

PLASMA DE LAPIN LYOPHILISE

CONFIRMATION *STAPHYLOCOCCUS A COAGULASE POSITIVE*

1 DOMAINE D'UTILISATION

Le Plasma de Lapin, recueilli sur EDTA et lyophilisé, est utilisé pour la mise en évidence de la staphylo-coagulase. Son utilisation est préconisée dans les normes NF EN ISO 6888-1 et NF EN ISO 6888-3 ; NF V08-057-1 et NF EN ISO 22718.

2 HISTORIQUE

La coagulase, enzyme capable de coaguler le plasma sanguin, a été mise en évidence chez certains staphylocoques pour la première fois par Loeb, en 1903. Depuis cette période, de nombreux auteurs ont essayé de relier la production de coagulase chez *Staphylococcus aureus* à sa capacité à produire une entérotoxine et par conséquent à son pouvoir pathogène. Actuellement, la présence d'une coagulase est considérée comme étant l'élément principal de détermination du caractère pathogène des staphylocoques. Toutefois, il n'est pas rare d'isoler des souches à coagulase négative dont la pathogénicité est prouvée.

3 PRINCIPES

Staphylococcus aureus produit deux types de coagulase :

- la coagulase libre extracellulaire qui réagit avec la prothrombine du plasma.
- la coagulase liée, localisée sur la paroi bactérienne, qui réagit avec le fibrinogène plasmatique pour produire un coagulum

Dans ce test réalisé en tube, la coagulase libre réagit principalement pour former un caillot dans le plasma, ce qui indique une réaction positive. Pour les staphylocoques à coagulase négative, il est recommandé de rechercher la présence d'autres enzymes tels que la phosphatase ou la désoxyribonucléase, également indicateurs de pathogénicité.

4 FORMULE TYPE

Plasma de Lapin recueilli sur EDTA et lyophilisé.

5 PREPARATION

- Reprendre le lyophilisat en y ajoutant aseptiquement 6 mL d'eau distillée stérile.
- Agiter le flacon plusieurs fois de façon à assurer une complète dissolution, tout en évitant la formation de mousse.
- Répartir dans des tubes à hémolyse à raison de 0,3 mL par tube.

✓ **Réhydratation :**
6 mL eau stérile

6 MODE D'EMPLOI

- Repiquer une colonie à confirmer dans un bouillon cœur-cervelle (BK015) et incuber 24 h à 37°C.
- Ensemencer 0,1 mL de la culture obtenue dans un tube de plasma
- Homogénéiser parfaitement.
- Incuber à 35 ou à 37°C pendant 4 à 24 heures.

✓ **Ensemencement :**
0,1 mL par tube

✓ **Incubation :**
4 à 24 h à 35 ou 37 °C

Note : A titre de contrôle, ajouter 0,1 mL de bouillon cœur-cervelle (BK015) stérile à 0,3 mL de Plasma de Lapin reconstitué. Ce tube témoin ne devra pas montrer de signe de coagulation en 24 heures d'incubation.

7 LECTURE

La réaction est considérée comme positive lorsque le plasma coagulé occupe les 3/4 du volume initialement mis en jeu. En principe, la coagulation se manifeste en moins de 3 heures et le plus souvent le caillot adhère aux parois du tube. Parfois la coagulation se produit plus lentement ; dans ce cas la réaction doit être considérée comme positive si un caillot apparaît en moins de 24 heures.

8 CONTROLE QUALITE

Aspect : lyophilisat beige, donnant après reconstitution une solution ambre jaune, opalescente.

Test de coagulation après 24 heures d'incubation à 37 °C (ISO 11133-A2) :

Microorganismes		Coagulase
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00033	Positive
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Positive
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	WDCM 00036	Négative
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Négative

9 CONSERVATION

Supplément lyophilisé : 2-8 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Supplément réhydraté (*) : 30 jours à 2-8 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

10 PRESENTATION

Supplément lyophilisé :

Coffret de 10 flacons (20 réactions par flacon).....BR00208

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NF EN ISO 6888-1. Octobre 1999. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces). Partie 1 : Technique utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker.

NF EN ISO 6888-3. Juin 2003. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces). Partie 3 : Recherche et méthode NPP pour les faibles nombres.

NF V 08-057-1. Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Méthode de routine pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37 °C. Partie 1 : Technique avec confirmation des colonies.

NF EN ISO 22718. Septembre 2009. Cosmétiques. Microbiologie. Détection de *Staphylococcus aureus*.

NF EN ISO 11133-A2. Mai 2020. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture - Amendement 2

12 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : PLASMA DE LAPIN_FR_V7.

Date création : 05-2003

Date de révision : 10-2020

Motif de révision : Mise à jour de la bibliographie.