

Phadebact® Staph Aureus Test

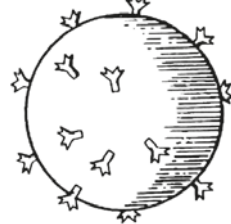
53-1151-02, Mar-12

Mode d'emploi

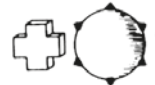
MKL Diagnostics AB
Kung Hans Väg 3
SE-192 68 Sollentuna
Sweden



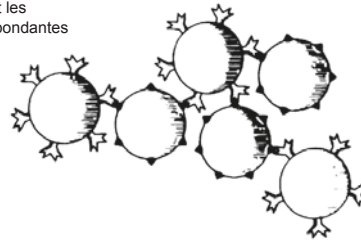
Particules de latex sensibilisées
avec des protéines plasmatisques
humaines et porcines



Microorganismes possédant les
protéines de fixation correspondantes



Agglutination



BUT DU DOSAGE

Phadebact® Staph Aureus Test est utilisé pour détecter la coagulase (clumping factor) et/ou la protéine A, caractéristiques du *Staphylococcus aureus* obtenu de cultures primaires. Le réactif Phadebact® Staph Aureus réagit avec les deux molécules. Chaque coffret de Phadebact® Staph Aureus contient assez de réactif pour 100, 200 ou 400 déterminations en fonction du conditionnement.

RESUME ET INTERET DU TEST

Staphylococcus aureus est une espèce bactérienne pathogène. Cette bactérie est fréquemment rencontrée sur la peau, les narines et les membranes muqueuses. Une atteinte de ces sites leur fournit une opportunité pour provoquer une infection. *S. aureus* est responsable de la plupart des infections superficielles purulentes, d'infections alimentaires et est aussi la cause d'infections nosocomiales (1). La présence de la coagulase et de la protéine A permet l'identification d'au moins 98% des souches de cette espèce. La coagulase peut soit être liée (clumping factor) au Staphylocoque, soit sous forme d'une enzyme libre et transforme le fibrinogène en caillot. Un milieu sélectif a été décrit pour la croissance des Staphylocoques à coagulase positive (2). Par ailleurs, différents milieux ont été décrits pour la détection d'autres caractéristiques des Staphylocoques pathogènes (3). La plupart des milieux décrits nécessitent plusieurs heures de tests pour obtenir un résultat. Indépendamment de la coagulase, la protéine A est un constituant de la paroi cellulaire du *S. aureus* qui se combine avec le fragment Fc de la plupart des immunoglobulines IgG et fournit un autre marqueur (4). Par rapport aux procédures longues de culture bactérienne, le test Phadebact® Staph Aureus fournit une solution alternative rapide, adaptée et précise. Les tests rapides d'agglutination sur lame se sont montrés aussi fiables que la recherche de coagulase en tube dans la plupart des cas (5).

PRINCIPE DU TEST

Les particules rouges de latex utilisées pour le test Phadebact® Staph Aureus sont sensibilisées avec des concentrations spécifiques de protéines plasmatisques humaines et porcines. Quand de la coagulase et/ou de la protéine A sont présentes dans la culture à un niveau détectable, elles réagissent avec les particules sensibilisées pour produire une agglutination visible, qui constitue un résultat positif.

REACTIFS

Phadebact® Staph Aureus existe en conditionnement pour 100, 200 et 400 déterminations. Les réactifs sont colorés en rouge pour faciliter l'interprétation des résultats.

Composants du test

Phadebact® Staph Aureus 100 Test

- Phadebact® Staph Aureus réactif latex: 1 flacon
Particules rouges de latex recouvertes de protéines humaines et porcines en suspension dans un tampon contenant un conservateur.
- Phadebact® Staph Aureus contrôle positif: 1 flacon
S. aureus (ATCC 25923) non viable dans un tampon contenant un conservateur.
- Phadebact® Staph Aureus contrôle négatif: 1 flacon
S. epidermidis (CDC 3258) non viable dans un tampon contenant un conservateur.

Phadebact® Staph Aureus 100 Test Reagent

- Phadebact® Staph Aureus réactif latex: 1 flacon
Particules rouges de latex recouvertes de protéines humaines et porcines en suspension dans un tampon contenant un conservateur.

