

DOMAINE D'APPLICATION

Le Plasma Coagulase de Lapin est un plasma de lapin standardisé et lyophilisé utilisé pour la détection qualitative de l'enzyme coagulase produite par *Staphylococcus aureus*.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DES TESTS

La différenciation entre *Staphylococcus aureus* et les espèces coagulase-négatives, y compris les germes *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus saprophyticus*, est cruciale pour deux raisons : *Staphylococcus* est un risque très important pour la santé et les autres espèces de ce germe sont de plus en plus associées aux septicémies, aux endocardites bactérienne, à la colonisation des prothèses et à l'infection des voies urinaires. L'identification des staphylocoques se base sur la morphologie coloniale, les caractéristiques culturelles et biochimiques et l'examen microscopique. Toutefois, la détection de la coagulase est le critère le plus généralisé pour différencier une espèce d'une autre.¹ L'aptitude du staphylocoque à produire la coagulase, une enzyme capable d'entraîner la coagulation plasmatique, a été mise pour la première fois en évidence par Loeb en 1903.² Dès lors, plusieurs chercheurs ont tenté d'établir un lien entre la production de coagulase et la pathogénicité des staphylocoques. Chapman, Berens, Nilson et Curcio, ont démontré dans une étude portant sur la coagulase et la production d'hémolysine par le staphylocoque, que les souches entraînant la production de coagulase sont normalement pathogènes, quelles que soient leurs propriétés hémolytiques ou chromogéniques.³ Les expériences les plus récentes ont montré que la capacité des staphylocoques à produire de la coagulase n'est pas toujours une indication fiable de leur pathogénicité⁴.

PRINCIPE DU TEST

Staphylococcus aureus produit deux types de coagulase, celle à l'état libre et celle à l'état lié. La coagulase à l'état libre est une enzyme extracellulaire produite lorsque l'organisme est cultivé dans du bouillon. La coagulase à l'état lié, également appelée facteur d'agglutination, reste attachée à la paroi cellulaire de l'organisme.

L'essai en tube est réalisé en ajoutant 2 à 4 colonies d'isolat à une éprouvette contenant le plasma coagulase réhydraté et en l'incubant à 37°C pendant une durée maximale de 4 heures. La formation d'un caillot indique la production de coagulase. L'essai en tube est la méthode la plus fréquemment utilisée en raison de sa précision supérieure provenant de sa capacité à détecter à la fois la coagulase libre et la coagulase liée.

L'essai sur lame est effectué en préparant une suspension lourde de l'isolat de test dans une goutte de sérum physiologique sur une lame en verre propre avant d'y ajouter une goutte de plasma. On agite ensuite délicatement le mélange avec une anse avant de l'examiner pour vérifier la présence éventuelle de toute agglutination. Ce test est moins précis que l'essai en tube et requiert ensuite la vérification de tous les résultats négatifs au moyen de l'essai en tube. Ce test ne détecte que la coagulase liée.

RÉACTIFS

Le Plasma Coagulase est du plasma de lapin lyophilisé auquel l'on a ajouté de l'EDTA comme anti-coagulant. L'EDTA n'est pas utilisé par les bactéries, ce qui n'entraînera pas de réactions de coagulase faussement positives par effet des bactéries qui utilisent le citrate.⁵

Le Plasma Coagulase de Lapin est fourni est vendu en plusieurs présentations :

Référence Produit	Contenu	Volume pour reconstitution	Nombre approximatif d'essais en tube
PL.850-3	10 flacons/boîte	3 ml / flacon	6 x 10
PL.850-5	10 flacons/boîte	5 ml / flacon	10 x 10
PL.850-10	Flacon individuel	10 ml / flacon	20
PL.850-20	Flacon individuel	20 ml / flacon	40
PL.850-30	Flacon individuel	30 ml / flacon	60

RECONSTITUTION

Reconstituer le plasma coagulase de lapin en ajoutant au flacon de l'eau désionisée ou distillée stérile à raison du volume indiqué sur l'étiquette du produit. Agiter délicatement le flacon d'un geste rotatif jusqu'à ce que le produit se soit entièrement dissous. Ne pas utiliser le produit s'il ne se dissout pas complètement ou qu'il contient des filaments ou caillots de fibrine.

