# PLASMA DE CONEJO PARA PRUEBA DE COAGULASA CON EDTA

***Presentación: Caja con 6 frascos de liofilizado de 3mL.***
***Catalogo: 642706***

***NO SE USE EN HUMANOS, SOLO PARA SU USO EN LABORATORIOS DE INVESTIGACION CIENTIFICA:***

**Uso**

Plasma de conejo para prueba de coagulasa de Bio eVolition ®es un liofilizado estandarizado de plasma de conejo con EDTA para la detección de la enzima coagulasa producida por *Staphylococcus aureus*.

**Resumen y explicación de la prueba**

***Detección de coagulasa***

La diferenciación y determinación de *S.aureus* coagulasa-positivo de las especies coagulasa-negativo, incluyendo *S.epidermidis* y *S.saprophyticus*, es crucial no solamente a que *S. aureus* es considerado un microorganismo de alto riesgo de salud debido a la importancia e incidencia asociada con septicemia, endocarditis bacteriana, y su frecuencia en infecciones del tracto urinario.

La identificación de estafilococos se basa en el examen microscópico, morfología colonial y sus características bioquímicas, la detección de coagulasa es uno de los criterios más importantes para la diferenciación de especies.

La habilidad de *Sthapylococcus aureus* para producir coagulasa, enzima capaz de formar un coagulo a partir de plasma, fue reportado por Loeb en 1903, desde esas primeras pruebas muchos investigadores han tratado de correlacionar la producción de coagulasa con la virulencia del *Staphylococcus aureus*. Chapman, Berens, Peters and Curcio, en un estudio de producción de coagulasa y hemolisinas por parte de estafilococos mostraron que las cepas que producen coagulasa son virulentas sin dejar de considerar sus propiedades hemolíticas y cromogénicas.

***Principio del procedimiento***

*Staphylococcus aureus* produce dos tipos de coagulasa la libre y la unida. La libre es una enzima extracelular producida cuando el microorganismo es cultivado en caldo, la coagulasa unida también conocida como factor aglutinante se mantiene unida a la pared celular del microorganismo.

Para realizar la prueba en tubo, *S. aureus* debe emplearse proveniente de un cultivo no mayor de 24 horas, en caldo, o de una placa de agar de medio no inhibitorio, adicionar a la coagulasa plasma con EDTA Bio eVolition ® recién hidratada e incubar a 37°C la formación de un coagulo indica la producción de coagulasa. La prueba en tubo es la más frecuentemente utilizada, debido a su precisión y a la habilidad para detectar tanto coagulasa libre como unida. La prueba en laminilla se desarrolla añadiendo una alta suspensión de células seguida de la adición del plasma y observando la presencia o ausencia de coagulo, esta última no se usa con frecuencia debido a que es menos precisa y está sujeta a reacciones "falsas-negativas", por lo que debe ser confirmada por la prueba en tubo. La prueba en laminilla solo detecta la coagulasa unida y no es capaz de evidenciar la coagulasa libre.

**Preparación de la muestra**

Detección de coagulasa

1. Determinar que el cultivo a emplear es puro y tiene las características de *Staphylococcus aureus*.

   Cocos Gram positivos agrupados en forma de racimos, catalasa positivos, colonias opacas con zona de hemólisis en medio de agar sangre y amarillo a naranja en medio de agar manitol.

Reconstituir el Plasma para prueba de Coagulasa Bio eVolition ® liofilizado con 3 mL de agua purificada estéril, coloque 0.5 mL en un tubo de ensayo estéril (13X100 mm) y continúe con los siguientes pasos (el Plasma para prueba de Coagulasa Bio eVolition ® reconstituido no usado conservarlo como se explica en la parte de almacenamiento o caducidad:

A partir de una caja de Petri con agar sangre o manitol sembrada con cultivo puro de *Staphilococcus* tomar una asada de 2 a 4 colonias y transferir al tubo que contiene el Plasma para prueba de Coagulasa Bio eVolition ® reconstituido. O bien:

Adicionar 0.5 mL de un caldo de cultivo puro de 18 a 24 horas de incubación a 37°C al tubo que contiene el Plasma para prueba de Coagulasa Bio eVolition ® reconstituido.

**Reactivos**

El Plasma para prueba de Coagulasa Bio eVolition ®, es plasma de conejo liofilizado, adicionado de Ácido Etilen Diamino Tetra Acético (EDTA) que actúa como anticoagulante. El EDTA no es utilizado por bacterias que utilizan citrato de sodio (*Klebsiella-Enterobacter*, *Pseudomonas*) y evita reacciones "falsas positivas".

