/Thermo Scientific Culti-Loops™ R4606500) und befolgen Sie die Anweisungen wie unter "Testmethode" beschrieben. Es darf innerhalb von 20 Sekunden keine Agglutination eintreten.

**Verwenden Sie den Test nicht, sofern die Kontrollstäme auf andere Weise als hier beschrieben reagieren.**

## 8. WICHTIGE HINWEISE

Die Testfelder auf der Reaktionskarte sollten nicht berührt werden, um Kontaminationen und somit falsche Ergebnisse zu vermeiden.

Bei hoher Luftfeuchtigkeit sollten die Beutel nicht länger als 2 Minuten geöffnet sein. Sofern der Verdacht besteht, daß sich Feuchtigkeit auf den Testfeldern befindet, diese nicht mehr benutzen.

Der Tropfen der physiologischen Kochsalzlösung darf nicht direkt auf die getrockneten Latex-Reagenzien aufgegeben werden.

Die Verschlußklammern können für die weitere Verwendung aufbewahrt werden, um so ein Öffnen und Verschließen mehrerer Beutel zu gewährleisten.

Die Beutel können bei Raumtemperatur aufbewahrt werden, jedoch nicht in der Nähe starker Hitzequellen. Die Beutel sollten außerdem nicht direkter Sonneneinstrahlung ausgesetzt sein, um erhöhte Temperaturen zu vermeiden.

Es sollte immer ausreichend Material von dem Nährboden abgenommen werden; zu wenig Material könnte zu falsch negativen Ergebnissen führen.

## 9. ENTNAHME UND VORBEREITUNG DES UNTERSUCHUNGSMATERIALS

Angaben hinsichtlich Probennahme und -behandlung sind einschlägigen Standardwerken zu entnehmen<sup>9</sup>.

Für den Test können Gram-positive, Katalase-positive Kolonien von den nachfolgend aufgeführten Nährböden

eingesetzt werden: Blutagar, Nähragar, Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar, Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar mit 5% Schafblut, Mannit-Kochsalz-Agar, Columbia-Agar mit Schafblut, Columbia-CNA- Selektivnährboden, Mueller-Hinton-Nährboden mit 5% Schafblut, Baird-Parker-Nährboden, CLED-Nährboden, Iso-Sensitest-Agar, Iso-Sensitest-Agar mit 5% Schafblut, Oxacillinresistenz-Screening-Agar (ORSA), Brilliance MRSA 2 Agar

Für den OXOID DrySpot Staphytest Plus sollten nur frische Kolonien nach einer Bebrütung von ca. 18–36 Stunden verwendet werden. Nach längerer Bebrütung zeigen die Kolonien verstärkt Autoagglutination.

## 10. STANDARD-TESTMETHODE

1. Jeweils einen Tropfen (50 µl) physiologische Kochsalzlösung (0,85%) so auf ein Testfeld mit Latex-Testreagenz und ein Testfeld mit Latex-Kontrollreagenz geben, daß die Flüssigkeit zu diesem Zeitpunkt noch nicht mit den getrockneten Latex-Reagenzien in Berührung kommt.

2. Mit einer Impföse 5 verdächtige, ca. 2–3 mm große Staphylokokken-Kolonien abnehmen und in dem Tropfen Kochsalzlösung emulgieren, bis eine homogene Suspension entstanden ist.

3. Die Suspension anschließend mit dem getrockneten Latex-Kontrollreagenz homogen vermischen und über das gesamte Kontrollfeld verteilen.

4. Mit dem Latex-Testreagenz genauso verfahren. Dazu eine neue Impföse benutzen.

5. Die Reaktionskarte vorsichtig schwenken. Die Agglutination tritt innerhalb von 20 Sekunden auf. Keine Lupe benutzen.

6. Nach Ablesen aller Reaktionen Reaktionskarte in einem geeigneten Desinfektionsmittel entsorgen.

## 11. TESTMETHODE VOM OXACILLINRESISTENZ-SCREENING-AGAR

1. Mit einer Impföse 5 verdächtige, ca. 2–3 mm große Staphylokokken-Kolonien abnehmen, und über ein gesamtes Kontrollfeld der Testkarte in einem dünnen Film verteilen.

