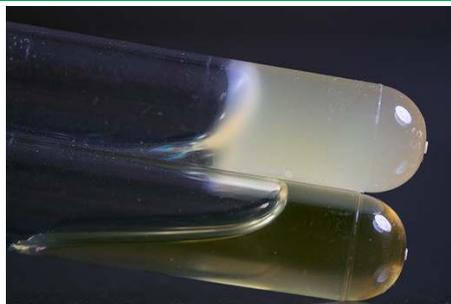


**ISTRUZIONI PER L'USO**

# COAGULASE PLASMA EDTA

**Test per l'identificazione biochimica**

 Coagulase Plasma. Dall'alto in basso: *S.aureus* (+) e *S.epidermidis* (-)

**1 - DESTINAZIONE D'USO**

 Dispositivo diagnostico *in vitro*. Per la determinazione qualitativa dell'enzima coagulasi negli Stafilococchi.

**2 – COMPOSIZIONE – CONTENUTO DEL FLACONE\***

REF 429936: Rabbit Plasma EDTA, 5.0 mL (liofilizzato)

REF 429937: Rabbit Plasma EDTA, 2.5 mL (liofilizzato)

REF 429938: Rabbit Plasma EDTA, 1.0 mL (liofilizzato)

\*Il contenuto del flacone può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

**3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO**

 Il test della coagulasi è stato sviluppato sulla base delle osservazioni agli inizi del 900, che alcuni Stafilococchi erano in grado di coagulare il plasma dell'oca<sup>1</sup>, dell'uomo, del cavallo e della pecora<sup>2</sup>. Oggi, il metodo ampiamente utilizzato e generalmente accettato per differenziare gli stafilococchi associati a infezioni acute o tossinfezioni alimentari, è la determinazione della produzione di coagulasi extracellulare mediante il test della coagulasi in provetta.<sup>3,4</sup> In base alla loro capacità di coagulare il plasma, gli stafilococchi possono essere suddivisi in coagulasi-positivi o coagulasi-negativi.

 L'enzima coagulasi agisce su un "coagulase reacting factor" presente nel plasma di coniglio, producendo una sostanza simile alla trombina che attiva il fibrinogeno per formare fibrina, provocando la coagulazione del plasma. La coagulasi esiste in due forme: "coagulasi legata" (o clumping factor) che è legata alla parete cellulare e "coagulasi libera" che viene liberata dalla parete cellulare. La coagulasi legata viene rilevata dal test della coagulasi su vetrino, mentre sia la coagulasi libera che quella legata vengono rilevate dal test della coagulasi in provetta.<sup>5</sup>

 Coagulase Plasma EDTA, nei diversi formati proposti, è indicato per l'esecuzione del test in provetta. Il plasma di coniglio viene inoculato con la crescita di colonie isolate ed esaminato per la presenza di un gel o coagulo a 4 ore e, se negativo, riesaminato a 24 ore. Oltre allo *Staphylococcus aureus*, anche altre specie, non comuni nelle infezioni umane, tra cui *Staphylococcus schleiferi* e *Staphylococcus intermedius*, possono dare risultati positivi nel test della coagulasi in provetta.<sup>3,5</sup>

 Per il test della coagulasi in provetta, il plasma EDTA è superiore al plasma citrato, poiché i batteri che sono in grado di utilizzare il citrato per la crescita (*Pseudomonas* spp., *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecalis* e ceppi di *Streptococcus*) coagulano il plasma raccolto con sodio citrato.<sup>5</sup>
**4 – METODO DI PREPARAZIONE**

REF 429936: ricostituire il contenuto della fiala con 15 mL di acqua distillata sterile, con le precauzioni dell'asepsi.

REF 429937: ricostituire il contenuto della fiala con 7,5 mL di acqua distillata sterile, con le precauzioni dell'asepsi.

REF 429938: ricostituire il contenuto della fiala con 3 mL di acqua distillata sterile, con le precauzioni dell'asepsi.