Phadebact® Staph Aureus 200 Test

- Phadebact® Staph Aureus réactif latex: 2 flacons
Particules rouges de latex recouvertes de protéines humaines et porcines en suspension dans un tampon contenant un conservateur.
- Phadebact® Staph Aureus contrôle positif: 1 flacon
S. aureus (ATCC 25923) non viable dans un tampon contenant un conservateur.
- Phadebact® Staph Aureus contrôle négatif: 1 flacon
S. epidermidis (CDC 3258) non viable dans un tampon contenant un conservateur.

Phadebact® Staph Aureus 400 Test

- Phadebact® Staph Aureus réactif latex: 4 flacons
Particules rouges de latex recouvertes de protéines humaines et porcines en suspension dans un tampon contenant un conservateur.

PRETS A L'EMPLOI

Autres composants

- Compte-gouttes
- Lames jetables
- Mode d'emploi

Note: Phadebact® Staph Aureus 400 Test ne contient que le réactif latex (4 flacons).

Phadebact® Staph Aureus 100 Test Reagent ne contient que le réactif latex (1 flacon)

Précaution

Pour usage *in vitro* uniquement.

Se référer aux procédures de décontamination comme celles recommandée par le CDC.

Attention! Les réactifs contiennent comme conservateur de l'azide de sodium (NaN₃) qui peut réagir avec le plomb et le cuivre des tuyauteries pour former des azides métalliques fortement explosifs. Au moment d'éliminer les réactifs, rincer abondamment pour éviter la formation de ces composés explosifs. Les composés sériques humains se sont révélés négatifs pour les anticorps anti-HIV-1, anti-HIV-2 et anti-HCV et pour les antigènes HBs. Cela ne certifie pas l'absence de ces microorganismes. Les contrôles se sont révélés négatifs pour la croissance des Staphylocoques.

LES RÉACTIFS DOIVENT ÊTRE MANIPULÉS COMME DES MATIÈRES POTENTIELLEMENT INFECTÉES.

Préparation des réactifs

Les réactifs sont PRETS A L'EMPLOI.

Conservation

La date de péremption est indiquée sur l'étiquette extérieure et sur les étiquettes des flacons. La température recommandée pour la conservation de la trousse est de 2-8°C. Ne pas congeler les réactifs.

RECUEIL ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Se référer à un manuel standard de microbiologie pour ce qui concerne le recueil et la manipulation des échantillons. Une culture de 18 heures sur boîte de Pétri fournit des colonies fraîches de taille suffisante (environ 2 mm). Prélever la colonie avec une anse stérile. Si on suspecte une contamination de la culture, il est préférable de réaliser une subculture en milieu nutritif ou en gélose au sang de mouton. Procéder ensuite comme pour une culture primaire. Réaliser une coloration de Gram de la colonie pour confirmer le caractère Gram-positif et la morphologie de la bactérie.

METHODE

Matériel fourni

Voir REACTIFS.

Matériel nécessaire mais non fourni

- Culture primaire
- Anses d'inoculation
- Chronomètre indiquant les minutes et/ou les secondes

Paramètres du test

Température de réaction	température ambiante
Volume de réactif Staph Aureus	une goutte
Volume des contrôles	une goutte
Temps de réaction	60 secondes ou moins
	10 secondes d'homogénéisation
	50 secondes d'agitation

Préparation des échantillons

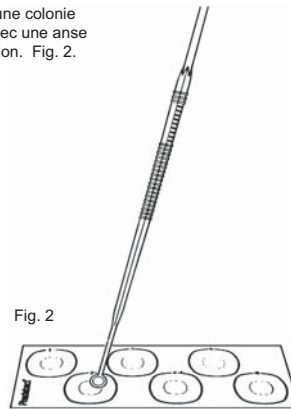
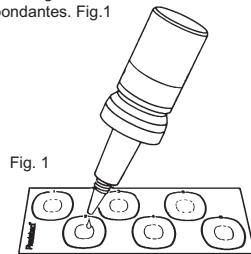
Se référer à un manuel standard de microbiologie pour ce qui concerne la préparation des cultures primaires.

