



**Mast  
Group**

**E. coli**

**Salmonella**

**Haemophilus**

# **MAST® ASSURE**

**Guide technique  
Antisérum bactériens**

**Shigella**

**Vibrio**

**Campylobacter**

**Bordetella**

**Clostridium**

**Legionella**

**Pseudomonas**

**Staphylococcus**

**Listeria**

**Streptococcus**

**Yersinia**

**Proteus**

**Brucella**

# Sommaire

	Page
<b>Chapitre 1</b>	
Méthodes d'agglutination pour <i>Salmonella</i>	3-15
Antisérum <i>Salmonella</i> sur stock	16
<b>Chapitre 2</b>	
Méthodes d'agglutination pour <i>Escherichia coli</i> pathogènes	17-25
Antisérum <i>E.coli</i> sur stock	26
<b>Chapitre 3</b>	
Méthodes d'agglutination pour <i>Shigella</i> sp	27-32
Antisérum <i>Shigella</i> sp sur stock	32
<b>Chapitre 4</b>	
Méthodes d'agglutination pour <i>Vibrio cholerae</i>	33-35
Antisérum <i>Vibrio cholerae</i> sur stock	35

**Ce guide ne remplace pas les notices d'utilisation des produits. C'est une aide à la formation et au laboratoire pour la rédaction des procédures standards sur les méthodes d'identification à l'aide des sérum bactériens agglutinants.**

Bibliographie disponible sur demande.



# MAST® ASSURE ANTISERUMS SALMONELLA

# A. Antisérum MAST® ASSURE Salmonella

## 1. Introduction

### a. Généralités

Les salmonelles sont des bacilles Gram négatifs non sporulés appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. La plupart sont mobiles et flagellés.

Les salmonelles sont largement répandues dans la nature. Tous les vertébrés et certains invertébrés sont capables d'abriter des salmonelles dans leur intestin. La plupart des infections animales semblent être asymptomatiques ou causer une gastro-entérite auto-limitante de gravité variable. *S. typhimurium*, présentent un nombre important d'hôtes, tandis que *S. typhi* et *S. paratyphi* A, B et C sont principalement des pathogènes humains rarement isolés chez d'autres animaux. D'autres espèces sont particulièrement adaptées aux hôtes animaux : *S. cholera-suis* (porc), *S. dublin* (bovin), *S. gallinarum-pullorum* (volaille), *S. abortus-equus* (cheval) et *S. abortus-ovis* (mouton).

L'infection à *Salmonella* peut causer chez l'homme un large spectre de maladies. Elle se manifeste principalement sous quatre syndromes ; la fièvre entérique, la gastro-entérite, la bactériémie avec ou sans infection métastatique et l'état porteur asymptomatique :

- La fièvre entérique est le plus souvent causée par *S. typhi* et *S. paratyphi* A, B et C, mais peut être causée par d'autres sérotypes de *Salmonella*. Les caractéristiques cliniques tendent à être plus sévères chez *S. typhi* (fièvre typhoïde). La fièvre entérique est une maladie systémique dont les principaux symptômes sont la fièvre et les maux de tête. Elle peut être mortelle si elle n'est pas traitée.
- La gastro-entérite aiguë se caractérise par des vomissements, des douleurs abdominales, de la diarrhée et de la fièvre. Elle est souvent une conséquence d'une intoxication alimentaire causée par des volailles infectées.
- La bactériémie est une caractéristique constante des maladies entériques et peut être une complication rare de toute infection aux salmonelles. Une bactériémie transitoire peut survenir dans les cas de gastro-entérite, mais dans la plupart des cas, les organismes sont éliminés de la circulation sanguine sans effet néfaste.
- État de porteur asymptomatique. La plupart des personnes atteintes d'une infection aux salmonelles continuent d'excréter le germe dans leurs selles pendant des jours ou des semaines après un rétablissement clinique complet. Une éventuelle clairance de l'organisme est habituelle. Quelques patients continuent d'excréter des salmonelles pendant de longues périodes. Les porteurs chroniques peuvent excréter les salmonelles pendant un an ou plus et ne présenter aucun symptôme de maladie.

