

## Mode d'emploi

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



**MKL Diagnostics**

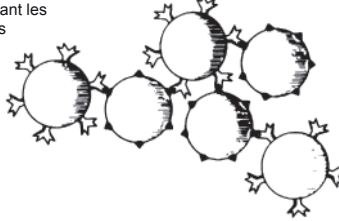
Staphylocoques recouverts d'anticorps



Microorganismes possédant les antigènes correspondants



Co-agglutination



### BUT DU DOSAGE

Phadebact® Haemophilus Test est destiné à l'identification de *Haemophilus influenzae* type b et types a, c-f.

### RESUME ET INTERET DU TEST

La plupart des infections dues à *Haemophilus influenzae* chez l'homme sont causées par le type b (1). Les organismes virulents sont presque toujours encapsulés et sont en général des parasites stricts chez l'homme et chez l'animal (2). *Haemophilus influenzae* joue un rôle étiologique important dans les infections aiguës des voies respiratoires, les méningites, les otites et les bactériémies. Les endocardites bactériennes subaiguës et les arthrites septiques sont occasionnellement causées par ces organismes. *Haemophilus influenzae* type b est responsable de plus de 95% des infections causées par *Haemophilus* chez l'enfant âgé de 6 mois à 3 ans (3). La différenciation des espèces de *Haemophilus* est communément basée sur le pouvoir hémolytique et accessoirement sur les besoins en facteurs de croissance et sur une augmentation de la croissance en atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> (5-10%). Phadebact® Haemophilus Test est une technique de co-agglutination sur lame. Elle permet une identification rapide de *H. influenzae* typable et différencie le type b des autres types a, c-f.

### PRINCIPE DU TEST

Phadebact® Haemophilus Test est un test de co-agglutination comprenant un réactif de type b composé d'anticorps spécifiques anti-type b et un réactif des types a, c, d, e et f composé d'un pool d'anticorps spécifiques anti-types, a, c, d, e et f, couplés à la protéine A du Staphylocoque (4). Cette technique de couplage permet à la fraction Fab de l'anticorps, la partie liant l'antigène, d'être dirigée vers l'extérieur et donne ainsi des conditions optimales de réaction.

Quand on mélange un échantillon contenant *H. influenzae* type b avec le réactif de type b, les antigènes spécifiques situés sur la surface cellulaire, se lient aux anticorps spécifiques correspondants, entraînant une co-agglutination visible à l'oeil nu. Aucune réaction n'est obtenue avec les réactifs concernant les types a, c-f. De même, quand on mélange un échantillon contenant *H. influenzae* du type a, c-f, avec le réactif des types a, c-f une réaction de co-agglutination se produit. Aucune réaction n'est obtenue avec le réactif de type b. Un échantillon ne contenant aucun des antigènes spécifiques des types, a, b, c, d, e ou f ne réagit avec aucun des réactifs.

### REACTIFS

Chaque trousse de Phadebact® Haemophilus Test contient suffisamment de réactifs pour effectuer 50 déterminations. Les réactifs sont colorés en bleu (bleu de méthylène) pour faciliter l'interprétation des résultats.

### Composants du test

- Réactif de type b 1 flacon  
Anticorps spécifiques de type b, obtenus chez le lapin, liés à des staphylocoques non-viables.
- Réactif des types a, c-f 1 flacon  
Pool d'antisérums spécifiques de types a, c, d, e, f, obtenus chez le lapin, liés à des Staphylocoques non-viables.

PRETS A L'EMPLOI

### Autres composants

- Compte-gouttes
- Cartes d'agglutination jetables
- Mode d'emploi

### Précaution

Pour usage *in vitro* uniquement.

**Attention!** Les réactifs contiennent comme conservateur de l'azide de sodium (NaN<sub>3</sub>) 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.

### Préparation des réactifs

Les réactifs sont PRETS A L'EMPLOI.

### Conservation

La date de péremption est indiquée sur l'étiquette extérieure et sur chaque flacon. La température recommandée pour la conservation des 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. Ceux-ci peuvent être prélevés partout où il peut y avoir des microorganismes vivants. Si l'on doit transporter l'échantillon jusqu'au laboratoire, l'écouvillon doit être immergé dans un milieu de transport, tel le milieu de Stuart et doit parvenir au laboratoire dans les 48 heures au maximum.