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Eau distillée ou désionisée stérile
 Vaccinostyles
 Éprouvettes de 12 mm x 75 mm
 Pipettes stériles de 1 ml
 Bain-marie (37°C)
 Lames en verre
 Souches témoins positives et négatives (se référer au Contrôle de la qualité).

PRÉCAUTIONS

1. Le Plasma Coagulase de Lapin est réservé à l'usage diagnostique *in vitro*.
2. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit.
3. Les précautions universelles devront être observées lors de la manipulation, du traitement et de l'élimination de tous les réactifs et spécimens cliniques.
4. Le réactif contient des matières d'origine animale et devra être manipulé comme potentiellement susceptible de transporter et transmettre des maladies.
5. Les procédures, les conditions de conservation, les précautions d'emploi et les limites d'utilisation spécifiées dans cette notice doivent être respectées pour assurer la validité des tests réalisés.

STABILITÉ ET CONSERVATION

1. Conserver les flacons non ouverts et non reconstitués à une température comprise entre 2-8°C.
2. Conserver les flacons de plasma reconstitués à une température comprise entre 2-8°C, ou les aliquoter en volumes de 0,5 ml avant de les congeler rapidement et de les conserver à -20°C. Ne pas les recongeler une fois décongelés.
3. Les flacons non ouverts et non reconstitués restent stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette du produit lorsqu'ils sont stockés conformément aux instructions fournies.
4. Le plasma reconstitué reste stable pendant cinq jours s'il est stocké à une température comprise entre 2-8°C, ou pendant un maximum de 30 jours s'il a été aliquoté et conservé à -20°C, à condition toujours de ne pas dépasser la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

PRÉPARATION DES SPÉCIMENS

1. Vérifier que l'isolat de test est pur et qu'il présente les caractéristiques suivantes du *Staphylococcus aureus* :
 - Morphologie adéquate sur le milieu d'isolation.
 - Cocci à gram positif
 - Catalase positif.
2. Utiliser 2 à 4 colonies (une anse pleine) de l'organisme de test.

PROCÉDURE DE TEST
A. Essai de la coagulase en tube

1. À l'aide d'une pipette stérile de 1 ml, ajouter 0,5 ml du plasma reconstitué à une éprouvette de 12 mm x 75 mm.
2. À l'aide d'une anse stérile, émulsifier 2 à 4 colonies de l'organisme du test dans le plasma.
3. Mélanger délicatement.
4. Incuber pendant 4 heures au bain-marie à 37°C.
5. Au bout d'une heure, examiner le tube pour détecter toute formation de caillot en le penchant doucement sur le côté. En l'absence de toute formation de caillot évidente, revérifier toutes les 30 minutes jusqu'à une limite de 4 heures.
6. S'il n'y a toujours pas de caillot au bout de 4 heures d'incubation, réincuber le test à température ambiante pendant la durée restante, et vérifier la formation éventuelle de caillot au bout de 24 heures. Ne pas réincuber les tests ayant déjà produit un caillot au bout de 4 heures étant donné que certaines souches de *S. aureus* produisent une fibrinolyse susceptible de lyser les caillots au terme d'une autre incubation.
7. Relever les résultats.

B. Essai de la coagulase sur lame

(Pour détecter la coagulase liée ou le facteur d'agglutination)

1. Placer une goutte du plasma reconstitué et une goutte de sérum physiologique côte à côte sur une lame en verre sèche et propre.
2. Émulsifier une anse des colonies à tester dans la goutte de plasma et dans le sérum physiologique.
3. Observer la présence éventuelle d'agglutinations visibles pendant une minute au maximum.
4. Relever les résultats.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Utiliser des cultures de témoins positif et négatif parallèlement au test pour évaluer la validité des résultats.

Organisme	Résultats prévisibles Essai en tube	Résultats prévisibles Essai sur lame
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Formation de caillot	Agglutination
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Pas de formation de caillot	Pas d'agglutination

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS
A. Essai de la coagulase en tube

- **Résultat positif :** Observation d'un niveau de coagulation quelconque du plasma coagulase dans un délai de 24 heures.
- **Résultat négatif :** Pas de coagulation du plasma coagulase.

