

Pastorex™ Staph Plus / Kit (Identification de *Staphylococcus aureus*)

355-6356
355-6353

DOMAINE D'APPLICATION

Pastorex™ Staph Plus est un test rapide d'agglutination sur lame pour la détection simultanée du facteur d'affinité pour le fibrinogène ("Clumping factor"), de la protéine A, et des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*.

La capacité du réactif Pastorex™ Staph Plus à reconnaître les polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*, lui permet d'identifier avec une très grande sensibilité aussi bien les souches de *Staphylococcus aureus* sensibles à la pénicilline, que les souches résistantes à la pénicilline qui sont de plus en plus souvent responsables d'infections nosocomiales graves.

PRINCIPE

Le réactif Pastorex™ Staph Plus permet la recherche simultanée :

- Du facteur d'affinité pour le fibrinogène que l'on désigne sous le nom de coagulase liée ou "Clumping factor".
- De la protéine A qui possède une affinité pour le "fragment cristallisable" (Fc) des immunoglobulines gamma (IgG).
- Des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*.

Il est démontré que la présence de la protéine A et du facteur d'affinité pour le fibrinogène permettait l'identification de *Staphylococcus aureus* et pouvait être recherchée à l'aide de particules de latex sensibilisées par le fibrinogène et par des IgG.

Il a été cependant observé que certaines souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la pénicilline n'étaient pas agglutinées par ces particules de latex. Or, une étude récente de ces souches a montré qu'elles possédaient toutes du polysaccharide capsulaire. Il est donc vraisemblable que la capsule polysaccharidique, qui recouvre toute la bactérie dans certaines conditions (isolement frais, conditions de culture, clone bactérien), masque la protéine A et le facteur d'affinité pour le fibrinogène, et empêche ainsi l'agglutination des particules de latex sensibilisées seulement par le fibrinogène et les IgG.

C'est à partir de ces constatations qu'a été conçu le réactif Pastorex™ Staph Plus (brevet déposé). Ce réactif est constitué de particules de latex sensibilisées d'une part avec du fibrinogène et des IgG, et d'autre part avec

des anticorps monoclonaux spécifiques des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*.

L'association, dans un même réactif, de fibrinogène, d'IgG et d'anticorps antipolysaccharides capsulaires permet de reconnaître aussi bien les souches de *Staphylococcus aureus* peu capsulées.

En effet, dans le premier cas (primocultures, souches résistantes à la pénicilline, souches déficientes en protéine A et/ou du facteur d'affinité pour le fibrinogène) ce sont surtout les anticorps anti-polysaccharides capsulaires qui agglutinent les bactéries. Au contraire, dans le second cas (souches sensibles à la pénicilline, ou souches ayant perdu leur capsule polysaccharidique après repiquage) les bactéries sont agglutinées par le fibrinogène et les IgG.

Ainsi, en présence de souches de *Staphylococcus aureus* possédant un ou plusieurs des antigènes suivants : protéine A, facteur d'affinité pour le fibrinogène, et polysaccharides capsulaires, la suspension de Pastorex™ Staph Plus s'agglutine fortement en moins de 40 secondes en présentant de gros agglutinats aisément lisibles à l'œil nu.

PRESENTATION

- Coffret de 50 tests code 355-6356

Contenant :

- 1 flacon compte-goutte de réactif test prêt à l'emploi (1ml)

Particules de latex rouge sensibilisées par du fibrinogène, des IgG et des anticorps monoclonaux anti-polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*.

Contient 0,02% de merthiolate de sodium et 0,1% d'azote de sodium.

- 1 flacon compte-goutte de réactif témoin négatif prêt à l'emploi (1 ml).

Particules de latex sensibilisées par une solution d'albumine bovine.

Contient 0,02% de merthiolate de sodium et 0,1% d'azote de sodium.

- 15 cartes jetables

- 150 bâtonnets

- 1 notice

- Coffret de 5 x 50 tests code 355-6353

- 5 flacons compte-gouttes de réactif test prêt à l'emploi (1 ml)

PASTOREX® Staph Plus / Kit

- 5 flacons compte-gouttes de réactif témoin négatif prêt à l'emploi (1 ml)
- 60 cartes jetables
- 1 notice

CONSERVATION / VALIDITE / LOT

- Réactifs : + 2 - 8°C
- Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette en l'absence de réactif latex test et latex témoin négatif.
- Ne jamais congeler les réactifs latex.

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI

(liste non exhaustive)

- Dose pour le prélèvement des colonies bactériennes
- Bac désinfectant ou poubelle autoclavable pour jeter les cartes et bâtonnets après utilisation.
- Tout matériel courant d'un laboratoire.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Ne pas utiliser des réactifs dont la validité est périmée
- Agiter les flacons de latex avant d'effectuer un prélèvement
- Ne pas laisser les doigts sur les surfaces réactionnelles de la carte
- Tous les prélèvements doivent être considérés comme potentiellement contagieux
- Il est conseillé de travailler avec des gants à usage unique
- Jeter les ôses jetables ainsi que les cartes d'agglutination ayant servi dans une poubelle autoclavable ou un bac désinfectant.
- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire (EN ISO 7218).

PROTOCOLE

Ensemencement et incubation

- Bien homogénéiser les réactifs latex.
- Déposer une goutte de réactif latex test dans un des cercles de la carte d'agglutination.
- Déposer une goutte de réactif latex témoin négatif sur un autre cercle.
- Prélever 1 colonie de dimension moyenne avec une ôse et l'émulsionner dans la goutte de latex pendant 10 secondes.
- Procéder de la même façon pour le latex témoin négatif.
- Homogénéiser par rotation douce de la carte et observer durant 30 secondes en tenant la carte sous un éclairage normal, puis effectuer la lecture.
- Jeter le carte dans un récipient désinfectant.
- Ne pas réutiliser.

