

INDICATION

Le kit de test réactif au latex Prolex™ *E. coli* O157 est un kit de test par agglutination servant à l'identification présomptive du sérotype *Escherichia coli* O157.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Le sérotype O157:H7 d'*Escherichia coli* est un pathogène produisant des shiga-toxines.^{1,2} Ce sérotype a été présenté comme étant un agent étiologique dans les cas sporadiques et épidémiques de colite hémorragique.^{3,4,5} Il est également associé avec le syndrome hémolytique et urémique.⁶ Certains autres sérotypes d'*E. coli* différents du O157:H7 produisent également des shiga-toxines.^{7,8,9} Toutefois, la diarrhée qu'ils causent n'est habituellement pas sanglante. En outre, le sérotype O157:H7 d'*E. coli* ne fermente pas le sorbitol, à la différence de la plupart des autres sérotypes.^{10,11} Par conséquent, si la gélose MacConkey au sorbitol est utilisée en tant que milieu d'isolement primaire, les colonies du sérotype O157:H7 d'*E. coli* ont une apparence incolore (colonies non fermentantes de sorbitol ou NSFC), alors que les colonies des autres sérotypes ont une apparence rose caractéristique (colonies fermentantes de sorbitol ou SFC).¹¹

PRINCIPE DU TEST

Les particules en latex de polystyrène bleu utilisées dans ce kit sont enrobées d'un anticorps à l'antigène somatique d'*E. coli* O157. Lorsque ces particules en latex sont mélangées à des colonies fraîches du sérotype O157 d'*E. coli*, les bactéries se lient à l'anticorps, ce qui cause une agglutination des particules en latex (traduisant une réaction positive). Les bactéries qui ne sont pas d'*E. coli* O157 ne se lient pas à l'anticorps et ne s'agglutinent pas (traduisant une réaction négative).

MATÉRIELS FOURNIS

Réactif au latex Prolex™ *E. coli* O157 (PL.072B / PL.073B) :

- Un flacon compte-gouttes avec 3,1 ml (PL.070B) ou 6,2 ml (PL.071B) de particules en latex enrobées d'IgG de lapin purifiée réagissant au contact du sérotype O157 d'*E. coli*. Les particules en latex sont suspendues dans un tampon contenant 0,098 % d'azoture de sodium comme agent conservateur.

Contrôle positif Prolex™ *E. coli* O157 (PL.074B / PL.075B) :

- Un flacon compte-gouttes avec 1,5 ml (PL.070B) ou 3,0 ml (PL.071B) de suspension de contrôle positif contenant l'antigène du sérotype O157:H7 d'*E. coli* produit par la récolte et l'inactivation des colonies du sérotype O157:H7 d'*E. coli* cultivées sur un milieu de gélose. L'antigène est suspendu dans un tampon contenant 0,095 % d'azoture de sodium comme agent conservateur.

Réactif au latex de contrôle négatif Prolex™ *E. coli* O157 (PL.077B / PL.076B) :

- Un flacon compte-gouttes avec 1,5 ml (PL.070B) ou 3,0 ml (PL.071B) de particules en latex enrobées d'IgG de lapin purifiée ne réagissant pas au contact du sérotype O157 d'*E. coli*. Les particules en latex sont suspendues dans un tampon contenant 0,098 % d'azoture de sodium comme agent conservateur.
- Cartes de test
- Bâtonnets mélangeurs
- Notice d'utilisation

MATÉRIELS NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Sérum physiologique normal
- Tubes à essai de 12 x 75 mm
- Aiguille ou anse de repiquage
- Pipettes Pasteur

STABILITÉ ET STOCKAGE

Les réactifs doivent être conservés à une température comprise entre 2°C et 8°C. Entreposés dans ces conditions, les réactifs restent stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit. **Ne pas congeler.**

PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

1. Ce kit est exclusivement réservé aux emplois de diagnostic *in vitro*.
2. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit.
3. Les réactifs contiennent $\leq 0,098\%$ d'azoture de sodium. En cas d'accumulation d'azoture de sodium, celui-ci peut provoquer des réactions explosives au contact des canalisations en cuivre ou en plomb. Bien que la quantité d'azoture de sodium présente dans les réactifs soit minimale, d'abondantes quantités d'eau devront être utilisées pour rincer les éviers lorsque les réactifs y sont vidés.
4. Les spécimens et réactifs doivent être considérés comme des sources infectieuses potentielles ; il est important d'observer les précautions universelles lors de la réalisation du test.
5. Ne pas utiliser les réactifs en latex en cas d'auto-agglutination visible. Cela se manifesterait par l'agglutination du réactif au latex Prolex™ *E. coli* O157 en l'absence d'un isolat de test ou par l'agglutination du réactif au latex de contrôle négatif en présence de l'antigène de contrôle positif ou de l'isolat de test.
6. Il est indispensable d'observer les procédures, conditions de conservation, précautions et limitations d'emploi figurant dans les présentes instructions pour pouvoir obtenir des résultats de tests valides.
7. Le produit contient des matières d'origine animale et devra être manipulé comme potentiellement susceptible de transporter et de transmettre des maladies.

PRÉPARATION DES CULTURES

Les spécimens cliniques doivent être cultivés sur de la gélose MacConkey au sorbitol. Les colonies non fermentantes de sorbitol (NSFC) peuvent être testées directement ou à partir d'une subculture sur milieu de gélose non sélectif. Les colonies d'une culture de 18 à 24 heures doivent être proprement prélevées de la surface de la gélose pour être testées à l'aide d'une anse ou aiguille stérile. Ce sont les cultures jeunes à croissance rapide qui produisent généralement les meilleurs résultats.

PROTOCOLE DE TEST

1. Laisser tous les réactifs se stabiliser à température ambiante avant de les utiliser.
2. À l'aide d'une pipette, transvaser 0,2 ml de sérum physiologique normal dans un tube à essai de 12 x 75 mm.
3. À l'aide d'une anse ou aiguille stérile, prélever suffisamment de colonies de la plaque et les suspendre dans le sérum physiologique pour obtenir une turbidité équivalente à 3-5 sur l'étalon de McFarland.
4. Déposer une goutte du réactif au latex Prolex™ *E. coli* O157 dans un cercle de test sur l'une des cartes de test fournies. À l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter une goutte de la suspension de test sur le même cercle, puis mélanger en utilisant l'un des bâtonnets mélangeurs fournis.
5. Faire osciller doucement la carte et examiner l'agglutination pendant un maximum de deux minutes.
6. Les isolats produisant un résultat positif avec le latex de test doivent être à nouveau testés en répétant la procédure à l'aide du réactif au latex de contrôle négatif Prolex™.

PROCÉDURES DE CONTRÔLE QUALITÉ

Le réactif au latex Prolex™ *E. coli* O157 et le réactif au latex de contrôle négatif Prolex™ doivent être testés avec le contrôle positif Prolex™ avant de procéder aux isolats de test. Il doit y avoir agglutination avec le réactif au latex Prolex™ *E. coli* O157 dans un délai de deux minutes et pas d'agglutination avec le réactif au latex de contrôle négatif Prolex™.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1. Le tableau suivant indique comment interpréter les résultats obtenus avec le réactif au latex Prolex™ *E. coli* O157 et le contrôle positif Prolex™ *E. coli* O157 :

RÉACTIF AU LATEX O157	RÉACTIF DE CONTRÔLE NÉGATIF AU LATEX	REMARQUES
+	-	La performance du kit est satisfaisante.
-	-	La teneur est trop faible. Jeter les réactifs.
+	+	Auto-agglutination : Jeter les réactifs

2. L'agglutination des réactifs au latex avec le spécimen de test est interprétée conformément aux indications ci-dessous :

RÉACTIF AU LATEX O157	RÉACTIF DE CONTRÔLE NÉGATIF AU LATEX	REMARQUES
+	-	Présomption de sérotype O157 d' <i>E. coli</i> ..
+	+	Présence de souche présentant une réaction croisée ou une auto-agglutination. Procéder à d'autres tests pour exclure l' <i>E. coli</i> O157.
-	non effectué	Indique l'absence du sérotype d' O157 d' <i>E. coli</i> .
apparence filandreuse ou mucoside	non effectué	Ininterprétable. Préparer une suspension de colonies fraîche dans du sérum physiologique et laisser les agrégats se stabiliser. Retester le surnageant

