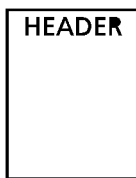


Revisions

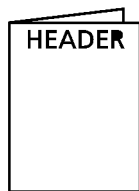
Rev from	Rev to	ECO #
0603	0604	2871-04

Notes:

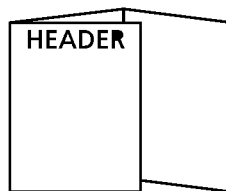
- BD Cat. Number 240658, 240661, 240679, 240827, 240826, 240680
- Blank (Sheet) Size : Length: 11" Width: 34"
 Number of Pages: 16 Number of Sheets: 1
 Page Size: Length 11" Width 4.25" Final Folded Size: 1.375" x 4.25"
- Style (see illustrations below): # 4



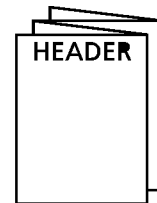
#1



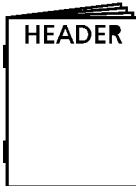
#2



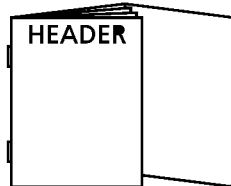
#3



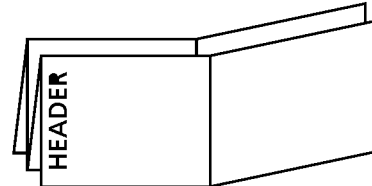
#4



#5



#6



#7

- See Specification Control Number N/A for Material Information
- Ink Colors: Printed two sides Yes No
 No. of Colors: 1 PMS# 2755, Blue
- Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level.

Label Design	Date	COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION	Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA	
Proofer	Date			
Checked By	Date			
Part Number: 8810061		Category and Description Package Insert, BBL Coagulase Plasmas	Sheet: 1 of 17 Scale: 1:1	A


BD BBL™ Coagulase Plasmas
8810061
2004/06

English: pages 1 - 4 **Italiano: pagine 9 - 12**
Français : pages 4 - 6 **Español: páginas 12 - 15**
Deutsch: Seiten 7 - 9

See symbol glossary at end of insert. / Viz popis symbolů na konci příbalového letáku. / Se symbolglossaret i slutningen af indlægsedlen. / Zie lijst met symbolen aan het einde van de bijsluiter. / Vaadake sümbole seletust infolehe lõpus. / Katsopakkauselosteen lopussa olevaa kuvamerkkien sanastoa. / Voir le glossaire des symboles à la fin de la notice. / Siehe Symbol-Erklärungen am Ende der Packungsbeilage. / Δείτε το γλωσσάριο των συμβόλων στο τέλος του ένθετου. / A jelmagyarázat a használati utasítás végén található. / Vedere il glossario dei simboli alla fine del foglio illustrativo. / Žr. informacinio lapelio pabaigoje pateikiamą simbolių glosarijų. / Se i symbolforklaringen på slutten av produktvedlegget. / Zobacz objaśnienie symboli na końcu ulotki. / Consulte o glossário de símbolos no fim do folheto informativo. / Pozri slovník symbolov na konci letáka. / Consulte el glosario de símbolos al final del prospecto. / Se symbolförteckningen vid slutet av bipacksedeln.

Contact your local BD representative for instructions. / Pokyny vám poskytne místní zástupce společnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Becton Dickinson-representant för anvisningar.

INTENDED USE

BBL™ Coagulase Plasma, Rabbit and **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA are used to qualitatively determine the pathogenicity of staphylococci using the direct tube method.

SUMMARY AND EXPLANATION

Identification of staphylococci is based on microscopic examination, colonial morphology and cultural and biochemical characteristics. Staphylococci associated with acute infection (*Staphylococcus aureus* in humans and *S. intermedius* and *S. hyicus* in animals) can clot plasma. The most widely used and generally accepted criterion for identification of these pathogenic organisms is based on the presence of the enzyme coagulase.¹ The ability of *Staphylococcus* to produce coagulase was first reported by Loeb² in 1903.

Coagulase binds plasma fibrinogen, causing the organisms to agglutinate or plasma to clot. Two different forms of coagulase can be produced, free and bound. Free coagulase is an extracellular enzyme produced when the organism is cultured in broth. Bound coagulase, also known as clumping factor, remains attached to the cell wall of the organism. The tube test can detect the presence of both bound and free coagulase. Isolates that do not produce clumping factor must be tested for the ability to produce extracellular coagulase (free coagulase).

BBL Coagulase Plasma, Rabbit and **BBL** Coagulase Plasma Rabbit with EDTA are recommended for performing the direct tube test. The inoculum used for testing must be pure because a contaminant may produce false results after prolonged incubation. For the coagulase test, **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA is superior to citrated plasma because citrate-utilizing organisms such as *Pseudomonas* species, *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecalis* and strains of *Streptococcus* will clot citrated plasma in 18 h.³

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

S. aureus produces two types of coagulase, free and bound. Free coagulase is an extracellular enzyme produced when the organism is cultured in broth. Bound coagulase, also known as the clumping factor, remains attached to the cell wall of the organism.

In the direct tube test, free coagulase liberated from the cell acts on prothrombin in the coagulase plasma to give a thrombin-like product. This product then acts on fibrinogen to form a fibrin clot.⁴

The tube test is performed by mixing an overnight broth culture or colonies from a non-inhibitory agar plate into a tube of rehydrated coagulase plasma. The tube is incubated at 37°C. The formation of a clot in the plasma indicates coagulase production.

REAGENTS

Coagulase Plasma, Rabbit is lyophilized rabbit plasma with 0.85% sodium citrate and 0.85% sodium chloride, approximately.

Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA is lyophilized rabbit plasma with 0.15% EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) and 0.85% sodium chloride, approximately.

Warnings and Precautions

For *in vitro* Diagnostic Use.

The Packaging of This Product Contains Dry Natural Rubber.

Observe aseptic technique and established precautions against microbiological hazards throughout all procedures. After use, specimens, containers, slides, tubes and other contaminated material must be sterilized by autoclaving.

Directions for use should be followed carefully.

Storage

Store unopened lyophilized **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit and **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA at 2-8°C.

Store reconstituted plasma at 2-8°C for up to 14 days, or aliquot and freeze promptly at -20°C for up to 30 days. Do not thaw and refreeze.

Expiration date applies to product in its intact container when stored as directed. Do not use if the product is caked, discolored or shows other signs of deterioration. Examine reconstituted reagents for evidence of contamination, evaporation or other signs of deterioration, such as cloudiness or partial clotting.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Collect specimens or samples in sterile containers or with sterile swabs and transport immediately to the laboratory according to recommended guidelines.^{1,4-9}

Process each specimen using procedures appropriate for that sample.^{1,4-9}

Select well-isolated colonies. The test described below requires the use of a pure test culture.

Suspicious growth, such as black colonies on Vogel and Johnson Agar or Tellurite Glycine Agar, or golden, hemolytic colonies from **Trypticase**[™] Soy Blood agar plates should be selected for testing.

Using a bacteriological loop, transfer a well-isolated colony from a pure culture into a tube of sterile Brain Heart Infusion Broth or **Trypticase** Soy Broth. Incubate for 18-24 h or until a dense growth is observed. Alternatively, 2-4 colonies (1 loopful) taken directly from a non-inhibitory agar plate such as **Trypticase** Soy Agar may be used as an inoculum instead of a broth culture.

PROCEDURE

Materials Provided: BBL Coagulase Plasma, Rabbit, BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA.

Materials Required But Not Provided: Bacteriological inoculating loop, Pipettes, Sterile purified water, Culture tubes, small (10 x 75 mm), Water bath or incubator (35-37°C), **Trypticase** Soy Broth or Brain Heart Infusion (BHI) Broth.

Reagent Preparation

Rehydrate **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit and **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA by adding sterile purified water to the vial as indicated below. Mix by gentle end-over-end rotation of the vial.

Product Size	Sterile Purified Water	Approximate Number of Tests
3 mL	3 mL	6
15 mL	15 mL	30
25 mL	25 mL	50

Test Procedure

- Using a sterile 1 mL pipette, add 0.5 mL of rehydrated **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit or **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA to a 10 x 75 mm test tube supported in a rack.
- Using a sterile 1 mL serological pipette, add approximately 0.05 mL of the overnight broth culture of the test organism to the tube of plasma. Alternatively, using a sterile bacteriological loop, thoroughly emulsify 2-4 colonies (1 loopful) from a non-inhibitory agar plate in the tube of plasma.
- Mix gently.
- Incubate in a water bath or incubator at 35-37°C for up to 4 h.
- Examine the tubes periodically by gently tipping the tube. Avoid shaking or agitating the tube, which could cause breakdown of the clot and, consequently, doubtful or false negative test results. Any degree of clotting in a 3-4 h period is regarded as a positive result. Many weak enzyme-producing strains will coagulate the plasma only after 24 h of incubation.
- Record results.

User Quality Control

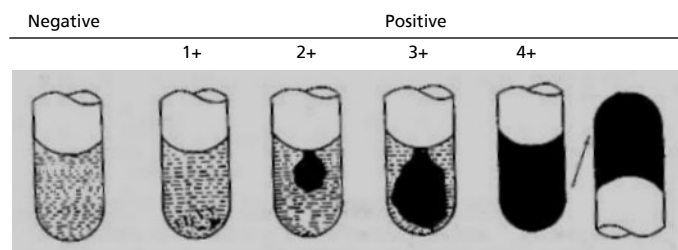
At the time of use, test both positive and negative control cultures to check performance of the coagulase plasma, techniques and methodology. The following cultures listed are the minimum that should be used for performance testing.