LECTURE ET INTERPRETATION

Réaction positive

Se traduit par la formation d'agrégats, uniquement avec le latex test, visible à l'œil nu sous

un éclairage normal, en moins de 40 secondes. Les agrégats de particules de latex peuvent être de taille plus ou moins importante avec un fond rose plus ou moins laiteux.

Réaction négative

Dans ce cas, la suspension ne présente pas d'agrégats et gardera son aspect laiteux avec les 2 réactifs latex test et latex témoin négatif.

Résultats non interprétables

L'indication d'un résultat non interprétable est donnée dans le cas d'une agglutination de la suspension dans les 2 réactifs latex : latex test et latex témoin négatif.

Dans ce cas, il faut rechercher la présence de la coagulase libre et de la DNase thermostable.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturelles sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	RESULTATS
<i>Staphylococcus aureus</i>	Présence d'agglutination avec le latex test absence d'agglutination avec le latex réactif témoin
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Absence d'agglutination avec le latex test absence d'agglutination avec le latex réactif témoin

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

LIMITE DE LA METHODE

Il a été rapporté que les espèces nouvellement identifiées *Staphylococcus lugdunensis* et *Staphylococcus schleiferi* possédaient un facteur d'affinité pour le fibrinogène et pouvaient donc réagir avec les tests de détection du

PASTOREX® *Staph Plus / Kit*

clumping factor en fonction des souches et du milieu d'isolement. *Staphylococcus intermedius* et *Staphylococcus hyicus* retrouvés en pathologie animale mais très rarement isolés chez l'homme, peuvent présenter une réaction positive avec les tests classiques de coagulase et peuvent donc aussi réagir avec les méthodes de détections du facteur d'affinité pour le fibrinogène.

Certains streptocoques possèdent une protéine ayant une affinité pour le fragment Fc des immunoglobulines et peuvent réagir avec le latex. Il a été rapporté d'autre part des réactions non spécifiques des techniques latex avec plusieurs espèces dont *Escherichia coli* et *Candida albicans*. Ces fausses réactions positives sont évitées si l'on prend la précaution de pratiquer sur les colonies à tester, préalablement au test latex, une coloration de Gram et une catalase.

BIBLIOGRAPHIE

- **BOUTONNIER A., NATO F., BOUVET A., LEBRUN L., AUDURIER A., MAZIE J.C., FOURNIER J.M. (1989)** : Direct testing of blood cultures for detection of the serotype 5 and 8 capsular polysaccharides of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. **27** : 989-993.
- **FRENEY J., BRUN Y., BES M., MEUGNIER H., GRIMONT F., GRIMONT P.A.D., NERVI C., FLEURETTE J. (1989)** : *Staphylococcus lugdunensis* sp. Nov. and *Staphylococcus shleiferi* sp. Nov., two species from human clinical specimens. J. Clin. Microbiol. **38** : 2110-2111.
- **FOURNIER J.M., BOUTONNIER A., BOUVET A. (1989)** : *Staphylococcus aureus* strains which are not identified by rapid agglutination methods are of capsular serotype 5. J. Clin. Microbiol. **27** : 1372-1374.
- **HOCHKEPPEL H.K., BRAUN D.G., VISCHER W., IMM A., SUTTER S., STAEUBLI U., GUGGENHEIM R., KAPLAN E.L., BOUTONNIER A., FOURNIER J.M. (1987)** : Serotyping and electron microscopy studies of *Staphylococcus aureus* clinical isolates with monoclonal antibodies to capsular polysaccharide types 5 and 8. J. Clin. Microbiol. **25** : 526-530.
- **FOURNIER J.M., BOUTONNIER A., BOUVET A., AUDURIER A., GOLDSTEIN F., PIERRE J., BURE A., LEBRUN L., HOCHKEPPEL H.K. (1987)** : Predominance of capsular polysaccharide type 5 among oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. **25** : 1932-1934.
- **FOURNIER J.M., HANNON K., MOREAU M., KARAKAWA W.W., VANN W.F. (1987)** : Isolation of type 5 capsular polysaccharide from *Staphylococcus aureus*. An. Inst. Pasteur/Microbiol. **138** : 561-567.
- **RUANE P.J., MORGAN M.A., CITRON D.M., MULLIGAN M.E. (1986)** : Failure of rapid agglutination methods to detect oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. **24** : 490-492.
- **KLOOS W.E., SCLEIFER K.H. (1986)** : *Staphylococcus* Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol 2 : 1013-1035.
- **FOURNIER J.M., VANN W.F., KARAKAWA W.W., ARBEIT R., SCHNEERSON R.S., ROBBINS J.B. (1985)** : Method for the serological typing of the capsular polysaccharides of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. **22** : 445-447.
- **JEAN PIERRE H., DARBAS H., JEANROUSSENQ A., BOYER G.** : Pathogenicity in T cases of *Staphylococcus hleiferi*, a recently described species.
- **KLOOS W.E., SMITH P.B. (1980)** : Aerobic bacteria : Staphylococci. Manual of clinical Microbiology 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington DC : 83-87.
- **ESSERTS I., RADEBOLD K. (1980)** : Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* by a latex agglutination test. J. Clin. Microbiol. : 641-643.