2. Einen Tropfen (50 µl) physiologische Kochsalzlösung (0,85%) direkt auf den dünnen Film geben und SOFORT vermischen.

3–6. Siehe Standard-Testmethode.

## 12. ABLESEN UND AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

### Positive Testergebnisse

Der Test wird als positiv betrachtet, wenn die blauen Latexpartikel innerhalb von 20 Sekunden agglutinieren. Eine solches Ergebnis weist auf das Vorhandensein von *S. aureus* hin.

### Negative Testergebnisse

Der Test wird als negativ betrachtet, wenn keine Agglutination eintritt und die Suspension auf dem Testfeld auch nach 20 Sekunden eine gleichmäßige Blaufärbung aufweist. Ein solches Ergebnis weist darauf hin, daß es sich bei dem Isolat nicht um *S. aureus* handelt.

Reaktionen nach Ablauf der 20 Sekunden sollten nicht gewertet werden.

### Nicht interpretierbare Testergebnisse

Der Test sollte nicht gewertet werden, wenn es auch beim Kontrollreagenz zu einer Agglutination kommt. Dieses Ergebnis deutet auf eine Autoagglutination der Kolonien hin.

### Nicht homogene Testergebnisse

Je nach Probenmaterial können faserige Reaktionen auftreten, die anhand folgender Kriterien zu interpretieren sind:

Das Ergebnis ist *positiv*, wenn bei der Verwendung des Testreagenzes eine größere Fläche des blauen Hintergrundes aufgehellt und im Vergleich mit dem Kontrollreagenz weiß wird.

Das Ergebnis ist *negativ*, wenn es weder beim Testreagenz noch beim Kontrollreagenz zu signifikanten Veränderungen in der gleichmäßigen Blaufärbung kommt.

### Zweifelhafte Testergebnisse

Leichte, feinkörnige Reaktionen des Latex-Testreagenzes bei unverändertem Latex-Kontrollreagenz stellen ein zweifelhaftes Ergebnis dar. Der Stamm sollte auf einem nichtselektiven Medium subkultiviert und erneut getestet werden.

### 13. TESTBESCHRÄNKUNGEN

1. Eine Agglutination über die empfohlenen 36 Stunden hinaus verstärkt die Tendenz isolierter Kolonien zur Autoagglutination.
2. Die Antikörper für den DrySpot Staphytest Plus wurden hinsichtlich verminderter Kreuzreaktivität mit gemeinsamen Antigenen Koagulase-negativer Staphylokokken optimiert. Dies kann unter Umständen zu einer verringerten Sensitivität gegenüber Typ 18 MRSA-Stämmen führen<sup>10</sup>.
3. Neben *S. aureus* können auch andere Staphylokokken, insbesondere *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis*, *S. xylosum*, *S. schleiferi* und *S. haemolyticus*<sup>11,12,13,14</sup>, positive Reaktionen in Koagulase- und Latextests zeigen. Bei Bedarf können diese Spezies durch biochemische Tests identifiziert werden, z.B. mit einem Test zum Nachweis der PYRase-Aktivität (OXOID O.B.I.S. PYR ID0580M). *S. aureus* und *S. hyicus* sind PYRase-negativ, alle anderen oben genannten Stämme sind PYRase-positiv<sup>15,16</sup>. *S. hyicus* und *S. intermedius* treten jedoch bei klinischem Humanmaterial äußerst selten auf.
4. Bei Staphylokokken, die aus Urin isoliert wurden und im OXOID DrySpot Staphytest Plus eine schwache positive<sup>17</sup> Reaktion zeigen, kann es sich um *Staphylococcus saprophyticus* handeln. Die genaue Identifizierung solcher Isolate kann mit biochemischen Tests oder mit Hilfe der Empfindlichkeitsprüfung gegenüber Novobiocin durchgeführt werden (*S. saprophyticus* ist Novobiocin-resistent).
5. Einige Streptokokken und möglicherweise auch andere Keime, die Immunglobuline oder Plasma-bindende Substanzen enthalten, können im Latex-Test unspezifisch reagieren. Auch können Keime, wie z.B. *Escherichia coli* eine unspezifische Reaktion der Latexpartikel bewirken<sup>18,19</sup>. Vor der Anwendung des Oxoid DrySpot Staphytest Plus sollte eine Gram-Färbung durchgeführt werden, um sicherzustellen, daß für den Test nur Staphylokokken eingesetzt werden.

