

ELITex Staph

Test d'agglutination au latex sur lame pour l'identification de *Staphylococcus aureus*

60 tests
Réf. 22711

160 tests
Réf. 22712

8000010-fr-2011-11



1 - BUT

ELITex Staph est un test d'agglutination sur lame permettant l'identification rapide des souches de *Staphylococcus aureus* sensibles ou résistantes à la méthicilline, à partir de primo-cultures. Un coffret permet de réaliser 60 tests ou 160 tests.

2 - INTRODUCTION

Les staphylocoques constituent un problème majeur en épidémiologie hospitalière. *Staphylococcus aureus* est la principale espèce pathogène. Elle est responsable de septicémies et d'infections nosocomiales. Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont le plus souvent des pathogènes opportunistes.

La multirésistance, fréquente chez les staphylocoques résistants à la méthicilline, pose d'importants problèmes thérapeutiques. Une différenciation rapide de *Staphylococcus aureus* des autres espèces de staphylocoques est donc nécessaire au diagnostic microbiologique.

3 - PRINCIPE

Des particules de latex rouge sont sensibilisées par 3 protéines :

- 1 Le fibrinogène qui réagit avec le facteur d'affinité pour le fibrinogène ou "Clumping Factor";
- 2 Des IgG humaines qui réagissent par le fragment Fc avec la protéine Ade de *Staphylococcus aureus*;
- 3 Des anticorps polyclonaux constitués par des IgG dirigées contre les polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus* n'exprimant ni protéine A, ni "Clumping Factor" (1, 2, 3).

La présence de *Staphylococcus aureus* entraîne l'apparition d'une agglutination massive, visible à l'œil nu. En l'absence de *Staphylococcus aureus*, on n'observe aucune agglutination.

La manipulation est simple et rapide. Les résultats sont obtenus en 1 minute.

4 - REACTIFS ET MATERIEL

Description - Coffret 60 tests (Réf. 22711)	Quantité
TEST LATEX: Flacon distributeur de 1,8 mL de latex sensibilisé	1
CONTROL LATEX: Flacon distributeur de 1,8 mL de latex non sensibilisé	1
TEST CARD: Lames à usage unique	15
STICK: Bâtonnets à usage unique	120

Description - Coffret 160 tests (Réf. 22712)	Quantité
TEST LATEX: Flacon distributeur de 2,4 mL de latex sensibilisé	2
CONTROL LATEX: Flacon distributeur de 2,4 mL de latex non sensibilisé	2
TEST CARD: Lames à usage unique	40
STICK: Bâtonnets à usage unique	320

5 - PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Les réactifs sont destinés uniquement à un diagnostic *in vitro* et doivent être manipulés par des personnes habilitées.
- Les tests sont à usage unique.
- Les réactifs contiennent des substances d'origine animale et doivent être manipulés avec les précautions d'usage
- Les prélèvements sont potentiellement infectieux. Ils doivent être manipulés avec les précautions d'usage en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Le réactif **TEST LATEX** contient des substances d'origine humaine ayant subi un dépistage négatif, concernant les anticorps anti-VIH, les anticorps anti-VHC et l'Ag Hbs, mais doit cependant être manipulé comme un produit potentiellement infectieux.
- Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (< 0,1 %).
- Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.
- Bien attendre que les réactifs s'équilibrent à température ambiante.
- Agiter soigneusement les suspensions de latex avant utilisation.
- Lors de la distribution des suspensions de latex, veiller à ce que le flacon distributeur soit parfaitement vertical. Vérifier l'absence de bulles d'air dans les gouttes, afin que les volumes délivrés soient constants. Par précaution, essuyer l'embout après utilisation.

6 - RECUEIL DES PRELEVEMENTS

Colonies de cocci à Gram positif en amas, d'aspect identique, et fraîchement isolées (18-24h à 37°C) sur gélose trypticase-soja additionnée ou non de 5 % de sang de mouton, ou Columbia ...

Le prélèvement doit se faire à partir d'une **culture pure**, conformément aux bonnes pratiques de laboratoire.

7 - CONSERVATION ET PREPARATION DES REACTIFS

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Tous les réactifs conservés à 2-8°C sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret. Ils ne doivent pas être congelés.