Le diagnostic en laboratoire de l'infection à salmonelles dépend habituellement de l'isolement et de l'identification des salmonelles à partir d'un échantillon de sang ou de selles du patient. Une analyse antigénique plus poussée de micro-organisme est souvent nécessaire pour identifier l'espèce ou la souche à des fins épidémiologiques.

### b. Caractérisation antigénique des salmonelles

Les salmonelles possèdent deux principaux types d'antigènes, les antigènes O (somatiques ou pariétaux) et les antigènes H (flagellaires). Les antigènes O sont stables à la chaleur et sont à la base du groupage. Les antigènes H sont labiles à la chaleur et sont utilisés pour confirmer et identifier les sérotypes au sein des groupes. L'antigène H d'un organisme d'un groupe O connu peut se présenter sous forme de deux entités sérologiques différentes, appelées phases. Les organismes diphasiques peuvent être séparés en phases individuelles en cultivant la culture en présence d'une petite quantité d'antisérum de phase spécifique de la phase déjà reconnue, de sorte que les seuls organismes mobiles isolés soient de la phase alternative. Occasionnellement, un troisième antigène appelé antigène Vi est également présent dans certaines souches de salmonelles. L'antigène Vi peut bloquer l'activité des antigènes O et doit être inactivé avant de procéder au groupage sérologique du micro-organisme présent.

Par exemple, *Salmonella typhimurium*, qui possède les antigènes O 1, 4, [5], 12 a soit l'antigène i de phase 1 soit l'antigène 1, 2 de phase 2. Cela s'écrit : 1, 4, [5], 12 : i : 1, 2.

Au début des années 1920, White a découvert la variation antigénique chez les espèces de salmonelles et son importance dans la différenciation des salmonelles sur la base du sérotypage. Kauffmann a confirmé plus tard les observations de White et les a considérablement étendu pour former le tableau actuel de Kauffmann-White pour la classification des types du genre *Salmonella*. Aujourd'hui, plus de 2000 sérotypes de *Salmonella* ont été identifiés.

### c. Antisérum MAST® ASSURE *Salmonella* : préparation et conditionnement.

Les Antisérum MAST® ASSURE *Salmonella* sont préparés à partir de lapins hyperimmunisés avec des souches standards *Salmonella* possédant des facteurs antigéniques définis. Tous les sérum sont inactivés à 56°C pendant 30 minutes, absorbés pour éliminer les agglutinines à réaction croisée et stérilisés par filtration. Les Antisérum MAST® ASSURE *Salmonella* constituent une gamme complète d'antisérum O, H et Vi ainsi que des Antisérum *Salmonella* en induction de phase, pour l'induction d'une phase flagellaire cachée. Les antigènes sont normalement identifiés par agglutination qualitative sur lame ou par agglutination quantitative sur tube ou, dans le cas des Antisérum *Salmonella* en induction de phase, par tubes de culture (milieu semi-solide) ou plaques d'agar (méthode de pontage).

Tous les antisérum MAST® ASSURE à l'exception des antisérum à induction de phase sont en flacons de 2mL (ou 5 mL) avec un compte-gouttes. Ils contiennent 0,1 % d'azoture de sodium comme agent de conservation et sont prêts prêt à l'emploi. Le volume est suffisant pour 50 (125) tests d'agglutination sur lame ou 20 (50) tests d'agglutination sur tube. Les antisérum MAST® ASSURE *Salmonella* à induction de phase sont stériles en flacons pour injection de 5 mL.

## 2. Culture et préparation pour la sérologie

Les salmonelles appartiennent à l'ordre des Enterobactériales et il existe de nombreuses réactions croisées et relations antigéniques entre les salmonelles et d'autres genres dans cette famille. Il est donc important que les souches ayant une classification sérologique soient d'abord correctement identifiés comme des salmonelles à partir de leurs caractéristiques morphologiques et biochimiques.