Organism	ATCC [™]	Reaction
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Clot in tube
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	No clot in tube

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent NCCLS guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

Results

Any degree of clotting in **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit or **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA is considered a positive test. The following chart can be used as a guide in interpreting the reactions.



Negative	No evidence of fibrin formation
1 + Positive	Small unorganized clots
2 + Positive	Small organized clot
3 + Positive	Large organized clot
4 + Positive	Entire content of tube coagulates and is not displaced when tube is inverted.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- Some species of organisms utilize citrate in their metabolism and will yield false-positive reactions for coagulase activity. Normally, this does not cause problems since the coagulase test is performed almost exclusively on staphylococci. However, it is possible that bacteria that utilize citrate may contaminate *Staphylococcus* cultures on which the coagulase test is being performed. These

- contaminated cultures may, upon prolonged incubation, give false-positive results due to citrate utilization.⁴
- When checking results of the coagulase test, observe tubes hourly during the first 4 h of incubation. Some strains of *S. aureus* produce staphylokinase, which may lyse clots. If the tubes are not read until 24 h of incubation, false-negative results may occur.¹
 - Do not use plasma if a heavy precipitate or clot has formed before inoculation.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS^{10,11}

The performance of **Bacto**[™] Coagulase Plasma (now **BBL** Coagulase Plasma) was compared to four other tests for the identification of *Staphylococcus aureus* in a study by Ad Luijenkijk, van Belkum, Verbrugh and Kluytmans.¹⁰ The free-coagulase (tube) test was performed. In addition, the bound coagulase (agar) test and three commercial latex agglutination tests were used to identify isolates.

Of the 330 staphylococcal isolates tested, 300 were *S. aureus* and 30 were non-*S. aureus*. All of the tests produced negative results for the 30 non-*S. aureus* isolates for a specificity of 100%. The table below summarizes the sensitivity of each test system for the 300 *S. aureus* isolates.

Test	MSSA* (222 isolates)		MRSA** (78 isolates)		Total (300 isolates)	
	No. of false-negative results	Test Sensitivity (%)	No. of false-negative results	Test Sensitivity (%)	No. of false-negative results	Test Sensitivity (%)
Free Coagulase	0	100	6	92.3	6	98.0
Bound Coagulase	0	100	3	96.1	3	99.0
Latex Agglutination Test #1	0	100	0	100	0	100
Latex Agglutination Test #2	2	99.1	12	84.6	14	95.3
Latex Agglutination Test #3	0	100	0	100	0	100

*Methicillin-susceptible *S. aureus*.

**Methicillin-resistant *S. aureus*.

In a second study by McDonald and Chapin,¹¹ the performance of **BBL** Coagulase Plasma was compared in a 2-h tube coagulase test (TCT) to two commercial latex agglutination tests for identifying *S. aureus* directly from blood culture broths and pellets obtained from supernatants of **BACTEC**[™] bottles. One hundred twelve (112) clinical blood culture isolates and 68 negative blood culture bottles seeded with a variety of gram-positive organisms were evaluated.

The table below gives the results of the coagulase test and the latex agglutination tests for both the seeded and clinical specimens.

Cultures and organism(s)	No. aerobic/ No. anaerobic (total)	No. of positive results					
		Direct			Pellet		
		Latex Test #1	Latex Test #2	TCT	Latex Test #1	Latex Test #2	TCT
Seeded							
<i>Staphylococcus aureus</i>	11/8 (19)	0	0	19	2	2	19
Coagulase-negative staphylococci	9/9 (18)	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5/5 (10)	0	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus</i> spp.	6/5 (11)	5	5	0	5	5	0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3/5 (8)	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1/1 (2)	0	0	0	0	0	0
Clinical							
Coagulase-negative staphylococci	70/3 (73)	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	35/4 (39)	5	4	31	5	4	30

Among the 68 seeded blood culture bottles, the 2-h tube coagulase test using **BBL** Coagulase Plasma correctly identified 19 of 19 blood cultures seeded with *S. aureus*. There were no false positives with the 2-h tube coagulase test. Among the 112 clinical specimens tested, the 2-h tube coagulase test correctly identified 31 out of 39 *S. aureus* isolates directly in blood culture broth and 30 out of 39 *S. aureus* isolates in pelleted supernatants, for sensitivities of 79.5 and 76.9%, respectively. The specificity with both seeded and clinical isolates was 100% for the tube coagulase test.

AVAILABILITY

Cat. No. Description

- 240658 **BBL**[™] Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 3.0 mL
 240661 **BBL**[™] Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 15.0 mL
 240679 **BBL**[™] Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 25.0 mL
 240827 **BBL**[™] Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 3.0 mL
 240826 **BBL**[™] Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 15.0 mL
 240680 **BBL**[™] Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 25.0 mL

REFERENCES

- Kloos, W. E., and T. L. Bannerman. 1999. *Staphylococcus* and *Micrococcus*, p. 264-282. In P.R. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover and R.H. Tenover, Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Loeb, L. 1903. The influence of certain bacteria on the coagulation of the blood. *J. Med. Res.* 10:407-419.
- Bayliss, B.G. and E.R. Hall. 1965. Plasma coagulation by organisms other than *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 89:101-104.
- Pezzlo, M. (ed.). 1994. Aerobic bacteriology, p. 1.0.0.-1.20.47. In H. D. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Baron, E.J., L.R. Peterson and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO.

6. Association of Official Analytical Chemists. 2000. Official methods of analysis of AOAC International, 17th ed. AOAC International, Arlington, VA.
7. Association of Official Analytical Chemists. 2001. FDA Bacteriological analytical manual online. <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-mm.html>>.
8. Downes, F.P. and K. Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
9. Flowers, R.S., W. Andrews, C.W. Donnelly and E. Koenig. 1993. Pathogens in milk and milk products, p. 103-212. In R.T. Marshall (ed.), Standard methods for the examination of dairy products, 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
10. Luijendijk, A., A. van Belkum, H. Verbrugh and J. Kluytmans. 1996. Comparison of five tests for identification of *Staphylococcus aureus* from clinical samples. J. Clin. Microbiol. 34:2267-2269.
11. McDonald, C.L. and K. Chapin. 1995. Rapid Identification of *Staphylococcus aureus* from blood culture bottles by a classic 2-hour tube coagulase test. J. Clin. Microbiol. 33:50-52.

BD BBL Coagulase Plasmas

Français

APPLICATION

Le **BBL Coagulase Plasma, Rabbit** (plasma de lapin pour test de la coagulase **BBL**) et le **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA** (plasma de lapin avec EDTA pour test de la coagulase **BBL**) servent à déterminer qualitativement la pathogénicité des staphylocoques par la méthode directe en tube.

RESUME ET EXPLICATION

L'identification des staphylocoques est basée sur l'examen microscopique, la morphologie des colonies, ainsi que les caractéristiques en culture et les caractéristiques biochimiques. Les staphylocoques associés à une infection aiguë (*Staphylococcus aureus* chez l'homme et *S. intermedius* et *S. hyicus* chez l'animal) ont la propriété de coaguler le plasma. Le critère le plus largement utilisé et habituellement accepté d'identification de ces microorganismes pathogènes est basé sur la présence de l'enzyme coagulase. ¹ La capacité de *Staphylococcus* à produire de la coagulase a été rapportée pour la première fois par Loeb² en 1903.

La coagulase se lie au fibrinogène plasmatique, provoquant l'agglutination des microorganismes ou la coagulation du plasma. La coagulase existe sous deux formes : libre et liée. La coagulase libre est un enzyme extracellulaire produit par le microorganisme cultivé en bouillon. La coagulase liée, également appelée facteur d'agglutination, demeure attachée à la paroi cellulaire du microorganisme. Le test en tube peut détecter la présence des formes liée et libre de la coagulase. Lorsque les isolats ne produisent pas de facteur d'agglutination, il convient de tester leur capacité à produire de la coagulase extracellulaire (coagulase libre).

Le **BBL Coagulase Plasma, Rabbit** et le **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA** sont recommandés pour réaliser la méthode directe en tube. L'inoculum utilisé pour le test doit provenir d'une culture pure car un contaminant risque de fausser les résultats après une incubation prolongée. Le **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA** est supérieur au plasma au citrate pour réaliser le test de la coagulase, car les microorganismes métabolisant le citrate, comme les espèces de *Pseudomonas*, *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecalis* et des souches de *Streptococcus*, coagulent le plasma citraté en 18 h.³

PRINCIPES DE LA METHODE

S. aureus produit deux types de coagulase : libre et liée. La coagulase libre est un enzyme extracellulaire produit par le microorganisme cultivé en bouillon. La coagulase liée, également appelée facteur d'agglutination, demeure attachée à la paroi cellulaire du microorganisme.

Dans la méthode directe en tube, la coagulase libre libérée de la cellule agit sur la prothrombine contenue dans le Coagulase Plasma pour former un produit analogue à la thrombine. Ce produit réagit ensuite sur le fibrinogène pour former un caillot de fibrine.⁴

La méthode en tube consiste à mélanger une culture en bouillon de la veille ou des colonies prélevées sur une boîte de gélose non inhibitrice dans un tube de Coagulase Plasma réhydraté. Le tube est incubé à 37 °C. La formation d'un caillot dans le plasma indique une production de coagulase.