Procédé du test

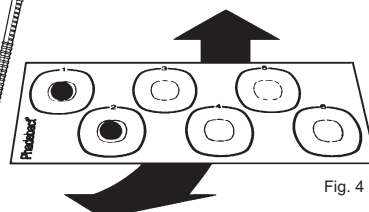
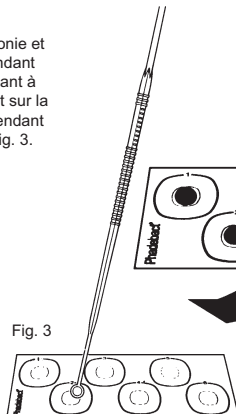
Note! Les réactifs doivent être à température ambiante au moment de leur utilisation. Homogénéiser les réactifs en les agitant vivement avant de les utiliser.

Noter chaque zone de réaction à utiliser. Inclure une zone pour le contrôle positif et une zone pour le contrôle négatif. Déposer une goutte de latex sur chaque zone de réaction. Puis déposer une goutte de contrôle positif et négatif sur les zones correspondantes. Fig.1

Prélever une colonie fraîche avec une anse d'inoculation. Fig. 2.



Homogénéiser la colonie et la goutte de latex pendant 10 secondes, en veillant à ne pas frotter trop fort sur la surface de la lame pendant l'homogénéisation. Fig. 3.



Agiter la lame en l'inclinant à 45° pour mélanger le contenu de chaque zone de réaction. Quand une agglutination évidente apparaît dans les 60 secondes suivant le mélange initial, le résultat est positif. Fig. 4.

Stabilité du mélange réactionnel final

La réaction de agglutination est stable, mais il est préférable de lire le résultat au bout de 60 secondes tant que le mélange est encore humide (il y a risque d'évaporation produisant l'assèchement des réactifs, qui peut conduire à une mauvaise interprétation des résultats).

Calibration

Aucune calibration n'est nécessaire.

Contrôle de qualité

Contrôle positif et négatif

Un flacon de contrôle positif et négatif est fourni avec les coffrets de 100 et 200 déterminations (pas de Phadebact® Staph Aureus 100 Test Reagent).

Contrôle qualité avec les contrôles positif et négatif :

1. Déposer une goutte de réactif latex sur deux zones de réaction sur la carte jetable.
2. Déposer une goutte de contrôle positif sur une des zones et une goutte de contrôle négatif sur l'autre zone.
3. Homogénéiser le contenu de chaque zone avec une anse d'inoculation jetable pendant 10 secondes. Changer d'anse entre les deux réactions.
4. Agiter la carte en l'inclinant à 45° pour mélanger le contenu de chaque zone de réaction pendant 50 secondes.
5. Pendant l'agitation, observer l'aspect des deux zones.
6. Le contrôle positif doit montrer une agglutination évidente. Le contrôle négatif ne doit pas produire d'agglutination pendant les 60 secondes de la réaction.
7. Si le résultat des contrôles n'est pas celui escompté, avertir votre distributeur des produits MKL Diagnostics AB.
8. La procédure de contrôle qualité doit être réalisée aussi souvent que nécessaire en fonction des besoins du laboratoire.

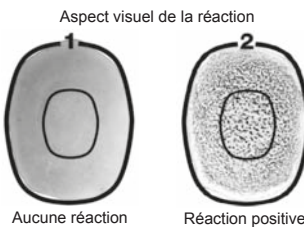
Bonnes pratiques de laboratoire à respecter:

1. Respecter strictement les instructions de cette notice.
2. Laisser les réactifs se stabiliser à température ambiante avant de les utiliser.
3. Remettre en suspension les réactifs avant de les utiliser.
4. Ne pas réutiliser une zone de réaction.
5. Utiliser une anse d'inoculation neuve pour chaque prélèvement.
6. Respecter les procédures appropriées de microbiologie pour la manipulation et l'élimination des matériels.
7. Remettre les compte-gouttes dans les flacons appropriés.
8. Il est conseillé d'utiliser des boîtes de Pétri inoculées avec des souches de référence de *S. aureus* (ex: ATCC 25923) et *S. epidermidis* (ex: ATCC 12228) en parallèle avec les contrôles fournis dans les coffrets de 100 et 200 déterminations. Pour le coffret de 400 déterminations et le coffret de Phadebact® Staph Aureus 100 Test Reagent, l'utilisation de souches de référence est vivement recommandée.