Agitare su vortex per circa 30 secondi per sciogliere completamente. Il plasma di coniglio risulta così diluito 1:3.

**5- CARATTERISTICHE DEL TERRENO**

Aspetto della liofila

pastiglia compatta

Aspetto del plasma dopo ricostituzione

soluzione opalescente da giallastra a rosa

**6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONI**

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Coagulase Plasma EDTA	Reattivo per l'identificazione	429936	4 flaconcini con 5 mL di plasma di coniglio → (4 x 15 mL: 120 tests)
Coagulase Plasma EDTA	Reattivo per l'identificazione	429937	4 flaconcini con 2,5 mL di plasma di coniglio → (4 x 7,5 mL: 60 tests)
Coagulase Plasma EDTA	Reattivo per l'identificazione	429938	10 flaconcini con 1 mL di plasma di coniglio → (10 x 3 mL: 60 tests)

**7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI**

Piccole provette sterili, bagnomaria o incubatore, anse sterili, pipette sterili, acqua purificata sterile, terreni di coltura ausiliari e reagenti per l'identificazione delle colonie.

**8 - CAMPIONI**

In microbiologia clinica e non clinica, i campioni sono costituiti da colonie sospette di Stafilococchi, coltivate su piastra. Il prodotto non può essere utilizzato per l'analisi diretta di campioni clinici.

**9 - PROCEDURA DELL'ANALISI**

Dalla superficie di ciascuna colonia selezionata, rimuovere un inoculo con un'ansa sterile e trasferirlo in una provetta di Brain Heart Infusion Broth. Incubare il brodo a 35-37°C per 18-24 ore.

Aggiungere aseptivamente 0,5 mL di ciascuna brodo-coltura a 0,5 mL di Coagulase Plasma EDTA in piccole provette sterili e incubare a 35-37°C.

**10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

Osservare ogni ora nelle prime 4 ore di incubazione per la coagulazione inclinando delicatamente la provetta. Non agitare.





Se entro 4 ore non si osservano coaguli, rileggere la provetta dopo 18-24 ore di incubazione a 35-37°C. Qualsiasi grado di coagulazione rappresenta un test positivo. Un precipitato flocculante o fibroso non è un vero coagulo e deve essere riportato come negativo.

### 11 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati i ceppi utili per il controllo di qualità.

Controllo positivo: *S.aureus* ATCC 25923

Controllo negativo: *S.epidermidis* ATCC 12228

ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

### 12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di Coagulase Plasma EDTA viene testato con ceppi positivi e negativi.

Ceppi coagulasi positivi (letture dopo 2, 4, 24 ore di incubazione a 35-37°C): *S.aureus* ATCC 25923, *S.aureus* ATCC 6538, *S.aureus* ATCC 33862, *S.aureus* MR ATCC 33592,

Ceppi coagulasi negativi (letture dopo 24 ore di incubazione a 35-37°C): *S.epidermidis* ATCC 12228, *S.xylosus* ATCC 35033, *S.saprophyticus* ATCC 15305, *S.sciuri* CB-BX 16.1, *E.faecalis* ATCC 19433

Tutti i ceppi testati danno una reazione della coagulasi in accordo alle specifiche.