REACTIFS

Le Coagulase Plasma, Rabbit est un plasma de lapin lyophilisé contenant environ 0,85 % de citrate de sodium et 0,85 % de chlorure de sodium.

Le **Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA** est un plasma de lapin lyophilisé contenant environ 0,15 % d'EDTA (acide éthylène diamine tétra acétique) et 0,85 % de chlorure de sodium.

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

L'emballage de ce produit contient du caoutchouc naturel sec.

Respecter les techniques d'asepsie et prendre les précautions habituelles contre les dangers microbiologiques pendant les préparations. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les échantillons, les récipients, les lames, les tubes et les autres matériels contaminés.

Respecter scrupuleusement le mode d'emploi.

Conservation

Conserver le **BBL Coagulase Plasma, Rabbit** et le **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA** lyophilisé non ouverts à 2 – 8 °C.

Le plasma reconstitué se conserve à 2 – 8 °C jusqu'à 14 jours, ou aliquoté et congelé immédiatement à -20 °C jusqu'à 30 jours. Ne pas recongeler une fois décongelé.

La date de péremption s'applique au produit contenu dans son emballage intact et conservé conformément aux instructions. Ne pas utiliser le produit s'il présente un aspect agglutiné ou décoloré, ou d'autres signes de détérioration. S'assurer que les

réactifs reconstitués ne présentent pas de signes de contamination ou d'évaporation, ou d'autres signes de détérioration (turbidité ou coagulation partielle).

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Recueillir les échantillons dans des récipients stériles ou effectuer des prélèvements à l'aide d'écouvillons stériles et les acheminer immédiatement jusqu'au laboratoire conformément aux consignes en vigueur.^{1,4-9}

Préparer chaque échantillon comme il convient.^{1,4-9}

Sélectionner les colonies bien isolées. Le test décrit ci-dessous nécessite une culture pure.

Tester les colonies suspectes, comme des colonies noires sur gélose de Vogel et Johnson ou gélose à la glycine et à la tellurite, ou des colonies hémolytiques dorées sur gélose de soja au sang **Trypticase** Soy Blood Agar.

A l'aide d'un enseigneur à anse, transférer une colonie bien isolée prélevée sur une culture pure dans un tube de bouillon cœur-cerveille Brain Heart Infusion Broth ou de bouillon de soja **Trypticase** Soy Broth. Incuber pendant 18 – 24 h ou jusqu'à obtention d'une croissance bactérienne dense. 2 – 4 colonies (1 pleine anse) prélevées directement sur une gélose non inhibitrice comme la **Trypticase** Soy Agar peuvent également servir d'inoculum à la place d'une culture en bouillon.

METHODE

Matériaux fournis : BBL Coagulase Plasma, Rabbit, BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA.

Matériaux requis mais non fournis : Enseigneurs à anse, pipettes, eau purifiée stérile, tubes à culture de petit format (10 x 75 mm), bain-marie ou incubateur (35 à 37 °C), **Trypticase** Soy Broth ou Brain Heart Infusion (BHI) Broth.

Préparation des réactifs

Réhydrater le **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit et le **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA en ajoutant de l'eau purifiée dans le flacon comme indiqué ci-dessous. Mélanger en retournant alternativement le flacon.

Volume de produit	Eau purifiée stérile	Nombre approximatif de tests
3 mL	3 mL	6
15 mL	15 mL	30
25 mL	25 mL	50

Mode opératoire du test

1. A l'aide d'une pipette de 1 mL, ajouter 0,5 mL de **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit ou de **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA réhydraté à un tube à culture de 10 x 75 mm sur un portoir.
2. A l'aide d'une pipette sérologique de 1 mL, ajouter environ 0,05 mL de culture en bouillon de la veille du microorganisme à tester dans le tube de plasma. Il est également possible, à l'aide d'un enseigneur à anse stérile, d'émulsifier complètement dans le tube de plasma 2 – 4 colonies (1 pleine anse) prélevées sur une boîte de gélose non inhibitrice.
3. Mélanger doucement.
4. Incuber au bain-marie ou à l'incubateur à 35 – 37 °C jusqu'à 4 h.
5. Examiner périodiquement les tubes en les inclinant doucement. Ne pas agiter le tube pour ne pas risquer de désagréger le caillot et, par conséquent, d'entraîner des résultats de test douteux ou faussement négatifs. Tout degré de coagulation dans un délai de 3 – 4 h doit être interprété comme un résultat positif. De nombreuses souches faiblement productrices d'enzymes ne coaguleront le plasma qu'au bout de 24 h d'incubation.
6. Consigner les résultats.

Contrôle de qualité par l'utilisateur






Tester dans la même série des contrôles positifs et négatifs pour contrôler les performances du Coagulase Plasma, des techniques et de la méthodologie. Tester au minimum les cultures répertoriées suivantes pour vérifier la conformité des performances avec les spécifications.

Microorganisme	ATCC	Réaction
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Caillot dans le tube
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	Absence de caillot dans le tube

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives NCCLS et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

Résultats

Tout degré de coagulation dans le **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit et le **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA doit être interprété comme un test positif. Le tableau suivant peut servir de guide d'interprétation des réactions :

Négatif	Positif			
	1+	2+	3+	4+
				

Négatif	Aucune trace de formation de fibrine
1 + Positif	Petits caillots désorganisés
2 + Positif	Petit caillot organisé
3 + Positif	Grand caillot organisé
4 + Positif	Le contenu du tube coagule en totalité et n'est pas déplacé lorsque le tube est renversé.

LIMITES DE LA PROCEDURE

1. Certaines espèces de microorganismes qui métabolisent le citrate donneront des réactions faussement positives pour l'activité coagulase. Habituellement, ceci ne pose aucun problème car le test de la coagulase est réalisé presque exclusivement sur des staphylocoques. Cependant, il est possible que des bactéries qui métabolisent le citrate contaminent des cultures de *Staphylococcus* servant à réaliser le test de la coagulase. A l'issue d'une incubation prolongée, ces cultures contaminées risquent de donner de faux positifs en raison de la métabolisation du citrate.⁴
2. Pour interpréter les résultats du test de la coagulase, examiner les tubes toutes les heures au cours des quatre premières heures d'incubation. Certaines souches de *S. aureus* produisent de la staphylokinase, qui peut lyser les caillots. De faux négatifs risquent d'être obtenus si les tubes n'ont pas été lus avant 24 h d'incubation.¹
3. Ne pas utiliser le plasma si un précipité important ou un caillot s'est formé avant l'ensemencement.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES^{10,11}

Les performances du **Bacto Coagulase Plasma** (désormais appelé **BBL Coagulase Plasma**) ont été comparées à celle de quatre autres tests d'identification de *Staphylococcus aureus* dans une étude menée par Ad Luijck, van Belkum, Verbrugh et Kluytmans.¹⁰ Le test en tube sans coagulase a été réalisé. En outre, le test de la coagulase liée sur gélose et trois autres tests d'agglutination au latex disponibles sur le marché ont été utilisés pour identifier les isolats.

Parmi les 330 isolats de staphylocoques testés, 300 étaient *S. aureus* et 30 n'étaient pas *S. aureus*. Tous les tests ont donné des résultats négatifs pour les 30 isolats qui n'étaient pas *S. aureus*, soit une spécificité de 100 %. Le tableau ci-dessous récapitule la sensibilité de chacun des systèmes de test pour les 300 isolats de *S. aureus*.

Test	MSSA* (222 isolats)		MRSA** (78 isolats)		Total (300 isolats)	
	Nb. de faux-négatifs	Sensibilité du test (%)	Nb. de faux-négatifs	Sensibilité du test (%)	Nb. de faux-négatifs	Sensibilité du test (%)
Coagulase libre	0	100	6	92.3	6	98.0
Coagulase liée	0	100	3	96.1	3	99.0
Test d'agglutination au latex n° 1	0	100	0	100	0	100
Test d'agglutination au latex n° 2	2	99.1	12	84.6	14	95.3
Test Agglutination au latex n° 3	0	100	0	100	0	100

**S. aureus* sensible à la méticilline.

***S. aureus* résistant à la méticilline.

Dans une seconde étude menée par McDonald et Chapin,¹¹ les performances du **BBL Coagulase Plasma** dans le cadre d'un test de la coagulase en tube (TCT) de 2 h ont été comparées à celles de deux tests d'agglutination au latex disponibles sur le marché servant à l'identification directe de *S. aureus* à partir d'hémocultures en bouillon et de culots obtenus à partir de surnageants de flacons **BACTEC**. 112 isolats d'hémocultures cliniques et 68 flacons d'hémocultures négatives ensemencées avec différents microorganismes à Gram positif ont été analysés.

Le tableau ci-dessous récapitule les résultats du test de la coagulase et des tests d'agglutination au latex pour les échantillons cliniques et les échantillons ensemencés.