### 14. LEISTUNGSMERKMALE

Die Leistungsfähigkeit des OXOID DrySpot Staphytest Plus-Tests wurde in den nachfolgend beschriebenen Studien ermittelt. Es ist dabei zu beachten, daß die Antigenausstattung von *S. aureus* in Abhängigkeit von der geographischen Verteilung eine bemerkenswerte Varianz aufweisen kann.

#### Klinische Studie

OXOID DrySpot Staphytest Plus wurde in einem großen australischen Lehrkrankenhaus evaluiert. Insgesamt 300 Isolate wurden gegen Röhrenkoagulase als Gold-Standard vergleichend untersucht. In der anschließenden Datenanalyse wurden Stämme, die bekanntermaßen kreuzreagieren<sup>11,12,13,14</sup> sowie autoagglutinierende Stämme, nicht berücksichtigt (n=284). Danach wurden die relative Sensitivität mit 100% und die relative Spezifität mit 96,3% ermittelt.

#### Industrielle Studie









OXOID DrySpot Staphytest Plus wurde im Rahmen einer multi-center Studie mit mehreren Lebensmittel-Laboratorien in Großbritannien evaluiert. Insgesamt wurden 621 Proben gegen Röhrenkoagulase als Gold-Standard vergleichend untersucht. Die Kolonien stammten von Baird-Parker-Nährboden, der mit Lebensmittel- oder Umweltpollen inokuliert wurde. In der anschließenden Datenanalyse wurden

Stämme, die bekanntermaßen kreuzreagieren<sup>11,12,13,14</sup> sowie autoagglutinierende Stämme, nicht berücksichtigt (n=603). Danach wurden die relative Sensitivität mit 98,4% und die relative Spezifität mit 96,9% ermittelt.


### 15. REFERENCES:


1. Essers, L. and Radebold, K. (1980). "Rapid and Reliable Identification of *Staphylococcus aureus* by a Latex Agglutination Test". J.Clin.Microbiol. 12: 641-643.
2. Taussig, M. J. (1984). Processes in Pathology and Microbiology. 2nd Edn. 520-530. Blackwell, Oxford.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. Data on file at Oxoid Ltd.
11. Jean-Pierre, H., Darbas, H., Jean-Roussenoq, A. and Boyer, G. (1989). "Pathogenicity in Two Cases of *Staphylococcus schleiferi*, a Recently Described Species". J.Clin.Microbiol. 27: 2110-2111.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. Myhre, E. B. and Kuusela, P. (1983). "Binding of Human Fibronectin to Group A, C and G Streptococci". Infect.Immun. 40: 29-34.

19. Runeheggen, A., Schonbeck, C., Hedner, U., Hessel, B. an 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.

 REF	Katalognummer
 IVD	In-vitro Diagnostikum
 i	In der Packungsbeilage nachlesen
	Temperatureinschränkungen
 LOT	Chargencode
	Verwendbar bis“
 N	Inhalt ausreichend für ,n' Ansätze
	Hersteller



 REF DR0100M.....120 Tests  
IFU X5241D Überarbeitet Dezember 2012

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