Aucun additif ni conservateur n'est nécessaire pendant le transport ou la culture. Les échantillons prélevés chez des patients sous antibiothérapie peuvent contenir très peu ou aucune bactérie viable.

## METHODE

### Matériel fourni

Voir REACTIFS.

### Matériel nécessaire mais non fourni

- Culture primaire
- Anses d'inoculation
- Chronomètre

### Paramètres du test

Température de réaction	Température ambiante
Volume de réactif	1 goutte
Temps de réaction	1 minute

### Préparation des échantillons

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

### Procédé du test

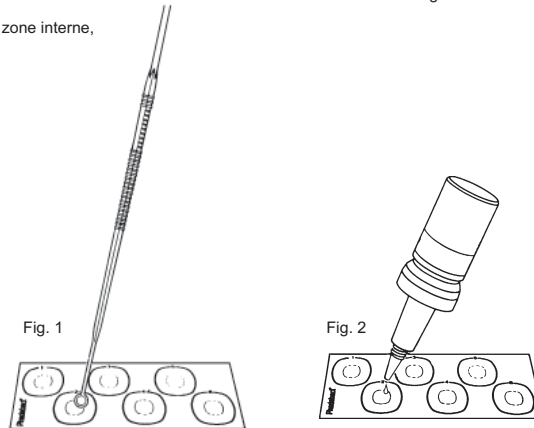
**Note!** Homogénéiser les réactifs en les agitant avant de les utiliser. Les réactifs doivent être à température ambiante au moment de leur utilisation.

Sur une lame jetable inscrire le réactif d'identification utilisé sur chaque zone de réaction.

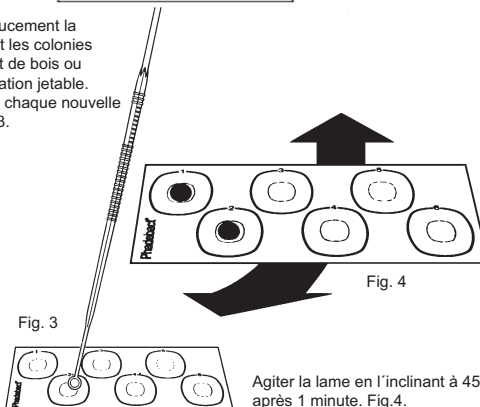
Deposer une goutte de réactif d'identification, type b et type a, c-f sur les colonies.. Fig. 2.

Etaler les colonies sur la zone interne, délimitée par le trait fin.

Fig. 1.



Homogénéiser doucement la goutte de réactif et les colonies avec une bâtonnet de bois ou une anse d'inoculation jetable. Changer d'anse à chaque nouvelle identification. Fig 3.



Agiter la lame en l'inclinant à 45° et lire le résultat après 1 minute. Fig.4.

### Test direct à partir du LCR

Pour l'identification d'*H. influenzae* directement dans le liquide céphalorachidien se référer au Phadect® CSF Test.

### Stabilité du mélange réactionnel final

La réaction de co-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

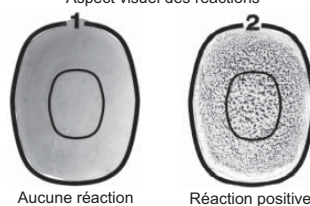
#### Contrôle positif

Comme souche de contrôle, on peut utiliser des souches déjà identifiées au laboratoire, par exemple *H. influenzae* type b ATCC10211 et *H. influenzae* types a, c-f ATCC 9006 (type a). Les souches de contrôle sont traitées de la même manière que les bactéries à identifier.

#### Contrôle négatif

L'usage en parallèle des deux réactifs pour l'identification d'un contrôle ou d'un échantillon inconnu conduit à la réalisation d'un contrôle négatif. Si par exemple la bactérie testée est *Haemophilus influenzae* type b, on observe une co-agglutination avec le réactif de type b. Le réactif des types a, c-f donne un résultat négatif (pas de réaction ou réaction très faible).