TECHNIQUES DU PROTOCOLE

(LES RÉACTIFS DOIVENT ÊTRE À TEMPÉRATURE AMBIANTE AU MOMENT DE LEUR UTILISATION)

1. Réaliser les étapes de contrôle qualité comme indiqué ci-dessus avant de tester des échantillons de colonies fraîches.
2. Remettre le réactif latex en suspension en agitant vivement le flacon avant usage. Tenir le flacon de latex en position verticale juste au dessus de la zone de réaction. Presser le flacon pour distribuer une goutte de réactif. Mettre une goutte de chaque échantillon à tester dans une zone différente de la carte.
3. Utiliser une anse neuve par chaque prélèvement. Tenir l'anse PERPENDICULAIRE à la surface de l'agar et toucher une colonie de 2 mm avec le bout plat de l'anse.
4. Homogénéiser la colonie avec la goutte de latex en frottant doucement la surface de la lame avec l'extrémité de l'anse à l'intérieur de la zone de réaction pendant 10 SECONDES. **NOTE!** Eviter d'endommager la carte en la frottant trop vigoureusement.
5. Éliminer l'anse dans un produit désinfectant après utilisation.
6. Pendant 50 SECONDES, incliner doucement la carte pour agiter les mélanges. Eviter que les mélanges de zones différentes ne se contaminent.
7. L'agrégation du latex rouge est instantanée avec la plupart des souches de *S. aureus*. Elle augmente souvent pendant les 50 SECONDES d'agitation de la carte si l'échantillon testé est un *S. aureus*. Noter les résultats.
8. Éliminer la carte d'agglutination dans une solution désinfectante.



RÉSULTATS

Résultat positif

Un résultat positif est constitué par une agglutination et/ou un agrégat visible, avec un éclaircissement simultané du fond de la carte dans les 60 SECONDES suivant le mélange initial du réactif latex avec l'ÉCHANTILLON patient. Malgré que l'agglutination avec *S. aureus* puisse être évidente dès le dépôt de l'ÉCHANTILLON, celle-ci augmente progressivement pendant les 50 secondes d'agitation de la carte. Quand une agglutination évidente est observée pendant ce délai, l'échantillon contient de la coagulase et/ou de la protéine A et est supposé contenir du *S. aureus*. Le latex rouge est agrégé de manière visible et laisse le fond de la carte d'une teinte rose pâle.

Résultat négatif

Un résultat négatif ne présente ni agglutination ni agrégat pendant la période de 60 secondes. Les particules de latex peuvent présenter une forme de granulation avec les Staphylocoques à coagulase négative. Généralement, un fond homogène rouge est observé pour tous les résultats négatifs. Un résultat négatif indique l'absence de coagulase et de protéine A dans l'échantillon testé.

LIMITES DU TEST

1. Les résultats peuvent être difficilement interprétables quand les colonies ont poussé sur des milieux hyper-salés, si la culture a plus de 48 heures ou si une trop grande quantité de bactéries est utilisée. Dans ces cas, la concentration en coagulase et en protéine A peut être réduite et produire un schéma faible d'agglutination, parasité par des réactions non spécifiques.
2. Des cultures anciennes doivent être mises en subculture 18 heures sur gélose au sang de mouton avant d'être testées.
3. Plusieurs subcultures successives du même échantillon de Staphylocoque peut provoquer des modifications biologiques du microorganisme et conduire à un résultat différent de celui obtenu sur l'isolat original.
4. Seules des colonies fraîches doivent être utilisées pour le test. La colonie doit être colorée au Gram pour confirmer la morphologie et le caractère Gram positif du *S. aureus*. D'autres tests, comme la production d'acide de l'échantillon sur milieu gélosé contenant des carbohydrates ou la production d'acides en condition anaérobie sur milieu mannitol peuvent être réalisés (3, 6).
5. D'autres Staphylocoques à coagulase positive comme *S. hyicus* et *S. intermedius* peuvent réagir positivement avec le latex, mais ces organismes sont rarement associés à des infections humaines. Ces espèces peuvent être différenciées par croissance sur des milieux gélosés nutritifs modifiés (7).

VALEURS ATTENDUES

Un résultat positif se produit quand une agglutination et/ou une agrégation est observée sur le latex rouge avec un ÉCHANTILLON frais dans les 60 secondes qui suivent le mélange initial. Quand l'échantillon testé contient du *S. aureus*, une agglutination progressive peut être observée pendant l'agitation de la lame jetable. Si aucune agglutination n'est observée dans les 60 secondes qui suivent le mélange initial, la coagulase et la protéine A associées au *S. aureus* ne sont pas présentes à une concentration détectable. Ceci conduit à un résultat négatif.

