

Kit de test réactif au latex PROLEX™ *E. coli* O157



pro-lab.com/resources

PL.070B



PL.071B



[REF] PL.070B

[REF] PL.071B

[REF] PL.076B

NOTICE D'UTILISATION

INDICATION

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

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Le sérotype O157 :H7 d'*Escherichia coli* est un pathogène produisant des shigatoxines^{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 sérogroup 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

Le kit PL 070B suffit pour 50 tests. Le kit PL 071B suffit pour 100 tests. Matériaux fournis prêts à l'emploi.

- 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 sérogroup 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 sérogroup 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

MATÉRIELS NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Sérum physiologique normal (chlorure de sodium à 0,85 %) ou sérum physiologique tamponné au phosphate (PBS)
- Étalon McFarland 3.0, 4.0 ou 5.0
- 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.

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

1. Pour usage diagnostique in vitro seulement.
2. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit.
3. Les réactifs contiennent < 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. Des mesures universelles de précaution doivent être prises pour la gestion, le traitement et l'élimination de tous les spécimens cliniques. Tous les matériaux d'essai doivent être considérés comme des sources infectieuses potentielles avant et après usage et ils doivent être pris en charge et éliminés de façon appropriée.
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™ d'*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. Les réactifs contiennent des matières d'origine animale et devront être manipulés 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.

PROCÉDURE DE TEST

1. Laisser tous les réactifs se stabiliser à température ambiante avant de les utiliser.
2. Remettre en suspension le réactif au latex en renversant doucement le flacon plusieurs fois. Examiner les flacons compte-gouttes avant l'utilisation pour s'assurer que les particules de latex sont bien en suspension. Si elles ne le sont pas, remettre en suspension.
3. À l'aide d'une pipette, transvaser 0,2 ml de sérum physiologique normal ou de sérum physiologique tamponné au phosphate dans un tube à essai de 12 x 75 mm.
4. Sélectionner suffisamment de colonies de la plaque avec une anse ou une aiguille stérile et préparer une suspension dans le sérum physiologique normal ou le sérum physiologique tamponné au phosphate pour obtenir une turbidité équivalente à 3-5 sur l'échalon de McFarland.
5. Déposer une goutte du réactif au latex Prolex™ d'*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.
6. Faire osciller doucement la carte et examiner l'agglutination pendant un maximum de deux minutes.
7. Les isolats produisant un résultat positif avec le réactif au latex Prolex™ d'*E. coli* O157 doivent être à nouveau testés en répétant la procédure à l'aide du réactif au latex de contrôle négatif Prolex™ .

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

Les résultats obtenus avec le kit de réactif au latex Prolex™ *E. coli* O157 et le spécimen de l'essai doivent être interprétés comme suit :

Réactif au latex O157	Réactif de contrôle négatif au latex	Interprétation
+	-	Présomption de <i>E. coli</i> O157
+	-	Résultat non concluant
-	non effectué	Indique l'absence d' <i>E. coli</i> O157
Aspect filandreux ou mucoïde	non effectué	Interprétation impossible

Résultat positif : Agglutination visible des particules de latex bleues dans les 2 minutes.

Résultat négatif : Pas d'agglutination des particules de latex bleues dans les 2 minutes.

Non concluant : L'agglutination visible des particules de latex avec le réactif au latex d'*E. coli* O157 et avec le réactif au contrôle négatif indique la présence d'une source agglutinante ou à réaction croisée. Effectuer des tests ultérieurs pour éliminer *E. coli* O157.

Interprétation impossible: Aspect filandreux ou mucoïde avec le réactif au latex d'*E. coli* O157. Préparer une nouvelle suspension de colonies dans du sérum physiologique normal ou du sérum physiologique tamponné au phosphate et attendre que les agglomérats se stabilisent. Tester à nouveau le liquide 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 sérogrroupe 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 hermanii*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., Rathnam 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.

GLOSSAIRE ET SYMBOLES ASSOCIÉS

Symbol	Interprétation
	Fabricant
	Date de péremption
	Numéro de lot
	Référence de catalogue
	Limite de température
	Voir la notice d'utilisation ou consulter les instructions pour l'emploi électroniques
	Dispositif médical pour diagnostic in vitro
	Contenu suffisant pour <n> tests
	Indique la conformité européenne
	Indique la conformité à la règlement du Royaume-Uni
	Représentant agréé dans la Communauté européenne / l'Union européenne

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.

Pro-Lab Diagnostics U.K.
 3 Bassendale Road, Bromborough,
 Wirral, Merseyside CH62 3QL
 United Kingdom
 Tel.: 0151 353 1613
www.pro-lab.co.uk
 E-mail: uksupport@pro-lab.co.uk

 **Pro-Lab Diagnostics Canada**
 20 Mural Street, Unit #4
 Richmond Hill, Ontario L4B 1K3
 Canada
 Tel.: 905-731-0300
www.pro-lab.com
 E-mail: support@pro-lab.com

Pro-Lab Diagnostics U.S.A.
 1301 Blue Ridge Drive, Suite #101
 Georgetown, Texas 78626-3269
 United States
 Tel.: 512-832-9145
www.pro-lab-direct.com
 E-mail: support@pro-lab.us

 Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Floor, Tower Street, Swatar, BKR 4013 Malta