### Aspect visuel des réactions



## RESULTATS

### Résultat positif, type b

Une réaction significativement plus forte avec le réactif de type b comparée aux types a, c-f, confirme l'identification de *H. influenzae* type b.

**Résultat positif, types a, c-f**

Une réaction significativement plus forte avec le réactif des types a, c-f comparée au type b, confirme l'identification de *H. influenzae* types a, c-f.

**Résultat négatif**

Une absence de réaction ou une réaction douteuse avec les 2 réactifs suggère fortement que la bactérie testée n'est pas un *H. influenzae* typable ou que l'échantillon ne contient pas assez de matériel antigénique. Le test doit être répété avec une plus grande quantité de matériel antigénique.

**Résultat non interprétable**

S'il se produit des co-agglutinations d'égales intensité et vitesse d'apparition avec les deux réactifs le résultat n'est pas interprétable. Dans ces conditions, un autre test d'identification (biochimique) devra être utilisé.

**LIMITES DU TEST**

Les méthodes immunologiques utilisées pour l'identification de *H. influenzae* telles que la co-agglutination sont basées sur des anticorps dirigés contre les antigènes capsulaires de *H. influenzae*. Par conséquent, les *Haemophilus* ne possédant pas de capsule ne peuvent être identifiés avec ce type de méthode. Certains types de *S. pneumoniae* possédant des antigènes en commun avec *H. influenzae* type b pourront donner des réactions croisées.

**CARACTERISTIQUES DU TEST****Spécificité et sensibilité**

La spécificité et la sensibilité des réactifs *H. influenzae* de type b et des types a, c-f ont été étudiées sur un total de 859 échantillons y compris des souches de laboratoires (5).

Type b Réactif                      Sensibilité: 98.8% (Nb souches testées=83)                      Spécificité: 97.6% (Nb souches testées=776)  
Types a, c-f Réactifs                Sensibilité: 97.3% (Nb souches testées=37)                      Spécificité: 96.6% (Nb souches testées=822)

Bactérie	Nb souches testées	Nb souches agglutinant avec les 2 réactifs	Nb souches + de type b	Nb souches + de types a, c-f
<i>H. influenzae</i> , type b	83	0	82	1
<i>H. influenzae</i> , types a, c-f	37	0	1	36
<i>H. influenzae</i> , non typable	156	5	0	0
<i>H. parainfluenzae</i>	210	0	0	6
<i>H. parahaemolyticus</i>	4	0	0	0
<i>H. aphrophilus</i>	1	0	0	0
Streptococci, groupes A,B,C,G	54	9	0	0
Streptococci, groupe D	58	1	0	0
Streptococci, alpha-hémolytique	83	1	0	0
<i>S. pneumoniae</i>	93	0	0	3*
<i>N. meningitidis</i>	14	1	0	0
<i>Neisseria spp</i>	2	0	0	0
<i>Moraxella spp</i>	1	0	0	0
<i>S. aureus</i>	34	0	0	0
<i>S. epidermidis</i>	29	1	0	0

\**S. pneumoniae* types 11b, 11c et 38

**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. *Weinstein, L:* Haemophilus infections. Principles of internal medicine. Ed. Harrison, T R New York (McGraw-Hill), 1977.
2. *Murray P R, Barron E Jo, Pfaller M A, Tenover F C, Tenover R H:* Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. ASM Press, Washington DC, 1995.
3. *Weinstein L:* Type b *Haemophilus influenzae* infections in adults. N Eng J Med 4, (1970), pp 221-222.
4. *Christensen P, Kahlmeter G, Jonsson S & Kronvall G:* New method for the serological grouping of streptococci with specific antibodies absorbed to Protein-A containing staphylococci. Infect Immun 7 (1973), pp 881-885.
5. 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 Test

**Near Patient Testing**

Phadirect® Strep A  
Phadirect® Rapid CRP Test

**Pour d'autres langues: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)**

For other languages: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)

Für andere Sprachen: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)

Para otros idiomas: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)

Per altre lingue: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)

Andre sprog, se venligst: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)

Για άλλες γλώσσες: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)

På andra språk: [www.mkldiagnostics.com](http://www.mkldiagnostics.com)