8 - MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Etuve calibrée à 37°C
- Récipients pour déchets contaminés

9 - MODE OPERATOIRE

Equilibrer les réactifs à température ambiante avant emploi.

- Agiter soigneusement les suspensions de latex.
- Déposer 1 goutte du réactif **TEST LATEX** sur la lame.
- A l'aide d'une pipette Pasteur ou d'une ôse ou d'un bâtonnet, prélever 2 à 5 colonies à tester et les émulsionner par rotation rapide dans la goutte de **TEST LATEX**.
- Appliquer un mouvement de rotation à la lame et observer, dans la minute, l'apparition éventuelle d'une agglutination massive (ne pas prolonger l'observation au-delà d'une minute).
- Reprendre le mode opératoire décrit ci-dessus en remplaçant le **TEST LATEX** par le **CONTROL LATEX**.

10 - LECTURE

Réaction négative : Absence d'agglutination.

Réaction positive : Agglutination massive, visible à l'œil nu, dans la minute.

11 - INTERPRETATION DES RESULTATS

TEST LATEX	CONTROL LATEX	INTERPRETATION
-	-	REACTION NEGATIVE La souche testée n'est pas <i>Staphylococcus aureus</i>
-	+	
+	-	REACTION POSITIVE La souche testée est <i>Staphylococcus aureus</i>
+	+	REACTION ININTERPRETABLE

12 - CAUSES D'ERREURS ET LIMITES DU TEST

- La plupart des souches de *Staphylococcus aureus* sensibles ou résistantes à la méthicilline réagissent en entraînant une agglutination massive en moins de 20 secondes. Certaines souches, faiblement productrices de "Clumping Factor" et / ou de protéine A peuvent donner une agglutination nette à la limite de la minute.
- La présence d'antibiotiques peut altérer les structures bactériennes ; la réalisation du test avec des colonies prélevées à partir d'un milieu pour antibiogramme doit être évitée.
- Certaines souches *Staphylococcus lugdunensis* et *Staphylococcus schleiferi* productrices de facteur d'affinité pour le fibrinogène peuvent interférer.
- Des résultats négatifs peuvent être observés si la souche *Staphylococcus* isolée ne produit ni "Clumping Factor", ni protéine A et est constituée de polysaccharides capsulaires ne correspondant pas aux anticorps polyclonaux utilisés pour la préparation du réactif.
- Lors d'un isolement primaire sur certains milieux de culture sélectifs (gélose Columbia à l'acide nalidixique etc...), certaines souches peuvent ne pas être agglutinées, il peut alors être nécessaire de pratiquer une ou plusieurs subcultures sur milieux non sélectifs. Dans ce cas, il faut associer les tests de référence utilisés pour l'identification des staphylocoques.
- Dans tous les cas, il est nécessaire d'intégrer l'ensemble des données cliniques, épidémiologiques et biologiques avant d'établir le diagnostic final.

13 - PERFORMANCES

Lors des évaluations, **ELITex Staph** s'est révélé être d'une bonne sensibilité vis-à-vis des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la Méthicilline (SAMR) produisant peu de protéine A et / ou de facteur d'affinité pour le fibrinogène. La présence d'anticorps polyclonaux permet de détecter certaines souches de SAMR non révélées par les tests de 1^{ère} génération. Ainsi, sur un total de 102 souches *S. aureus*, les résultats ont montré une sensibilité de 99,02 % et, sur un total de 108 souches de *Staphylocoques* autres que *S. aureus*, une spécificité de 99,07 %.

14 - ELIMINATION DES DECHETS

Les déchets doivent être éliminés en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur pour ce type de produit dans le pays d'utilisation. En cas de versement accidentel de latex ou de contamination de l'environnement par les colonies, nettoyer à l'aide d'eau de Javel et de papier absorbant.

15 - BIBLIOGRAPHIE

1. G. CARRET, R. BISMUTH, J.-P. FLANDROIS, M. SAULNIER - Relative value of coagulase and fibrinogen affinity for the identification of *S. aureus* - *J. Appl. Bacteriol.*, 1982, 53, 351-354.
2. J.M.FOURNIER, A.BOUTONNIER, A.BOUVET - *Staphylococcus aureus* strains which are not identified by rapid agglutination methods are of capsular serotype 5 - *Journal of Clinical Microbiology*, June 1989, 1372-1374.
3. W.-E. KLOOS, D.-W. LAMBE - *Staphylococcus - Manual of Clinical Microbiology*, 5th ed. Am. Soc. Mic., Washington D.C., 1991.



