

DOMAINE D'APPLICATION

L'antisérum *E. coli* 0157 Pro-Lab est réservé au test d'agglutination sur microplaquette pour l'identification à présomption de l'antigène de *Escherichia coli*, sérotype O157 sur des milieux de culture de laboratoire.

RESUME ET EXPLICATION

Le germe *Escherichia coli*, sérotype O157:H7 est un agent pathogène qui produit de la vérotoxine (producteur VT).^{1,2} Ce sérotype est connu comme étant l'agent étiologique de cas sporadiques et de flambées de colite hémorragique.^{3,4,5} Il est également associé au syndrome hémolytique et urémique.⁶ Certains sérotypes de *E. coli* autres que O157:H7 produisent aussi de la vérotoxine.^{7,8,9} Toutefois, la diarrhée causée par ces autres sérotypes n'est pas habituellement sanglante. De plus, le sérotype *E. coli* O157:H7 ne fermente pas le sorbitol à la différence de la plupart des autres sérotypes qui le fermentent.^{10,11} Par conséquent, si le milieu gélosé au sorbitol-MacConkey est utilisé comme dépistage primaire, les colonies du sérotype d'*E. coli* O157:H7 apparaissent incolores (colonies qui ne fermentent pas le sorbitol- CNFS) à la différence des colonies caractéristiques roses des autres sérotypes (colonies fermentant le sorbitol -SFC).¹¹

Le travail de Kauffmann¹², Edward et Ewing¹³, Ewing¹⁴ et Orskov¹⁵ a contribué au développement d'un système pour le typage sérologique des cultures d'*E. coli*, d'où la mise au point d'un système de classification antigène qu'il est possible d'utiliser pour identifier les sérotypes de *Escherichia coli* liés à la bactériurie ou à la maladie diarrhéique.

Le principe du test implique le mélange des organismes suspects avec l'antisérum contenant les anticorps *E. coli* O157. Les bactéries s'agglutinent en présence de l'antisérum homologue.


REACTIFS

L'antisérum *E. coli* O157 Pro-Lab est préparé en utilisant un sérum de lapin dégraissé, entièrement absorbé contenant des anticorps dirigés contre *E. coli*, sérotype O157.

L'antisérum doit être utilisé pour l'identification à présomption ou la confirmation de cultures préalablement caractérisées au niveau biochimique.

L'antisérum *E. coli* O157 Pro-Lab est fourni dans un flacon compte-goutte contenant 3,0 ml de d'antisérum dilué prêt à l'emploi avec 0,01 % de thimérosal comme agent de conservation.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Ne pas utiliser l'antisérum après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit.
2. L'antisérum contient du thimérosal,  un composé hautement toxique à base de mercure. Bien que la quantité de thimérosal dans l'antisérum soit minimale, manipuler, traiter et éliminer le réactif selon les règles de sécurité en vigueur.
3. Eviter toute contamination du flacon de réactif.
4. L'échantillon test peut contenir des organismes pathogènes pour les êtres humains ; traiter et manipuler comme matériel infectieux.
5. Le réactif est destiné à un usage diagnostic *in vitro* uniquement.
6. 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.
7. Le produit contient des matières d'origine animale et devra être manipulé comme potentiellement susceptible de transporter et transmettre des maladies.

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Microplaquettes
- Solution salée normale (0,85 % de chlorure de sodium)
- Anses ou anses jetables
- Cure-dents

STABILITE ET CONSERVATION

Conserver l'antisérum *E. coli* O157 Pro-Lab convenablement bouché entre 2° et 8°C. Conservé dans ces conditions, il peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit.

PREPARATION DES ECHANTILLONS ET MISE EN CULTURE

Les échantillons cliniques doivent provenir d'une culture sur milieu au sorbitol de MacConkey. Il est possible de repiquer les CNFS sur un milieu gélosé non sélectif. Les colonies du lendemain doivent être proprement prélevées à la surface de la gélose pour le test à l'aide d'une anse d'ensemencement stérile. Des cultures jeunes et à croissance rapide entraîneront des réactions de test types.

PROCEDURE

1. Déposer deux gouttes séparées de solution salée normale (0,85 % de chlorure de sodium) sur une microplaquette en verre propre.
2. Prélever une colonie d'*Escherichia coli* suspecte sur une plaque de culture du lendemain et bien mélanger avec les deux gouttes de solution salée sur la microplaquette pour obtenir une légère suspension.
3. Ajouter une goutte d'antisérums à l'une des gouttes de la suspension bactérienne sur la microplaquette, et ajouter une goutte de solution saline normale (témoin) à l'autre.
4. Mélanger l'antisérum avec la suspension bactérienne à l'aide d'un cure-dent. Puis, mélanger la solution salée (témoin) avec un nouveau cure-dent.
5. Secouer délicatement la microplaquette en faisant un mouve ment de va-et-vient pendant une minute et observer l'agglutination sous des conditions d'éclairage normal ou à l'aide d'un objectif faible puissance.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Une agglutination distincte (granulaire) dans le test de l'antisérum, au bout de 60 secondes, peut être considérée comme un résultat positif. Aucune agglutination ne doit se produire dans le témoin salé, pour que le test soit valable (autoagglutination).

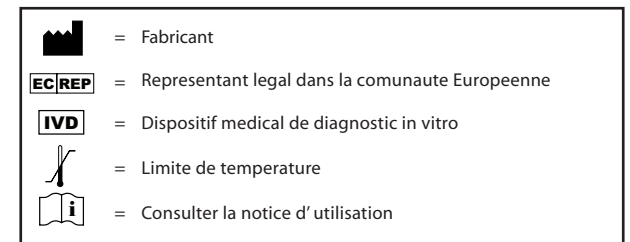
LIMITES

1. Un témoin de solution salée normale doit être inclus dans chaque test pour garantir la spécificité de la réaction.
2. Des souches rugueuses peuvent entraîner une autoagglutination dans des tests sur microplaquettes. Les faux positifs s'agglutinent normalement dans une solution salée témoin.
3. Il est recommandé de vérifier la puissance des antisérums de *Escherichia coli* avec des cultures conservées dont l'on connaît la structure antigène.

BIBLIOGRAPHIE

1. **Konowalchuk J., Speirs J.I., Stavaric 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 *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. **Kauffmann, F.** 1947. J. Immunology **57**:71-100.
13. **Edwards, P.R. and Ewing, W.H.** 1972. Identification of Enterobacteriaceae. 3rd edition. Burgess. Minneapolis, Minnesota.
14. **Ewing, W.H.** 1969. Public Health Lab. **27**:19-30.
15. **Orskov, F.** 1956. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. **29**:373.



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.

Révision: 2012 06