LIMITATIONS DE LA PROCÉDURE







1. Ne tester que les colonies présentant une morphologie coloniale typique sur la gélose MacConkey au sorbitol (non fermentantes de sorbitol).
2. Les résultats de tests positifs doivent être vérifiés par analyses biochimiques standard.
3. Ce réactif a été mis au point pour détecter la présence de l'antigène du sérotype O157 d'*E. coli*. Certaines autres souches d'*E. coli* O157 (notamment O157:H16) non fermentantes du sorbitol rendent également un résultat positif avec ce test.^{1,12,13}
4. Bien que ce test ait été spécifiquement mis au point pour minimiser la réactivité croisée normale d'*Escherichia hermannii* (12), de rares souches peuvent causer une réactivité croisée.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

La performance clinique du kit de test Prolex™ *E. coli* O157 a été évaluée dans un laboratoire hospitalier de microbiologie. Des spécimens de selles striées de sang provenant de 474 patients chez lesquels une diarrhée, une colite hémorragique ou un syndrome hémolytique et urémique avaient été diagnostiqués ont été mis en culture. Sur ces 474 spécimens, 47 ont produit des colonies négatives au sorbitol et se sont révélés positifs à la souche d'*E. coli* O157 avec un test au latex disponible dans le commerce. Ces résultats ont été vérifiés par des analyses biochimiques conventionnelles. La totalité de ces 47 isolats se sont révélés positifs en les testant avec le kit de réactifs au latex Prolex™ *E. coli* O157 (47/47 = sensibilité de 100%).

RÉFÉRENCES

1. **Konowalchuk J., Speirs J.I., Stavric S.** 1977. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 18:775-779.
2. **Ratnam S., March S.B., Ahmed R., Bezanson G.S., Kasatiya S.** 1988. Characterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7. *J. Clin. Microbiol.* 26:2006-2012.
3. **C.D.C.** 1982. Isolation of *E. coli* O157:H7 from sporadic cases of hemorrhagic colitis. *United States MMRW* 31:580-585.
4. **Johnson W.M., Lior H., Bezanson G.S.** 1983. Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 associated with haemorrhagic colitis in Canada. *Lancet* i:76.
5. **Krishnan C., Fitzgerald V., Dakin S., Behme R.J.** 1987. Laboratory investigation of outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. *J. Clin. Microbiol.* 25:1043-1047.
6. **Karmali M.A., Steele B.T., Petric M., Lim C.** 1983. Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet.* i:619-620.
7. **Karmali M.A., Petric M., Lim C., Cheung R., Arbus G.S.** 1985. Sensitive method for detecting low numbers of verotoxin-producing *Escherichia coli* in mixed cultures by use of colony sweeps and polymyxin extraction of verotoxin. *J. Clin. Microbiol.* 22:614-619.
8. **Law D.** 1988. Virulence factors of enteropathogenic *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol.* 26:1-10.
9. **Scotland S.M., Day N.P., Rowe B.** 1980. Production of a cytotoxin affecting vero cells by strains of *Escherichia coli* belonging to traditional enteropathogenic serogroups. *FEMS Microbiol. Lett.* 7:15-17.
10. **Farmer III J.J., Davis B.R.** 1985. H7 Antiserum-sorbitol fermentation medium: a single tube screening medium for detecting *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J. Clin. Microbiol.* 22:620-625.
11. **March S.B., Ratnam S.** 1986. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J. Clin. Microbiol.* 23:869-872.
12. **Borczyk A., Lior H., Cebin B.** 1987. False positive identification of *Escherichia coli* in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 4:347-349.
13. **Thompson J.S., Hodge D.S., Borczyk A.A.** 1990. Rapid biochemical test to identify verocytotoxin-positive strains of *Escherichia coli* serotype O157. *J. Clin. Microbiol.* 28:2165-2168.

	= Fabricant
	= Representant legal dans la comunaute Europeenne
	= Contenu suffisant pour (n) tests
	= Dispositif medical de diagnostic in vitro
	= Limite de temperature
	= 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.