ELITech MICROBIO
Parc d'Activités du Plateau
19 Allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE
T : 04 94 88 55 00
Fax : 04 94 88 55 22

ELITex Staph

Latex slide agglutination test for the identification of *Staphylococcus aureus*

60 tests
Ref. 22711

160 tests
Ref. 22712

8000010-en-2011-11



1 - AIM

ELITex Staph is a slide agglutination test for the rapid identification of methicillin-resistant or susceptible *Staphylococcus aureus* strains, from primary plate cultures. Each kit allows 60 or 160 tests to be carried out.

2 - INTRODUCTION

Staphylococci are a serious problem in hospital epidemiology. *Staphylococcus aureus* is the main pathogenic species and is responsible for septicaemia and nosocomial infections. Coagulase-Negative Staphylococci (CNS) are most frequently considered to be opportunistic pathogens.

Multi-drug resistance poses considerable therapeutic problems, particularly with respect to methicillin resistant staphylococci. The ability to rapidly differentiate *Staphylococcus aureus* from other staphylococci species is therefore a necessity in microbiological diagnosis.

3 - PRINCIPLE

Red latex particles are sensitized with 3 proteins:

1. Fibrinogen which reacts with the fibrinogen affinity factor or the Clumping Factor;
2. The Fc fragment of human IgG which reacts with *Staphylococcus aureus* protein A;
3. Polyclonal antibodies that consist of IgG anti-*Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides, expressing neither protein A nor Clumping Factor (1, 2, 3).

The presence of *Staphylococcus aureus* is revealed by a strong agglutination reaction, visible to the naked eye. In the absence of *Staphylococcus aureus*, there is no agglutination.

The test procedure is straight forward and rapid. The results are obtained within 1 minute.

4 - REAGENTS AND MATERIAL

Description - 60 tests (Ref. 22711)	Quantité
TEST LATEX: Dispenser vial containing 1.8 mL of sensitized latex	1
CONTROL LATEX: Dispenser vial containing 1.8 mL of unsensitized latex	1
TEST CARD: Disposable reaction cards	15
STICK: Disposable stirrers	120

Description - 160 tests (Ref. 22712)	Quantity
TEST LATEX: Dispenser vial containing 2.4 mL of sensitized latex	2
CONTROL LATEX: Dispenser vial containing 2.4 mL of unsensitized latex	2
TEST CARD: Disposable reaction cards	40
STICK: Disposable stirrers	320

5 - PRECAUTIONS

- The reagents are intended solely for *in vitro* use and must be handled by authorised personnel.
- Tests are for a single use only.
- All the reagents contain raw materials of animal origin and must be handled with caution.
- The patient samples and inoculated reagents are potentially infectious; they must be handled with caution, in observance of hygiene rules and the current regulations for this type of product in the country of use.
- The **TEST LATEX** contains raw materials of human origin which has been screened for and found not to contain anti-HIV antibodies, anti-HCV antibodies and HBsAg. Nonetheless it must be handled as a potentially infectious product.
- The reagents contain sodium azide (< 0.1 %).
- Do not use reagents after the expiry date.
- Do not use reagents from different batch numbers.
- Allow the reagents to reach room temperature.
- Carefully shake the latex suspensions before use.
- When dispensing the latex suspensions, make sure that the dispenser vial is perfectly vertical. Check for the absence of air bubbles in the drops to ensure constant delivery volumes. As a precaution measure, wipe the dispenser vial tip after use.

6 - SAMPLE COLLECTION

Use freshly isolated colonies of Gram positive cocci grouped in clumps and of identical appearance grown (18-24h at 37 °C) in either trypticase soy agar with or without the addition of 5% sheep blood or alternatively, Columbia agar. Sample collection must be carried out **from a pure culture**, in compliance with good laboratory practice.

7 - CONSERVATION AND PREPARATION OF REAGENTS

Reagents are ready-to-use.