B. Essai de la coagulase sur lame

- **Résultat positif :** Agglutination macroscopique dans le plasma dans un délai d'une minute et pas d'agglutination dans le sérum physiologique.
- **Résultat négatif :** Pas d'agglutination ni dans le plasma, ni dans le sérum physiologique.
- **Résultat non interprétable :** Si une agglutination est observée dans les deux tests, cela indique que l'isolat s'est auto-agglutiné et qu'il n'est pas utilisable pour le test d'agglutination sur lame. Si cette situation est observée, il convient de tester d'isolat à l'aide de l'essai de la coagulase en tube.

LIMITES

1. Bien que les tests de la coagulase en tube et sur lame présentent une excellente concordance, il est possible d'obtenir des résultats faussement positifs du test de la coagulase sur lame avec d'autres espèces staphylococciques produisant un facteur d'agglutination. Cela est le cas notamment des souches de *S. lugdenensis* et de *S. schleiferi* subsp. *schleiferi*.
2. Certaines espèces d'organismes utilisent du citrate dans leur métabolisme, ce qui peut entraîner des réactions faussement positives pour l'activité de la coagulase. En principe, cela ne devrait pas poser de problèmes, étant donné que le test de la coagulase est exécuté presque exclusivement sur des staphylocoques. Toutefois, il est possible que les bactéries utilisant du citrate contaminent les cultures de staphylocoques soumises au test de coagulase, et donnent des résultats faussement positifs, suite à une incubation prolongée, en raison de la présence du citrate. La présence d'EDTA dans le plasma coagulase devrait pouvoir éviter cet inconvénient.
3. Lors de la vérification des résultats du test de la coagulase, les tubes devront être examinés toutes les 30 minutes pendant les quatre premières heures d'incubation. Certaines souches de *Staphylococcus aureus* produisent de la fibrinolysine susceptible de lyser les caillots formés préalablement. Si les tubes ne sont pas relevés dans un délai de 24 heures de l'incubation, cela peut donner lieu à une réversion sur faux négatif.

CARACTÉRISTIQUES DE LA PERFORMANCE

Le Plasma Coagulase de Lapin Pro-Lab a été évalué en utilisant 30 souches de *S. aureus* et 30 souches de staphylocoques coagulase-négatifs (2 *S. epidermidis*, 4 *S. warneri*, 2 *S. simulans*, 2 *S. hominus*, 2 *S. capitis*, 2 *S. cohnii*, 2 *S. auricularis*, 2 *S. xylosum*, 2 *S. sciuri*, 1 *S. oxford*, 3 *S. saprophyticus*, 1 *S. avium* et 5 *S. haemolyticus*). Le Plasma Coagulase de Lapin Pro-Lab a correctement identifié toutes les souches, ce qui indique que le produit fait preuve d'une sensibilité de 100 % et d'une spécificité de 100 % dans l'étude.

BIBLIOGRAPHIE

1. **Bannerman, T.L. and Peacock, S.J.** (2007). *Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci*, In Manual of Clinical Microbiology, 9th Edition. Edited by Murray, P.R., Baron, E.J., Landry, M.L., Tenover, J.C. and Tenover, M.A. American Society for Microbiology, Washington, D.C. page 390-411.
2. **Loeb, L.** (1903). The influence of certain bacteria on the coagulation of the blood. *J. Med. Res.* 10:407-419.
3. **Chapman, G.H., Berens, C., Nilson, E.L. and Curcio, L.G.** (1938). The differentiation of pathogenic *Staphylococci* from non-pathogenic types. *J. Bact.* 35:311-333.
4. **Morton, H.E. and Cohn, J.** (1972). Coagulase and deoxyribonuclease activities of *Staphylococci* isolated from clinical sources. *Applied Micro.* 23:725-733.
5. **Baird-Parker, A.C.** (1974). *Staphylococcus* In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th Edition. Edited by Williams and Wilkins. Baltimore. Page 484-489.

	= Fabricant
	= Représentant légal dans la communauté européenne
	= Dispositif médical de diagnostic in vitro
	= Limite de température
	= Consulter la notice d'utilisation

Ce mode d'emploi est une traduction professionnelle de la version anglaise d'origine. En cas d'ambiguïté ou de divergence flagrante, veuillez consulter le Service de soutien de Pro-Lab.