Cultures et microorganismes	Nb. d'aérobies/ Nb. d'anaérobies (total)	Nb. de résultats positifs					
		Direct			Culot		
		Test au latex n° 1	Test au latex n° 2	TCT	Test au latex n° 1	Test au latex n° 2	TCT
Ensemencées							
<i>Staphylococcus aureus</i>	11/8 (19)	0	0	19	2	2	19
Staphylocoques à coagulase négative	9/9 (18)	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5/5 (10)	0	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus</i> spp.	6/5 (11)	5	5	0	5	5	0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3/5 (8)	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1/1 (2)	0	0	0	0	0	0
Clinique							
Staphylocoques à coagulase négative	70/3 (73)	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	35/4 (39)	5	4	31	5	4	30

Parmi les 68 flacons d'hémocultures ensemencées, le test de la coagulase en tube de 2 h avec le **BBL Coagulase Plasma** a permis d'identifier correctement 19 hémocultures sur 19 ensemencées avec *S. aureus*. Aucun faux-positif n'a été obtenu avec le test de la coagulase en tube de 2 h. Parmi les 112 échantillons cliniques testés, le test de la coagulase en tube de 2 h a identifié correctement 31 isolats de *S. aureus* sur 39 directement en bouillon d'hémoculture et 30 isolats sur 39 dans les culots obtenus à partir de surnageants, soit une sensibilité de 79,5 et 76,9 %, respectivement. La spécificité pour les isolats ensemencés et les échantillons cliniques était de 100 % pour le test de la coagulase en tube.

CONDITIONNEMENT**N° réf. Description**

240658	BBL Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 3,0 mL
240661	BBL Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 15,0 mL
240679	BBL Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 25,0 mL
240827	BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 3,0 mL
240826	BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 15,0 mL
240680	BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 25,0 mL

RÉFÉRENCES: voir la rubrique "References" du texte anglais.

BD BBL Coagulase Plasmas

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

BBL Koagulaseplasma vom Kaninchen und **BBL** Koagulaseplasma mit EDTA vom Kaninchen werden für den quantitativen Nachweis der Pathogenizität von Staphylokokken unter Verwendung der direkten Röhrenmethode verwendet.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Die Identifizierung von Staphylokokken erfolgt auf der Basis mikroskopischer Untersuchungen, der Koloniemorphologie sowie der kulturellen und biochemischen Eigenschaften. Mit einer akuten Infektion assoziierte Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* beim Menschen und *S. intermedius* und *S. hyicus* beim Tier) können Plasma gerinnen lassen. Das am häufigsten verwendete und allgemein akzeptierte Kriterium zur Identifizierung dieser pathogenen Organismen basiert auf dem Vorhandensein des Enzyms Koagulase.¹ Die Fähigkeit von *Staphylococcus* zur Bildung von Koagulase wurde das erste Mal 1903 von Loeb² dokumentiert.

Koagulase bindet Plasmafibrinogen, was zu einer Agglutination von Organismen oder einer Gerinnung des Plasmas führt. Es können zwei verschiedene Koagulationsformen gebildet werden, freie und gebundene. Freie Koagulase ist ein extrazelluläres Enzym, das bei der Kultivierung des Organismus in Bouillon gebildet wird. Gebundene Koagulase, auch bekannt als Verklumpungsfaktor, bleibt mit der Zellwand des Organismus verbunden. Mit dem Röhrentest kann das Vorhandensein von sowohl gebundener als auch freier Koagulase nachgewiesen werden. Isolate, die keinen Verklumpungsfaktor bilden, müssen auf die Fähigkeit zur Bildung extrazellulärer Koagulase (freier Koagulase) getestet werden.

BBL Koagulaseplasma vom Kaninchen und **BBL** Koagulaseplasmamit EDTA vom Kaninchen werden für die Durchführung des direkten Röhrentests empfohlen. Das für den Test verwendete Inokulum muss rein sein, da ein Kontaminant nach einer längeren Inkubation falsche Ergebnisse liefern kann. Für den Koagulasetest ist **BBL** Koagulaseplasma mit EDTA vom Kaninchen dem citrierten Plasma vorzuziehen, da Citrat verbrauchende Organismen, wie beispielsweise die *Pseudomonas*-Spezies, *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecalis* und *Streptococcus*-Stämme citriertes Plasma innerhalb von 18 h gerinnen lassen.³

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

S. aureus bildet zwei Arten von Koagulase, freie und gebundene. Freie Koagulase ist ein extrazelluläres Enzym, das bei der Kultivierung des Organismus in Bouillon gebildet wird. Gebundene Koagulase, auch bekannt als Verklumpungsfaktor, bleibt mit der Zellwand des Organismus verbunden.

Im direkten Röhrentest wirkt die aus der Zelle gelöste Koagulase auf das Prothrombin im Koagulaseplasma und liefert ein dem Thrombin ähnelndes Produkt. Dieses Produkt wirkt dann auf das Fibrinogen und bildet ein Fibringerinnsel.⁴

Beim Röhrentest werden eine über Nacht angelegte Bouillonkultur oder Kolonien von einer nicht hemmenden Agarplatte in ein Röhrchen mit rehydriertem Koagulaseplasma gegeben. Das Röhrchen wird bei 37 °C inkubiert. Die Bildung eines Gerinnsels im Plasma zeigt die Koagulasebildung an.

REAGENZIEN

Koagulaseplasma vom Kaninchen ist lyophilisiertes Kaninchenplasma mit 0,85 % Natriumcitrat und ungefähr 0,85 % Natriumchlorid.

Koagulaseplasma mit EDTA vom Kaninchen ist lyophilisiertes Kaninchenplasma mit 0,15 % EDTA (Ethylendiamintetraacetat) und ungefähr 0,85 % Natriumchlorid.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Die Verpackung dieses Produkts enthält Naturkautschuk (getrocknet).

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung aseptischer Kautelen und der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen erfolgen. Nach Gebrauch sind Proben, Behälter, Objektträger, Röhrchen und sonstiges kontaminiertes Material im Autoklaven zu sterilisieren.

Die Gebrauchsanleitung ist sorgfältig zu befolgen.

Aufbewahrung

Ungeöffnetes lyophilisiertes **BBL** Koagulaseplasma vom Kaninchen und **BBL** Koagulaseplasma mit EDTA vom Kaninchen bei 2 – 8 °C lagern.

Rekonstituiertes Plasma bis zu 14 Tage bei 2 – 8 °C lagern oder eine kleine Menge sofort bis zu 30 Tage bei -20 °C einfrieren. Nach dem Auftauen nicht erneut einfrieren.

Das Verfallsdatum gilt für das im unversehrten Behälter aufbewahrte Produkt bei Einhaltung der Lagervorschriften. Zusammenklebendes, verfärbtes oder sonstige Verfallsanzeichen aufweisendes Produkt nicht verwenden. Rekonstituierte Reagenzien auf Anzeichen von Kontamination, Verdunstungsverlust oder andere Anzeichen von Verfall, beispielsweise Trübung oder partielle Gerinnung, untersuchen.

PROBENTNAHME UND -VORBEREITUNG

Proben in sterile Behälter oder mit sterilen Tupfern entnehmen und entsprechend den empfohlenen Richtlinien sofort ins Labor transportieren.^{1,4-9}

Jede Probe nach jeweils geeigneten Verfahren vorbereiten.^{1,4-9}

Gut isolierte Kolonien auswählen. Für den nachfolgend beschriebenen Test muss eine Reinkultur verwendet werden.

Verdächtiges Wachstum, wie beispielsweise schwarze Kolonien auf Vogel- und Johnson-Agar oder Tellurit-Glycin-Agar oder goldene, hämolytische Kolonien auf **Trypticase**-Soja-Blutagarplatten, sollte für Tests ausgewählt werden.

Eine gut isolierte Kolonie einer Reinkultur mithilfe einer bakteriologischen Öse in ein Röhrchen mit steriler Hirn-Herz-Infus-Bouillon oder mit **Trypticase**-Soja-Bouillon geben. 18 – 24 h lang inkubieren, bis ein dichtes Wachstum zu beobachten ist. Alternativ können 2 – 4 Kolonien (1 Öse voll), die direkt von einer nicht hemmenden Agarplatte, wie beispielsweise **Trypticase**-Soja-Agar gewonnen wurden, statt einer Bouillonkultur als Inokulum verwendet werden.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit, **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Bakteriologische Inokulationsöse, Pipetten, steriles, destilliertes Wasser, kleine Kulturröhrchen (10 x 75 mm), Wasserbad oder Inkubator (35 – 37 °C), **Trypticase** Soy Broth oder Brain Heart Infusion (BHI).

Vorbereitung der Reagenzien

BBL Koagulaseplasma vom Kaninchen und **BBL** Koagulaseplasma mit EDTA vom Kaninchen durch Zugabe von sterilem, destilliertem Wasser zu den Fläschchen wie unten beschrieben rehydrieren. Durch vorsichtiges Wenden des Fläschchens über die lange Achse mischen.