**Rehidratación**

Para la rehidratación del Plasma para prueba de Coagulasa Bio eVolition ®, añadir 3 mL de agua purificada estéril, mezclar suavemente por rotación del vial. Si después de la rehidratación y mezclado el plasma no se ve completamente soluble, o se detecta la presencia de grumos de fibrina, deseche el plasma y determine el pH del agua utilizada, Un pH ácido del agua puede ocasionar falta de solubilidad del reactivo.

**Almacenamiento**

Almacenar el Plasma para prueba de Coagulasa Bio eVolition ® liofilizado a 4°C.

El Plasma para prueba de Coagulasa Bio eVolition ® reconstituido no usado, se debe fraccionar en alícuotas de 0.5mL y congelar rápidamente para conservar a menos 20°C.

**Caducidad**

El Plasma para prueba de Coagulasa Bio eVolition ® liofilizado y sellado tiene una vigencia de 2 años cuando se almacena a 4°C, cuando hay variaciones de temperatura la vigencia es menor.

Plasma para prueba de Coagulasa Bio eVolition ®, reconstituido, conservado a 4°C no contaminado se puede conservar a 4°C durante 15 días.

Plasma para prueba de Coagulasa Bio eVolition ® conservado a menos 20°C es estable durante 90 días, siempre que no exceda la fecha de caducidad.

2. Suspender el cultivo con rotación suave, el tubo que contiene el microorganismo y el Plasma para prueba de Coagulasa Bio eVolition ®, e incubar a 37°C durante 4 horas, observando la formación de coagulo cada 30 minutos.

   Cuando se revisa no agitar ni rotar el tubo, inclinar suavemente y observar la formación del coagulo (Figura 1).

   Si el coagulo no es visible a las 4 horas, continuar la incubación durante la noche, hasta completar 24 horas.

**Interpretación de resultados**

**Producción de Coagulasa (Prueba Positiva):**

Formación de coagulo o red de fibrina:

Completo: coagulo en todo el Plasma para prueba de Coagulasa Bio eVolition ®

Parcial: el coagulo no se extiende a través de todo el fluido del Plasma para prueba de Coagulasa Bio eVolition ® (Figura 2).

Resultado: *Staphylococcus aureus*, cepa virulenta.

**Prueba negativa (Sin producción de coagulasa):**

No hay formación de coagulo (Figura 3) la suspensión permanece uniforme y fluida.

*Staphylococcus epidermidis*, *S. saprophyticus* u otro microorganismo.

Coscomate No 49 Col. Toriello Guerra C.P. 14050 México D.F. Tel. 5666-8093 con 3 Líneas Fax 5665-3357
e mail maplica@prodigy.net.mx http://www.maplica.com

**Control de Calidad**
Para validar resultados es recomendable usar, un control negativo conocido (*Staphilococcus epidermidis* ATCC 12228) y un control positivo (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) en paralelo con el cultivo a probar.

**Limitaciones**

Cuando se desarrolla la prueba de Coagulasa , el resultado debe verificarse cada 30 minutos y hasta completar cuatro de incubación. Algunas cepas de *S. aureus* producen fibrolisina la cual puede destruir el coagulo, sobre todo si el resultado es observado hasta las 24 horas de incubación y dar un resultado falso negativo, debido a la actividad de esta enzima.

Fig. 1, observación coagulo

Fig. 3 negativo

Fig. 2 coagulo parcial

**Bibliografía**


1. Subcommittee on taxonomy of staphylococcus and micrococcus. Int. Bu. Bact. Nomen. and Taxon, 15:109-110. 1965
2. Diag. Med, May-June 91-93, 1983
3. Bergey's manual of determ. bact. 8th Ed, Williams and Wilkins, Baltimore:484, 1974.
4. Manual of clinical. Microbiology , 8th Ed, ASM:84, 2003.
5. J. Path. Bact, 45:295-303, 1937.
6. J. Bact, 35:311-333, 1938
7. J. Path. Bact, 50:83-88, 1940.
8. Can. J. Micro, 2:703-714, 1956.
9. Diagnostics Proc, APHA, 6th Ed, 596-597, 1981.
10. Med. Res, 10:407-419, 1903.
11. Znetraibl. f. Baict. Labt orig, 99:74, 1926.
12. Applied Micro, 23:725-733, 1972.
13. Antonie Van Leeuwenhook, 44:15, 1978
14. Biochem. test for ID of med. import. bact, 2nd Ed, Williams and Wilkins, Baltimore, 1980.
15. J. Bact, 47:211, 1944.



Coscomate No 49 Col. Toriello Guerra C.P. 14050 México D.F. Tel. 5666-8093 con 3 Líneas Fax 5665-3357
e mail maplica@prodigy.net.mx http://www.maplica.com