Reagents conserved at 2-8 °C, in their original state, are stable up to the expiry date indicated on the box. They must not be frozen.

8 - MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Calibrated incubator at 37 °C
- Contaminated waste container

9 - METHOD

Allow the reagents to reach room temperature before use.

- Carefully shake the latex suspensions.
- Place one drop of **TEST LATEX** on the slide.
- Using a Pasteur pipette or a loop or a stirrer, take 2 to 5 colonies for testing and with a rotating movement, vigorously emulsify them with the **TEST LATEX**.
- Manually apply a rotating movement to the card and within one minute observe the possible appearance of a strong agglutination reaction (do not continue the test for longer than 1 minute).
- Repeat the operation, described below, by replacing the **TEST LATEX** by the **CONTROL LATEX**.

10 - READING

Negative reaction: Absence of agglutination.

Positive reaction: Strong agglutination, visible to the naked eye, within one minute.

11 - INTERPRETATION OF RESULTS

TEST LATEX	CONTROL LATEX	INTERPRETATION
-	-	NEGATIVE REACTION The tested strain is not <i>Staphylococcus aureus</i>
-	+	
+	-	POSITIVE REACTION The tested strain is <i>Staphylococcus aureus</i>
+	+	UNINTERPRETABLE REACTION

12 - CAUSES OF ERROR AND TEST LIMITS

- The majority of *Staphylococcus aureus* strains appearance or resistant to methicillin react in less than 20 seconds with the appearance of a strong agglutination reaction. Certain strains with weak "Clumping Factor" and/or protein A production can demonstrate clear agglutination at around one minute.
- The presence of antibiotics can alter bacterial structures. The testing of colonies taken from the medium used in an antibiogram must be avoided.
- Certain strains such as *Staphylococcus lugdunensis* and *Staphylococcus schleiferi* that produce fibrinogen affinity factor can interfere with the test.
- Negative results can be observed if the isolated *Staphylococcus* strain produces neither "Clumping Factor", nor protein A and possesses capsular polysaccharides that do not correspond to the polyclonal antibodies used in the preparation of the reagent.
- During primary isolation on certain selective culture media (Columbia agar with nalidixic acid etc...), certain strains will not agglutinate. It would therefore be necessary to carry out one or more subcultures on non-selective media. In this case, the results will need to be associated with the reference tests used in the identification of the staphylococci.
- In all cases, it is necessary that the clinical, epidemiologic and biological data are taken fully into consideration before establishing the final diagnosis.

13 - PERFORMANCE

During evaluation, **ELITex Staph** demonstrated good sensitivity with methicillin resistant strains of *Staphylococcus aureus* (MRSA), producing little protein A and/or fibrinogen affinity factor. The presence of polyclonal antibodies makes it possible to detect certain strains of MRSA not revealed by 1st generation tests. Thus, with a total of 102 *S. aureus* strains, the sensitivity was 99.02% and with a total of 108 Staphylococci strains other than *S. aureus*, a specificity of 99.07% was obtained.

14 - WASTE ELIMINATION

Waste should be disposed of in accordance with the hygiene rules and current regulations for this kind of product in the country of use. In the event of accidental spillage of latex, or contamination of the work area by bacterial colonies, clean using absorbent paper and bleach.

15 - BIBLIOGRAPHY

1. G. CARRET, R. BISMUTH, J.-P. FLANDROIS, M. SAULNIER - Relative value of coagulase and fibrinogen affinity for the identification of *S. aureus* - *J. Appl. Bacteriol.*, 1982, 53, 351-354.
2. J.M.FOURNIER, A.BOUTONNIER, A.BOUVET - *Staphylococcus aureus* strains which are not identified by rapid agglutination methods are of capsular serotype 5 - *Journal of Clinical Microbiology*, June 1989, 1372-1374.
3. W.-E. KLOOS, D.-W. LAMBE - *Staphylococcus* - *Manual of Clinical Microbiology*, 5th ed. Am. Soc. Mie., Washington D.C., 1991.



ELITech MICROBIO
Parc d'Activités du Plateau
19 Allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE
☎ : 04 94 88 55 00
Fax : 04 94 88 55 22