### 13 - LIMITI DEL METODO

- Alcune specie di stafilococchi diverse da *S. aureus* (*S.intermedius*, *S.hycus*, *S.schleiferi* subsp. *coagulans*, *S.delphini*, *S.lutrae*, *S.pseudointermedius*, *S.argenteus*) possono dare una reazione positiva al test della coagulasi.<sup>3-6</sup>
- Per il test deve essere utilizzata una coltura pura poiché i contaminanti possono dare falsi positivi dopo un'incubazione prolungata.<sup>5</sup>
- Non agitare eccessivamente la provetta del test poiché ciò può causare la dissoluzione del coagulo dando anche un risultato falso negativo.<sup>5</sup>
- Prestare attenzione quando si utilizza il test della coagulasi in provetta direttamente sulle emocolture presunte positive, anche se recenti risultati riportati in letteratura non indicano alcuna perdita di sensibilità quando il test della coagulasi in provetta viene eseguito direttamente sulle emocolture non centrifugate.<sup>7,8</sup>
- L'osservazione della coagulazione deve essere effettuata entro le prime 4 ore poiché alcuni stafilococchi producono fibrinolisinasi, che può lisare i coaguli all'inizio del periodo di incubazione.<sup>9,10</sup> Se non si osserva alcuna coagulazione, tuttavia, la provetta deve essere re-incubata per 18-24 ore e osservata nuovamente per la coagulazione.
- Si possono registrare falsi negativi se sono impiegate brodculture più vecchie di 18-24 ore o se la crescita è scarsa.
- Il test della coagulasi su vetrino ha una sensibilità inferiore rispetto al test in provetta poiché rileva solo la coagulasi legata.
- Le colonie microbiche devono essere sottoposte ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa e, se pertinente, sottoposte al test di sensibilità agli antibiotici.
- Il prodotto qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati di altri test diagnostici.

### 14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il prodotto qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente.
- Il prodotto qui descritto contiene materiali di origine animale. I controlli ante e post mortem degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni di sicurezza specifiche per i prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it) il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il reattivo, il terreno di coltura e con i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il plasma non utilizzato e le provette seminate con i ceppi microbici e sterilizzate, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it).
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

### 15 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza. Il flacone aperto e ricostituito in condizioni asettiche può essere conservato a 2-8°C per un massimo di 5 giorni o suddiviso in aliquote da 0,5 mL e conservato a -20°C per 14 giorni. Portare il plasma a temperatura ambiente prima dell'uso. Non utilizzare il plasma se è coagulato dopo la reidratazione, se è contaminato o se sono presenti altri segni di deterioramento (precipitato, colore atipico).

### 16 - BIBLIOGRAFIA

1. Loeb L. The influence of certain bacteria on the coagulation of the blood. J med Res 1903; 10: 407
2. Much H. Uber eine Vorstufe des Fibrinfermentes in Kulturen von Staphylokokkus aureus. Biochem. Z.1908;14: 143





3. Becker K, Skov R, VonEiff C. Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci: Bacteriology. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019
4. ISO 6888-1, 2021 - Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) —Part 1:Method using Baird-Parker agar medium. Second edition, 2021-08
5. Public Health England. (2018). UK Standards for Microbiology Investigations: Coagulase test test Procedures TP 10, Issue no: 6, Issue date: 01.08.18
6. Staphylococcus argenteus: Another Coagulase Positive Staphylococcus. May 28, 202, Podcast. American Society for Microbiology.
7. Davis TE, Fuller DD, Aeschleman EC. Rapid, direct identification of Staphylococcus aureus and Streptococcus pneumoniae from blood cultures using commercial immunologic kits and modified conventional tests. Diagn Microbiol Infect Dis 1992;15:295-300. B, II
8. McDonald CL, Chapin K. Rapid identification of Staphylococcus aureus from blood culture bottles by a classic 2-hour tube coagulase test. J Clin Microbiol 1995;33:50-2. B, II
9. Yrios JW. Comparison of rabbit and pig plasma in the tube coagulase test. JClinMicrobiol 1977;5:221-4. B, II
10. Atlas R, Snyder J. Reagents, Stains and Media: Bacteriology. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019

**TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI**

<b>REF</b> or REF Numero di catalogo	<b>LOT</b> Numero di lotto	<b>IVD</b> Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	Lato superiore	
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Utilizzare entro	Proteggere dalla luce	Fragile, maneggi man con cura

**CRONOLOGIA DELLE REVISIONI**

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 1	Aggiornamento del layout e del contenuto	10/2021
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 2	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