CARACTERISTIQUES DU TEST

Le réactif latex Phadebact® Staph Aureus a été évalué par des laboratoires indépendants sur 836 échantillons de cultures avec une suspicion de Staphylocoque (8). L'évaluation a consisté en la comparaison du système Phadebact® Staph Aureus avec la coagulation classique en tube. Les échantillons étaient soit des cultures fraîches, soit des cultures stockées, de *S. aureus* méticillino-résistants ou méticillino-sensibles et de Staphylocoques à coagulase négative. La résistance à la méticilline n'interfère pas sur la détection de la coagulase et de la protéine A. Plusieurs types de milieux de culture, comme la gélose trypto-caséine soja, la gélose chocolat, la gélose au sang de mouton ou de cheval, le milieu de Müller-Hinton et la gélose à la colistine et à l'acide nalidixique, ont été utilisés pour produire des cultures de 18 heures.

Les résultats des évaluations sont résumés ci-dessous.

		Test coagulase	
		+	-
Phadebact®	+	549	3
Staph Aureus	-	5	279

Le réactif latex Phadebact® Staph Aureus a une sensibilité de 99.1% et une spécificité de 98.9%. La couleur rouge du latex facilite la lecture de l'agrégation produite par les Staphyloques à coagulase positive.

GARANTIE

Les résultats présentés ici ont été obtenus en suivant exactement le protocole décrit. Tout changement ou modification dans ce protocole non recommandé par MKL Diagnostics AB, peut affecter les résultats, auquel cas MKL Diagnostics AB décline toute responsabilité exprimée, implicite ou établie par la loi, y compris la responsabilité impliquée par la vente ou le transport pour son utilisation. MKL Diagnostics AB dans une telle éventualité ne peut être rendue responsable des dommages indirects ou conséquences en résultant.

Références:

1. Kloos W J and Smith P B: Staphylococci, 1980. In Manual of Clinical Microbiology, 3ed, Lennette E H, Balows A, Hausler Jr W J and Truant J P, ed., ASM, Washington, D.C.
2. Finegold S M and Sweeney E E, 1961. New selective and differential medium for coagulase-positive staphylococci allowing rapid growth and stain differentiation. J. Bacteriol. 81: 636-641.
3. Kloos W E and Schleifer K H, 1975. Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. J. Clin. Microbiol. 1:82-88.
4. Forsgren A and Sjöquist J, 1967. "Protein A" from *Staphylococcus aureus*. Reaction with Rabbit Gamma-globulin. J. Immunol. 99:19-24.
5. Aldridge K E, Kogos C, Sanders C V and Marier R L, 1984. Comparison of Rapid Identification Assays for *Staphylococcus aureus*, J. Clin. Microbiol. 19:703-704.
6. Hajek V, 1976. *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals, Int. J. Syst. Bacteriol. 26:401-408.
7. Roberson, J R, Fox L A, Hancock D D and Bessor T E, 1992. Evaluation of Methods for Differentiation of Coagulase-Positive Staphylococci. J. Clin. Microbiol. 30:3217-3219.
8. Data on file: MKL Diagnostics AB.

PRODUITS

Phadebact COA System

Phadebact® Streptococcus Tests
Phadebact® Streptococcus Respiratory Test
Phadebact® Strep A Test
Phadebact® Strep B Test
Phadebact® Strep D Tests
Phadebact® Strep F Test
Phadebact® Strep Positive Controls
Phadebact® Pneumococcus Test
Phadebact® Haemophilus Test
Phadebact® GC Positive Controls
Phadebact® CSF Test
Phadebact® CSF Positive Controls
Phadebact® Extraction Solutions
Phadebact® Monoclonal GC Test
Phadebact® ETEC-LT Test
Phadebact® Salmonella Test
Phadebact® Staph Aureus

Near Patient Testing

Phadirect® Strep A
Phadirect® Rapid CRP Test

Pour d'autres langues: www.mkldiagnostics.com

For other languages: www.mkldiagnostics.com

Für andere Sprachen: www.mkldiagnostics.com

Para otros idiomas: www.mkldiagnostics.com

Per altre lingue: www.mkldiagnostics.com

Andre sprog, se venligst: www.mkldiagnostics.com

Για άλλες γλώσσες: www.mkldiagnostics.com

På andra språk: www.mkldiagnostics.com