Produktgröße	Steriles, destilliertes Wasser	Ungefähre Testanzahl
3 mL	3 mL	6
15 mL	15 mL	30
25 mL	25 mL	50

Testverfahren

- Einem 10 x 75 großen Teströhrchen in einem Gestell mit einer sterilen 1 mL-Pipette 0,5 mL rehydriertes **BBL** Koagulaseplasma vom Kaninchen oder **BBL** Koagulaseplasma mit EDTA vom Kaninchen hinzugeben.
- Dem Röhrchen mit Plasma mit einer sterilen, serologischen 1 mL-Pipette ungefähr 0,05 mL der über Nacht aufbewahrten Kultur des Testorganismus hinzufügen. Alternativ 2 – 4 Kolonien (1 Öse voll) von einer nicht hemmenden Agarplatte vollständig mithilfe einer sterilen bakteriologischen Öse mit dem Plasma im Röhrchen emulgieren.
- Vorsichtig mischen.
- Bis zu 4 h bei 35 – 37 °C im Wasserbad oder im Inkubator inkubieren.
- Die Röhrchen in regelmäßigen Abständen durch vorsichtiges Kippen untersuchen. Röhrchen nicht schütteln oder heftig bewegen, da das Gerinnsel ansonsten zerfallen kann, was zweifelhafte oder falsch negative Testergebnisse zur Folge hat. Jeder Gerinnungsgrad in einem Zeitraum von 3 bis 4 h. wird als positives Ergebnis gewertet. Viele Stämme mit einer schwachen Enzymbildung koagulieren das Plasma erst nach einer Inkubation von 24 h.
- Ergebnisse dokumentieren.

Qualitätssicherung durch den Anwender

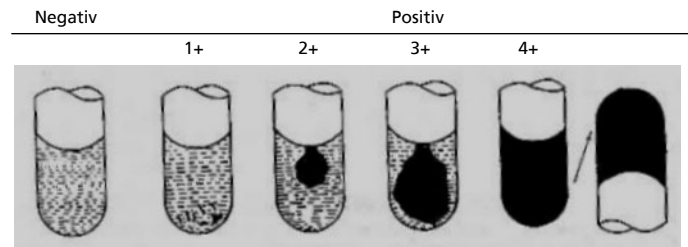
Bei Anwendung sowohl positive als auch negative Kontrollen durchführen, um die Leistung des Koagulaseplasmas, die Techniken und die Methodik zu überprüfen. Die nachfolgend aufgeführten Kulturen entsprechen dem Minimum, das für den Leistungstest verwendet werden sollte.

Organismus	ATCC	Reaktion
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Gerinnsel im Röhrchen
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	Kein Gerinnsel im Röhrchen

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten NCCLS-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

Ergebnisse

Jeder Gerinnungsgrad des **BBL** Koagulaseplasmas vom Kaninchen oder **BBL** Koagulaseplasmas mit EDTA vom Kaninchen wird als positives Testergebnis gewertet. Die folgende Übersicht kann als Leitfaden bei der Interpretation der Reaktionen verwendet werden.



Negativ	Kein Anzeichen einer Fibrinbildung
1 + Positiv	Kleine, unorganisierte Gerinnsel
2 + Positiv	Kleine, organisierte Gerinnsel
3 + Positiv	Große, organisierte Gerinnsel
4 + Positiv	Der gesamte Röhrcheninhalt koaguliert und wird beim Umdrehen des Röhrchens nicht verdrängt.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

- Einige Organismen verwenden für ihren Metabolismus Citrat und liefern in Bezug auf die Koagulaseaktivität falsch positive Ergebnisse. Normalerweise stellt dies kein Problem dar, da der Koagulasetest fast ausschließlich bei Staphylokokken durchgeführt wird. Es ist jedoch möglich, dass Citrat verbrauchende Bakterien die *Staphylococcus*-Kulturen, bei denen der Koagulasetest durchgeführt wird, kontaminieren. Diese kontaminierten Kulturen können aufgrund des Citratverbrauchs bei längerer Inkubation falsch positive Ergebnisse liefern.⁴
- Zur Kontrolle der Ergebnisse des Koagulasetests die Röhrchen während der ersten 4 h der Inkubation stündlich überprüfen. Einige *S. aureus*-Stämme bilden Staphylokinase, durch die Gerinnsel lysiert werden können. Wenn die Röhrchen erst nach 24-h Inkubation überprüft werden, kann dies zu falsch negativen Ergebnissen führen.¹
- Plasma nicht verwenden, wenn sich vor der Inokulation ein starker Niederschlag oder ein Gerinnsel gebildet hat.

LEISTUNGSMERKMALE^{10,11}

Die Leistung von **Bacto** Koagulaseplasma (jetzt **BBL** Koagulaseplasma) wurde in einer Studie von Ad Luijenkijk, van Belkum, Verbrugh and Kluytmans mit vier anderen Tests zur Identifizierung von *Staphylococcus aureus* verglichen.¹⁰ Es wurde der freie Koagulasetest (Röhrchentest) durchgeführt. Darüber hinaus wurden der

gebundene Koagulasetest (Agartest) und drei handelsübliche Latex-Agglutinationstests zur Identifizierung von Isolaten durchgeführt.

Von den getesteten 330 Staphylokokkenisolaten waren 300 *S. aureus*-Isolate und 30 waren keine *S. aureus*-Isolate. Alle Tests zeigten negative Ergebnisse für die 30 Isolate, die keine *S. aureus*-Isolate waren; somit lag die Spezifität bei 100 %. Die nachfolgend aufgeführte Tabelle fasst die Empfindlichkeit des jeweiligen Testsystems für die 300 *S. aureus*-Isolate zusammen:

Test	MSSA* (222 Isolate)		MRSA** (78 Isolate)		Gesamt (300 Isolate)	
	Anz. falsch negativer Ergebnisse	Testempfindlichkeit (%)	Anz. falsch negativer Ergebnisse	Testempfindlichkeit (%)	Anz. falsch negativer Ergebnisse	Testempfindlichkeit (%)
Freie Koagulase	0	100	6	92.3	6	98.0
Gebundene Koagulase	0	100	3	96.1	3	99.0
Latex-Agglutinationstest Nr. 1	0	100	0	100	0	100
Latex-Agglutinationstest Nr. 2	2	99.1	12	84.6	14	95.3
Latex-Agglutinationstest Nr. 3	0	100	0	100	0	100

*Methicillin-empfindliche *S. aureus*.

**Methicillin-resistente *S. aureus*.

In einer zweiten Studie von McDonald und Chapin,¹¹ wurde die Leistung von **BBL** Koagulaseplasma in einem 2-h Röhrchen-Koagulasetest (TCT) mit zwei handelsüblichen Latex-Agglutinationstests zur Identifizierung von *S. aureus* direkt aus Blutkulturbouillons und -pellets verglichen, die aus dem Flüssigkeitsüberstand von **BACTEC**-Fläschchen gewonnen wurden. Es wurden einhundertzwoölf (112) klinische Blutkulturisolate und 68 negative Blutkulturfläschchen, die künstlich mit einer Vielzahl grampositiver Organismen kontaminiert wurden, ausgewertet.

In der Tabelle unten sind die Ergebnisse des Koagulasetests und der Latex-Agglutinationstests sowohl für die künstlich kontaminierten als auch für die klinischen Proben aufgeführt.

Kulturen und Organismus (Organismen)	Anz. Aerobier/Anz. Anaerobier (gesamt)	Anz. positiver Ergebnisse					
		Direkt			Pellet		
		Latex-test Nr. 1	Latex-test Nr. 2	TCT	Latex-test Nr. 1	Latex-test Nr. 2	TCT
Künstlich kontaminiert							
<i>Staphylococcus aureus</i>	11/8 (19)	0	0	19	2	2	19
Koagulasenegative Staphylokokken	9/9 (18)	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5/5 (10)	0	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus</i> spp.	6/5 (11)	5	5	0	5	5	0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3/5 (8)	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1/1 (2)	0	0	0	0	0	0
Klinisch							
Koagulasenegative Staphylokokken	70/3 (73)	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	35/4 (39)	5	4	31	5	4	30

Bei den 68 künstlich kontaminierten Blutkulturfläschchen wies der 2-h Röhrchen-Koagulasetest mit **BBL** Koagulaseplasma 19 von 19 künstlich mit *S. aureus* kontaminierte Blutkulturen nach. Es gab keine falsch positiven Ergebnisse beim 2-h Röhrchen-Koagulasetest. Bei den 112 getesteten klinischen Proben wies der 2-h Koagulasetest 31 von 39 *S. aureus*-Isolate direkt in Blutkulturbouillon nach sowie 30 von 39 *S. aureus*-Isolate im pelletierten Flüssigkeitsüberstand, was eine Empfindlichkeit von 79,5 bzw. 76,9 % ergibt. Die Spezifität bei den künstlich kontaminierten und den klinischen Isolaten betrug beim Röhrchen-Koagulasetest 100 %.

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

240658	BBL Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 3,0 mL
240661	BBL Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 15,0 mL
240679	BBL Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 25,0 mL
240827	BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 3,0 mL
240826	BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 15,0 mL
240680	BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 25,0 mL

LITERATUR: S. "References" im englischen Text.

BD BBL Coagulase Plasmas

Italiano

USO PREVISTO

BBL Coagulase Plasma, Rabbit e **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit con EDTA vengono impiegati per determinare qualitativamente la patogenicità degli stafilococchi utilizzando il metodo diretto in provetta.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

L'identificazione degli stafilococchi è basata sull'esame microscopico, la morfologia coloniale e le caratteristiche colturali e biochimiche. Gli stafilococchi associati ad infezioni acute (*Staphylococcus aureus* nell'uomo e *S. intermedius* e *S. hyicus* negli animali) possono coagulare il plasma. Il criterio più comunemente impiegato e generalmente accettato per l'identificazione di questi microrganismi patogeni è basato sulla presenza dell'enzima coagulasi.¹ La capacità dello *Staphylococcus* di produrre coagulasi è stata riscontrata per la prima volta da Loeb² nel 1903.