### 3. Antisérum de Groupage O

Les facteurs antigéniques somatiques O des salmonelles ont été regroupés selon les désignations alphabétiques détaillées dans le tableau de Kaufmann-White. Cependant, ceux-ci sont devenus obsolètes au fur et à mesure que de nouveaux facteurs antigéniques ont été mis en évidence. Mast Group Ltd préfère utiliser les désignations numérotées recommandées par le Centre collaboratif de référence et de recherche de l'OMS sur les salmonelles pour la gamme d'antisérum MAST® ASSURE.

Le tableau 1 ci-dessous indique la corrélation entre les systèmes alphabétiques et numériques.

Tableau 1 - Corrélation entre le système de groupage alphabétique et le système de désignation numérique des facteurs O pour le groupage des salmonelles.

Désignation alphabétique des groupes	Désignation numérique du facteur O	Désignation alphabétique des groupes	Désignation numérique du facteur O	Désignation alphabétique des groupes	Désignation numérique du facteur O
A	O2	F	O11	Q	O39
B	O4	G <sub>1</sub>	O13, 22	R	O40
C <sub>1</sub> + C <sub>4</sub>	O6, 7	G <sub>2</sub>	O13, 23	S	O41
C <sub>2</sub>	O6, 8	H	O6, 14	T	O42
C <sub>3</sub>	O8, [20]	I	O16	U	O43
D <sup>1</sup>	O9, 12	J	O17	V	O44
D <sub>2</sub>	O9, 46	K	O18	W	O45
D <sub>3</sub>	O9, 46, 27	L	O21	X	O47
E <sub>1</sub>	O3, 10 *	M	O28	Y	O48
E <sub>2</sub>	O3, 15 *	N	O30	Z	O50
E <sub>3</sub>	O3, 15, 34 *	O	O35	pas de code	O51 - O67
E <sub>4</sub>	O3, 19	P	O38		

NOTE \* = Le groupe E1 était à l'origine classé comme O3, 10, le groupe E2 comme O3, 15 et le groupe E3 comme O3, 15, 34. Il a été noté par la suite que les souches du groupe E1 pouvaient être lysogénisées par phage ε15 (O3, 10 → O3, 15) puis par phage ε34 (O3, 15 → O3, 15, 34). De ce fait, ces souches sont désormais classées dans un groupe commun.

Le tableau 2 énumère tous les antisérum pour le groupage O (et les Antisérum Vi) disponibles à ce jour, ainsi que les codes produit, l'équivalent alphabétique Kauffmann-White du groupe et les agglutinines antigéniques réellement présentes. Il n'est pas possible de fournir des sérum pour chaque facteur unique pour tous les antigènes connus de Salmonella, mais un large éventail de sérum est disponible dans la gamme **MAST® ASSURE** suffisante pour identifier avec un degré raisonnable de probabilité la majorité des types de Salmonella isolés.