La coagulasi lega il fibrinogeno del plasma, provocando l'agglutinazione degli organismi o la coagulazione del plasma. È possibile produrre due forme differenti di

coagulasi, libera e legata. La coagulasi libera è un enzima extracellulare prodotto quando l'organismo è coltivato in brodo. La coagulasi legata, nota anche come fattore di agglutinazione, rimane attaccata alla parete cellulare dell'organismo. Il test in provetta è in grado di rilevare la presenza di coagulasi libera e legata. Gli isolati che non producono fattore di agglutinazione devono essere testati per verificarne la capacità di produrre coagulasi extracellulare (coagulasi libera).

BBL Coagulase Plasma, Rabbit e **BBL Coagulase Plasma Rabbit con EDTA** sono consigliati per eseguire il test diretto in provetta. L'inoculo utilizzato per il test deve essere puro in quanto un contaminante potrebbe produrre risultati falsati dopo un'incubazione prolungata. Per il test della coagulasi, **BBL Coagulase Plasma, Rabbit con EDTA** è superiore al plasma citrato in quanto i microrganismi che utilizzano citrato come le specie *Pseudomonas*, *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecalis* e i ceppi di *Streptococcus coaguleranno* il plasma citrato in 18 h.³

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

S. aureus produce due tipi di coagulasi, libera e legata. La coagulasi libera è un enzima extracellulare prodotto quando l'organismo è coltivato in brodo. La coagulasi legata, nota anche come fattore di agglutinazione, rimane attaccata alla parete cellulare del microrganismo.

Nel test diretto in provetta, la coagulasi libera liberata dalle cellule agisce sulla protrombina nel plasma della coagulasi per fornire un prodotto simile alla trombina. Questo prodotto agisce poi sul fibrinogeno per formare un coagulo di fibrina.⁴

Il test in provetta viene eseguito miscelando una coltura in brodo overnight o colonie provenienti da una piastra agar non inibitoria in una provetta di plasma coagulato reidratato. La provetta viene incubata a 37 °C. La formazione di un coagulo nel plasma indica la produzione di coagulasi.

REAGENTI

Coagulase Plasma, Rabbit è plasma liofilizzato di coniglio con 0,85% di citrato di sodio e 0,85% di cloruro di sodio, approssimativamente.

Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA è plasma liofilizzato di coniglio con 0,15% di EDTA (acido etilenediaminotetracetico) e 0,85% di cloruro di sodio, approssimativamente.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

La confezione di questo prodotto contiene gomma naturale secca.

Durante tutte le procedure, attenersi ad una tecnica asettica e rispettare le misure precauzionali stabilite contro i rischi microbiologici. Dopo l'uso, sterilizzare in autoclave campioni, contenitori, vetrini, provette e tutti gli altri materiali contaminati.

Seguire attentamente le istruzioni per l'uso.

Conservazione

Conservare **BBL Coagulase Plasma, Rabbit** e **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA** liofilizzato in confezione chiusa a 2 – 8 °C.

Conservare il plasma ricostituito a 2 – 8 °C per un massimo di 14 giorni, o dividere in aliquote e congelare immediatamente a -20 °C per un massimo di 30 giorni. Non scongelare e ricongelare il prodotto.

La data di scadenza si riferisce al prodotto nel contenitore intatto e conservato come prescritto. Non usare il prodotto se appare indurito, scolorito o presenta altri segni di deterioramento. Esaminare i reagenti ricostituiti alla ricerca di contaminazione, evaporazione o altri segni di deterioramento, come torbidità o parziale coagulazione.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Raccogliere i campioni in contenitori sterili o con tamponi sterili e trasportarli immediatamente in laboratorio secondo le linee guida raccomandate.^{1,4-9}

Trattare i campioni usando la procedura appropriata per ciascuno di essi.^{1,4-9}

Selezionare colonie ben isolate. Il test descritto di seguito richiede l'utilizzo di una coltura di prova pura.

Per il test, dovranno essere selezionate crescite sospette, come colonie nere su agar Vogel e Johnson o agar Glicine di tellurite, o colonie emolitiche dorate da piastre di **Trypticase Soy Blood agar**.

Con un'ansa batteriologica, trasferire una colonia ben isolata da una coltura pura in una provetta di brodo di infuso cuore-cervello sterile o **Trypticase Soy Broth**. Incubare per 18 – 24 h o fino ad osservare una crescita densa. In alternativa, è possibile utilizzare come inoculo 2 – 4 colonie (1 ansa completa) prelevate direttamente da una piastra agar non inibitoria come **Trypticase Soy Agar** al posto di una coltura in brodo.

PROCEDURA

Materiali forniti: **BBL Coagulase Plasma, Rabbit**, **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA**.

Materiali necessari ma non forniti: Ansa batteriologica per inoculo, pipette, acqua sterile depurata, provette di coltura piccole (10 x 75 mm), bagnomaria o incubatore (35 – 37 °C), **Trypticase Soy Broth** o brodo di infuso cuore-cervello (BHI).

Preparazione dei reagenti

Reidratare **BBL Coagulase Plasma, Rabbit** e **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA** aggiungendo acqua sterile depurata nel flacone come indicato di seguito. Agitare roteando delicatamente il flacone.

Dosaggio del prodotto	Acqua sterile depurata	Numero di test approssimativo
3 mL	3 mL	6
15 mL	15 mL	30
25 mL	25 mL	50

Procedura del test

- Utilizzando una pipetta sterile da 1 mL, aggiungere 0,5 mL di **BBL Coagulase Plasma, Rabbit** o **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA** reidratati ad una provetta di test da 10 x 75 mm inserita in un portaprovette.
- Utilizzando una pipetta sierologica da 1 mL, aggiungere alla provetta di plasma circa 0,05 mL della coltura in brodo del microrganismo di prova incubata durante

la notte. In alternativa, utilizzando un'ansa sterile batteriologica, emulsificare accuratamente 2 – 4 colonie (1 ansa completa) da una piastra agar non inibente nella provetta di plasma.

3. Mescolare delicatamente.
4. Incubare in bagnomaria o in incubatore a 35 – 37 °C per un massimo di 4 h.
5. Esaminare periodicamente le provette inclinandole leggermente. Evitare di mescolare o agitare la provetta, per evitare l'interruzione della coagulazione che potrebbe produrre risultati incerti o falsi negativi. Qualsiasi grado di coagulazione in un periodo di 3 – 4 h viene considerato un risultato positivo. Molti ceppi che producono un enzima debole coaguleranno il plasma solo dopo 24 h di incubazione.
6. Registrare i risultati.

Controllo di qualità a cura dell'utente

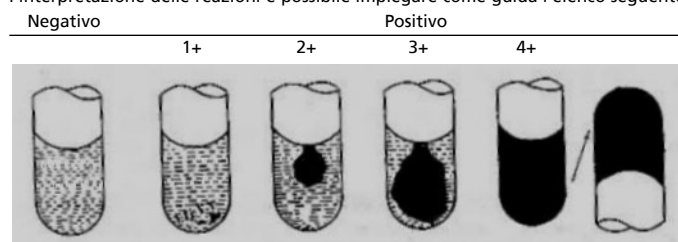
Al momento dell'uso, testare le colture di controllo positiva e negativa per verificare le performance del plasma di coagulasi, le tecniche e la metodologia. Le colture elencate di seguito sono indispensabili per l'esecuzione del test.

Microrganismo	ATCC	Reazione
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Coagulo in provetta
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	Nessun coagulo in provetta

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità in uso nel laboratorio. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione NCCLS in merito.

Risultati

Qualsiasi grado di coagulazione in **BBL Coagulase Plasma, Rabbit** o **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA** è sufficiente per considerare positivo il test. Per l'interpretazione delle reazioni è possibile impiegare come guida l'elenco seguente.



Negativo	Nessun segno di formazione di fibrina
1 + Positivo	Coaguli piccoli non organizzati
2 + Positivo	Coagulo piccolo organizzato
3 + Positivo	Coagulo grande organizzato
4 + Positivo	L'intero contenuto della provetta è coagulato e non si sposta pur capovolgendo la provetta.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. Alcune specie di microrganismi utilizzano il citrato per il loro metabolismo e producono reazioni falsamente positive per quanto riguarda l'attività della coagulasi. Di norma, ciò non costituisce un problema in quanto il test della coagulasi viene eseguito quasi esclusivamente sugli stafilococchi. Tuttavia, è possibile che i batteri che utilizzano citrato possano contaminare le colture di *Staphylococcus* sulle quali verrà eseguito il test della coagulasi. A causa dell'utilizzo del citrato, dopo un'incubazione prolungata queste colture contaminate possono produrre risultati falsi positivi.⁴
2. Nel verificare i risultati del test della coagulasi, osservare le provette ogni ora durante le prime 4 h di incubazione. Alcuni ceppi di *S. aureus* producono stafilocinasi, in grado di lisare i coaguli. Se i risultati non vengono controllati fino a 24 h di incubazione delle provette, è possibile che siano falsi negativi.¹
3. Non utilizzare il plasma se prima dell'inoculazione si è formato un coagulo o un precipitato pesante.

PERFORMANCE^{10,11}

Le performance di **Bacto Coagulase Plasma** (ora **BBL Coagulase Plasma**) sono state confrontate con altri quattro test per l'identificazione di *Staphylococcus aureus* in uno studio condotto da Ad Luijck, van Belkum, Verbrugh e Kluytmans.¹⁰ È stato eseguito il test della coagulasi libera (in provetta). Inoltre, per identificare gli isolati sono stati utilizzati tre test di agglutinazione al latex in commercio ed il test della coagulasi legata (su agar).