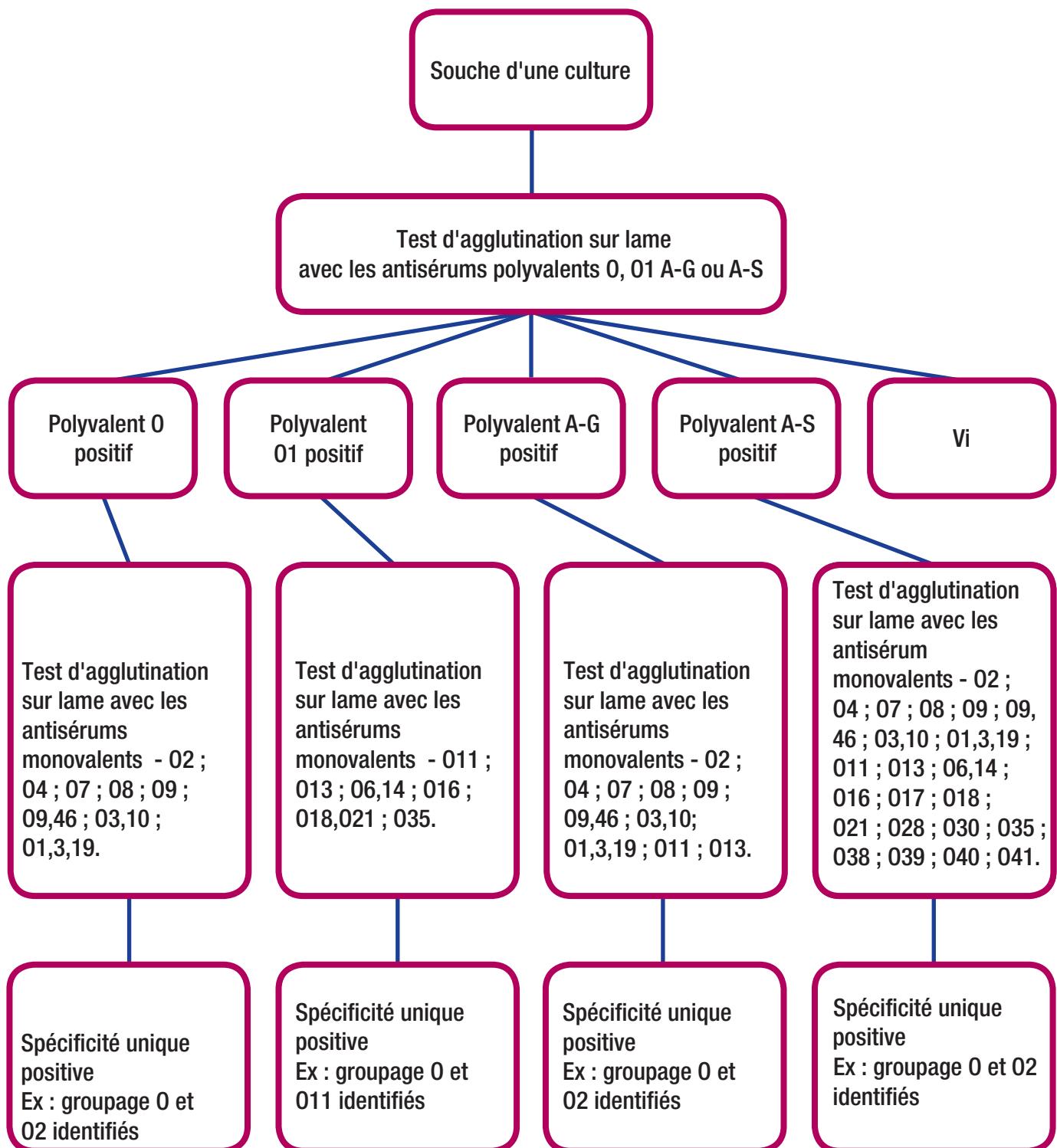
Pour déterminer le groupe O d'une souche de salmonelle, il faut d'abord utiliser des antisérum polyvalents pour réduire l'intervalle avant d'utiliser des sérum de groupes spécifiques. Ceci est décrit par le diagramme 1 et selon les méthodes détaillées en section 4.

**Tableau 2 - Antisérum **MAST® ASSURE** Salmonella groupe O**

Code Produit Mast	Antisérum O <b>MAST®</b> ASSURE Salmonella	Equivalent alphabétique Kauffmann-White du groupe	Agglutinines présentes
M10308	Polyvalent O	A - E	O2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 19, 34, 46.
M10309	Polyvalent O1	F - O excluant J, M et N.	O11, 13, 14, 16, 18, 21, 22, 23, 24, 35.
M14294	Polyvalent A-G	A - G	O2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 19, 22, 34, 46.
M14300	Polyvalent A-S	A - S	O2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 28, 30, 34, 35, 38, 39, 40, 41, 46.
M10310	O2	A	O2
M10311	O4	B	O4, 5
M10312	O7	C1 + C4	O7
M10313	O8	C2 + C3	O8
M10314	O9	D	O9
M10315*	O9, 46	D2	O46
M10316	O3, 10	E1 + E2 + E3 *	O10, 15, 34
M10318*	O1, 3, 19	E4	O19
M10319*	O11	F	O11
M10320	O13	G1 + G2	O13, 22, 23
M10321	O6, 14	H	O14, 24, 25
M10322*	O16	I	O16
M10323*	O18	K	O18
M10324*	O21	L	O21
M10325*	O35	O	O35
M10326	Vi	-	Vi