Dei 330 isolati di stafilococco testati, 300 erano *S. aureus* e 30 di ceppi diversi da *S. aureus*. I test sui 30 isolati diversi da *S. aureus* hanno prodotto risultati negativi per una specificità del 100%. La tabella seguente riepiloga la sensibilità di ciascun sistema di test per i 300 isolati di *S. aureus*.

Test	MSSA* (222 isolati)		MRSA** (78 isolati)		Total (300 isolati)	
	N. di risultati falsi negativi	Sensibilità del test (%)	N. di risultati falsi negativi	Sensibilità del test (%)	N. di risultati falsi negativi	Sensibilità del test (%)
Coagulasi libera	0	100	6	92.3	6	98.0
Coagulasi legata	0	100	3	96.1	3	99.0
Test di agglutinazione al latex n. 1	0	100	0	100	0	100
Test di agglutinazione al latex n. 2	2	99.1	12	84.6	14	95.3
Test di agglutinazione al latex n. 3	0	100	0	100	0	100

**S. aureus* suscettibile alla meticillina.

***S. aureus* resistente alla meticillina.

In un secondo studio condotto da McDonald e Chapin,¹¹ le performance di **BBL Coagulase Plasma** sono state confrontate, in un test della coagulasi in provetta (TCT) di due ore, a due test di agglutinazione al latex in commercio per l'identificazione di *S. aureus* direttamente dai brodi di emocoltura e dai pellet ottenuti dai sovrinatanti dei flaconi **BACTEC**. Sono stati considerati centododici (112) isolati clinici di emocolture e 68 flaconi di emocolture negative seminate con una varietà di microrganismi gram-positivi.

La tabella seguente presenta i risultati del test della coagulasi e dei test di agglutinazione al latex per i campioni clinici e seminati.

Colture e microrganismi	N. aerobici/ N. anaerobici (totale)	N. di risultati positivi					
		Diretto			Pellet		
		Test al latex n. 1	Test al latex n. 2	TCT	Test al latex n. 1	Test al latex n. 2	TCT
Seminati							
<i>Staphylococcus aureus</i>	11/8 (19)	0	0	19	2	2	19
Stafilococchi negativi alla coagulasi	9/9 (18)	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5/5 (10)	0	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus spp.</i>	6/5 (11)	5	5	0	5	5	0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3/5 (8)	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1/1 (2)	0	0	0	0	0	0
Clinico							
Stafilococchi negativi al coagulasi	70/3 (73)	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	35/4 (39)	5	4	31	5	4	30

Tra i 68 flaconi di colture di sangue seminate, il test della coagulasi in provetta da 2 h eseguito utilizzando **BBL Coagulase Plasma** ha identificato correttamente 19 delle 19 colture seminate con *S. aureus*. Non si sono verificati risultati falsi positivi con il test della coagulasi in provetta da 2 h. Tra i 112 campioni clinici testati, il test della coagulasi in provetta da 2 h ha identificato correttamente 31 su 39 isolati di *S. aureus* direttamente in brodo di emocoltura e 30 su 39 isolati di *S. aureus* in sovrinatanti a pellet, per sensibilità rispettivamente di 79,5 e 76,9%. La specificità con gli isolati clinici ed seminati è stata del 100% per il test della coagulasi in provetta.

DISPONIBILITÀ

N. di cat. Descrizione

240658	BBL Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 3.0 mL
240661	BBL Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 15.0 mL
240679	BBL Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 25,0 mL
240827	BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 3.0 mL
240826	BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 15,0 mL
240680	BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 25,0 mL

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

BD BBL Coagulase Plasmas

Español

USO PREVISTO

BBL Coagulase Plasma, Rabbit (plasma de coagulasa de conejo **BBL**) y **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA** (plasma de coagulasa de conejo con EDTA **BBL**) se utilizan para determinar cualitativamente la patogenicidad de los estafilococos utilizando el método en tubo directo.

RESUMEN Y EXPLICACION

La identificación de los estafilococos se basa en el examen al microscopio, la morfología de las colonias y las características bioquímicas y de cultivo. Los estafilococos asociados con infecciones agudas (*Staphylococcus aureus* en seres humanos y *S. intermedius* y *S. hyicus* en animales) pueden producir coagulación en plasma. El criterio más ampliamente utilizado y de aceptación general para la identificación de estos organismos patógenos se basa en la presencia de la enzima coagulasa¹. La capacidad de *Staphylococcus* para producir coagulasa fue reseñada por primera vez por Loeb² en 1903.

La coagulasa une el fibrinógeno plasmático, lo que causa la aglutinación de los organismos o la coagulación del plasma. La coagulasa se produce de dos formas diferentes: libre y fija. La coagulasa libre es una enzima extracelular producida cuando se cultiva el organismo en caldo. La coagulasa fija, también conocida como factor de aglutinación, permanece fija a la pared celular del organismo. La prueba en tubo puede detectar la presencia de las coagulasas fija y libre. Los aislados que no producen factor de aglutinación deben analizarse para determinar la capacidad de producir coagulasa libre.

BBL Coagulase Plasma, Rabbit y **BBL Coagulase Plasma Rabbit with EDTA** son los productos recomendados para realizar la prueba directa en tubo. El inóculo utilizado para el análisis debe ser puro, porque un contaminante puede producir resultados falsos después de una incubación prolongada. Para la prueba de coagulasa, **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA** es superior al plasma citrado porque los organismos que utilizan citrato, tales como la especie *Pseudomonas*, *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecalis* y cepas de *Streptococcus* no producirán coagulación en el plasma citrado en 18 h³.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

S. aureus produce dos tipos de coagulasa: libre y fija. La coagulasa libre es una enzima extracelular producida cuando se cultiva el organismo en caldo. La coagulasa fija, también conocida como factor de aglutinación, permanece fija a la pared celular del organismo.

En la prueba directa en tubo, la coagulasa libre liberada de la célula actúa sobre la protrombina en el plasma de la coagulasa para producir un producto semejante a la trombina. Este producto luego actúa sobre el fibrinógeno para formar un coágulo de fibrina⁴.

La prueba en tubo se realiza mezclando un cultivo de caldo o colonias del día anterior de una placa de agar no inhibidor a un tubo de plasma de coagulasa

rehidratado. El tubo se incuba a 37 °C. La formación de un coágulo en el plasma indica la producción de coagulasa.

REACTIVOS

Coagulase Plasma, Rabbit es plasma de conejo liofilizado con citrato sódico al 0,85% y cloruro sódico al 0,85%, aproximadamente.

Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA es plasma de conejo liofilizado con EDTA al 0,15% (ácido etilendiaminotetraacético) y cloruro sódico al 0,85%, aproximadamente.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

El envase de este producto contiene goma natural seca.

Observar las técnicas asépticas y las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos durante todos los procedimientos. Después del uso, se deberán esterilizar muestras, recipientes, portaobjetos, tubos y demás material contaminado en autoclave.

Es necesario seguir al pie de la letra las instrucciones de uso.

Almacenamiento:

Almacenar los productos liofilizados sin abrir **BBL Coagulase Plasma, Rabbit** y **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA** a una temperatura de 2 – 8 °C.

Almacenar el plasma reconstituido a 2 – 8 °C durante un máximo de 14 días, o dividir en alícuotas y congelar de inmediato a -20 °C durante un máximo de 30 días. No descongelar y volver a congelar.

La fecha de caducidad se aplica al producto conservado en su envase intacto de la forma indicada. No utilizar si el producto está aglutinado o descolorido, o si evidencia otras señales de deterioro. Examinar si los reactivos reconstituidos presentan contaminación, evaporación u otros signos de deterioro, tales como turbidez o coagulación parcial.

RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Recoger las muestras en recipientes estériles o con torundas estériles y transportarlos inmediatamente al laboratorio según las directrices recomendadas^{1,4-9}.

Preparar cada muestra utilizando los procedimientos apropiados para ella^{1,4-9}.

Seleccionar colonias bien aisladas. La prueba descrita a continuación requiere el uso de un cultivo de prueba puro.

Deben seleccionarse para la prueba el crecimiento presuntivo, tal como las colonias de color negro en el agar Vogel y Johnson o el agar telurito glicina, o las colonias hemolíticas de color dorado de placas de agar sangre y agar de soja **Trypticase**.

Con un asa bacteriológica, transferir una colonia bien aislada a partir de un cultivo puro en un tubo de caldo estéril de infusión de cerebro y corazón o caldo de soja **Trypticase**. Incubar durante 18 – 24 h o hasta que se observe un crecimiento denso. También se pueden utilizar como inóculo 2 – 4 colonias (1 asa llena) extraídas directamente de una placa de agar no inhibidor, tal como agar de soja **Trypticase**, en lugar de un cultivo de caldo.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: **BBL Coagulase Plasma, Rabbit**; **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA**.

Materiales necesarios pero no suministrados: Asa de inoculación bacteriológica, pipetas, agua purificada estéril, tubos de cultivo pequeños (10 x 75 mm), baño María o incubadora (35 – 37 °C), caldo de soja **Trypticase** o caldo de infusión de cerebro y corazón (BHI).

Preparación del reactivo

Rehidratar **BBL Coagulase Plasma, Rabbit** y **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA** agregando agua purificada estéril al frasco como se indica a continuación. Mezclar mediante rotación suave e inversión del frasco.

Tamaño del producto	Agua purificada estéril	Número de pruebas aproximado
3 mL	3 mL	6
15 mL	15 mL	30
25 mL	25 mL	50

Procedimiento de análisis

- Con una pipeta estéril de 1 mL, agregar 0,5 mL de **BBL Coagulase Plasma, Rabbit** o **BBL Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA** rehidratado en un tubo de prueba de 10 x 75 mm en una gradilla.
- Con una pipeta serológica estéril de 1 mL, agregar aproximadamente 0,05 mL de cultivo de caldo del día anterior del organismo de prueba al tubo con plasma. Con un asa bacteriológica estéril, también se pueden emulsionar a conciencia 2 – 4 colonias (1 asa llena) de una placa de agar no inhibidor en el tubo de plasma.
- Mezclar suavemente.
- Incubar en baño María o incubadora a 35 – 37 °C durante un máximo de 4 h.
- Examinar los tubos inclinándolos periódicamente con suavidad. Evitar sacudir o agitarlos, ya que esto podría causar la desintegración del coágulo y, como consecuencia, resultados de pruebas negativos falsos o dudosos. Cualquier nivel de coagulación en un periodo de 3 – 4 h se considera resultado positivo. Muchas cepas productoras de enzimas débiles producirán una coagulación del plasma sólo después de una incubación de 24 h.
- Registrar los resultados.

Control de calidad del usuario

En el momento de uso, analizar los cultivos de control tanto positivos como negativos para comprobar el rendimiento del plasma de coagulasa, las técnicas y la metodología. Los siguientes cultivos enumerados representan el mínimo que debe utilizarse para realizar la prueba.

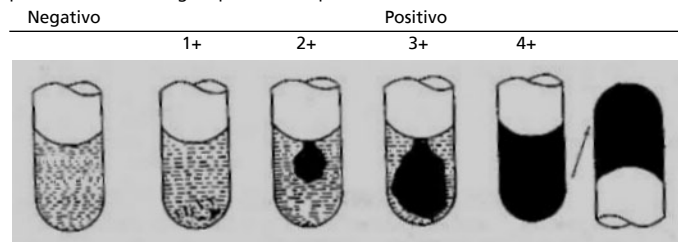
Organismo	ATCC	Reacción
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Coágulo en el tubo
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	Sin coágulo en el tubo

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de

NCCLS y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

Resultados

Cualquier grado de coagulación en **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit o **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA se considera como prueba positiva. La siguiente tabla se puede utilizar como guía para la interpretación de reacciones.



Negativo	Sin evidencia de formación de fibrina
1 + Positivo	Coágulos pequeños sin organización
2 + Positivo	Coágulos pequeños organizados
3 + Positivo	Coágulos grandes organizados
4 + Positivo	Todo el contenido del tubo se coagula y no se desliza cuando se invierte el tubo.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Algunas especies de organismos utilizan el citrato en su metabolismo y darán reacciones positivas falsas para la actividad de coagulasa. Normalmente, esto no causa problemas, dado que la prueba de coagulasa se realiza casi exclusivamente en estafilococos. Sin embargo, es posible que las bacterias que utilizan el citrato puedan contaminar los cultivos de *Staphylococcus* en los que se realiza la prueba de coagulasa. Estos cultivos contaminados, pueden dar resultados positivos falsos en una incubación prolongada, debido a la utilización de citrato⁴.
2. Cuando se verifican los resultados de la prueba de coagulasa, se debe observar los tubos una vez por hora durante las primeras 4 h de incubación. Algunas cepas de *S. aureus* producen estafilocinasa, que puede producir una lisis de los coágulos. Si no se efectúa la lectura de los tubos hasta las 24 h de incubación, pueden ocurrir resultados negativos falsos¹.
3. No utilizar el plasma si se ha formado un precipitado denso o coágulo antes de la inoculación.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO^{10,11}

El rendimiento de **Bacto** Coagulase Plasma (ahora **BBL** Coagulase Plasma) fue comparado con otras cuatro pruebas para la identificación de *Staphylococcus aureus* en un estudio realizado por Ad Luijenkijk, van Belkum, Verbrugh y Kluytmans¹⁰. Se realizó la prueba de coagulasa libre en tubo. Además, se utilizaron para identificar los aislados la prueba de coagulasa fija (agar) y tres pruebas de aglutinación de látex comerciales. De los 330 aislados de estafilococos analizados, 300 fueron de *S. aureus* y 30 fueron de especies diferentes de *S. aureus*. Todas las pruebas produjeron resultados negativos para los 30 aislados diferentes de *S. aureus* con una especificidad del 100%. En la tabla siguiente se resume la sensibilidad de cada sistema de prueba para los 300 aislados de *S. aureus*.

Prueba	MSSA* (222 aislados)		MRSA** (78 aislados)		Total (300 aislados)	
	Nº de resultados negativos falsos	Prueba de sensibilidad (%)	Nº de resultados negativos falsos	Prueba de sensibilidad (%)	Nº de resultados negativos falsos	Prueba de sensibilidad (%)
Coagulasa libre	0	100	6	92.3	6	98.0
Coagulasa fija	0	100	3	96.1	3	99.0
Prueba de aglutinación de látex Nº 1	0	100	0	100	0	100
Prueba de aglutinación de látex Nº 2	2	99.1	12	84.6	14	95.3
Prueba de aglutinación de látex Nº 3	0	100	0	100	0	100

**S. aureus* sensible a la metilicina

***S. aureus* resistente a la metilicina

En un segundo estudio llevado a cabo por McDonald y Chapin¹¹, en una prueba de coagulasa en tubo (TCT) de 2 h se comparó el rendimiento de **BBL** Coagulase Plasma con dos pruebas de aglutinación de látex comerciales para identificar *S. aureus* a partir de caldos de cultivos de sangre y sedimento obtenido de sobrenadante de frascos **BACTEC**. Se evaluaron 112 aislados clínicos de cultivo de sangre y 68 frascos de cultivo de sangre negativos sembrados con una variedad de organismos gram positivos.

En la tabla inferior se muestran los resultados de la prueba de coagulasa y las pruebas de aglutinación de látex para las muestras sembradas y las muestras clínicas.

Cultivos y organismos	N° de organismos aerobios/ N° de organismos anaerobios (total)	N° de resultados positivos					
		Directo			Sedimento		
		Prueba de Látex N° 1	Prueba de Látex N° 2	TCT	Prueba de Látex N° 1	Prueba de Látex N° 2	TCT
Sembrados							
<i>Staphylococcus aureus</i>	11/8 (19)	0	0	19	2	2	19
<i>Staphylococcus coagulasa negativos</i>	9/9 (18)	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5/5 (10)	0	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus spp.</i>	6/5 (11)	5	5	0	5	5	0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3/5 (8)	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1/1 (2)	0	0	0	0	0	0
Clínicos							
<i>Staphylococcus coagulasa negativos</i>	70/3 (73)	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	35/4 (39)	5	4	31	5	4	30

Entre los 68 frascos de cultivo de sangre sembrados, la prueba de coagulasa en tubo de 2 h que utilizó **BBL** Coagulase Plasma identificó correctamente 19 de los 19 cultivos de sangre sembrados con *S. aureus*. No se obtuvieron resultados positivos falsos con la prueba de coagulasa en tubo de 2 h. Entre las 112 muestras clínicas analizadas, la prueba de coagulasa en tubo de 2 h identificó correctamente 31 de 39 aislados de *S. aureus* directamente en el caldo de cultivo de sangre y 30 de los 39 aislados de *S. aureus* en sobrenadantes con sedimento; para los niveles de sensibilidad de 79,5 y 76,9%, respectivamente. La especificidad con ambos aislados (sembrados y clínicos) fue del 100% de la prueba de coagulasa en tubo.

DISPONIBILIDAD

N° de cat. Descripción

- 240658 **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 3,0 mL
 240661 **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 15,0 mL
 240679 **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit, 10 X 25,0 mL
 240827 **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 3,0 mL
 240826 **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 15,0 mL
 240680 **BBL** Coagulase Plasma, Rabbit with EDTA, 10 X 25,0 mL

REFERENCIAS: Ver "Referencias" en el texto en inglés.



Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare



Use by / Spotřebujte do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimekäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Použite do / Usar antes de / Använd före / YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned) / JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) / AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) / VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) / AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) / JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) / EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) / ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) / AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) / MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mensesio pabaiga) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) / AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiaca) / aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden)



Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalogové číslo / Número de catálogo



Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autoriseret representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Representante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU



In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaite / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietais / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicínska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik



Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperatuurlimiet / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning



Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (partii)



Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen



Contains sufficient for <n> tests / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> test / Voldoende voor <n> tests / Küllaldane <n> testide jaoks / Sisältöön riittävä <n> testejä varten / Contenu suffisant pour <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα <n> εξετάσεις / <n> teszthez elegendő / Contenido suficiente per <n> test / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Innholder tilstrekkelig for <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Contémo suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA
800-638-8663



BENEX Limited
Bay K 1a/d, Shannon Industrial Estate
Shannon, County Clare, Ireland
Tel: 353-61-47-29-20
Fax: 353-61-47-25-46

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

Bacto is a trademark of Difco Laboratories, Inc., a subsidiary of Becton, Dickinson and Company.

BD, BD Logo, BACTEC, BBL and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2004 BD.