\* Délai de livraison de 8 semaines

Diagramme 1 - Procédures de groupage O des salmonelles



Ce guide ne remplace pas les notices d'utilisation des produits. C'est une aide à la formation et au laboratoire pour la rédaction des procédures standards sur les méthodes d'identification à l'aide des sérum bactériens agglutinants.

Bibliographie disponible sur demande.

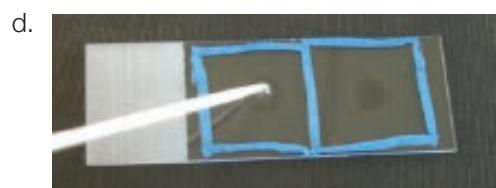
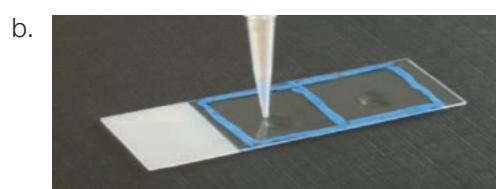
#### 4. Procédures de sérotypage O et interprétation des résultats

Les antisérum de groupage O **MAST® ASSURE Salmonella** sont destinés à l'identification des antigènes O par agglutination qualitative sur lame, bien qu'ils puissent être utilisés dans les tests quantitatifs d'agglutination en tube pour la confirmation.

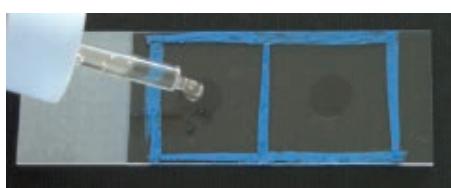
Les souches isolées d'une culture de salmonelles sont identifiées par leurs caractéristiques morphologiques et biochimiques peuvent être sérotypées selon les procédures ci dessous. Voir également le diagramme 2 pour un résumé de la procédure de groupage O des salmonelles.

##### a. Agglutination sur lame pour groupage des antigènes O et Vi.

1. Placer deux gouttes de solution saline stérile à 0,85 % (sérum physiologique) sur une lame soigneusement nettoyée. La lame peut être divisée en plusieurs parties à l'aide d'un crayon gras ou d'un crayon pour verre (Image a, b). Avec une anse d'inoculation ou un fil métallique, émulsionner dans chaque goutte de solution saline une colonie d'une boîte gélosée ou d'une culture en pente fraîche pour produire un trouble distinct et uniforme (Image c, et d).



2. Déposer une goutte d'antisérum polyvalent sur l'une des gouttes d'isolat émulsifié et sur l'autre une goutte de solution saline comme témoin.



**Remarque :** Déposer les gouttes d'antisérum sans toucher la lame. Ne pas contaminer l'antisérum avec les micro-organismes.

3. Mélanger les réactifs en inclinant la lame dans un mouvement de va-et-vient pendant 60 secondes tout en observant sous une lumière indirecte sur un fond noir.

L'agglutination distincte du test durant ce laps de temps, sans agglutination du contrôle salin (auto-agglutination), doit être considérée comme un résultat positif.



Un isolat produisant une réaction positive distincte avec un antisérum polyvalent est supposé être une salmonelle portant un ou plusieurs facteurs antigéniques O contenus dans l'antisérum. Sur la base de ces informations, il convient d'effectuer d'autres tests sur l'isolat, comme décrit aux étapes 1 à 3, avec des antisérum O spécifiques afin de révéler le groupe antigénique O complet de l'isolat.

4. Si aucune agglutination n'est détectée avec l'un des sérum polyvalents et du sérum physiologique, répéter les étapes 1 à 3 ci-dessus en utilisant l'antisérum Vi. Si une réaction positive est trouvée avec l'antisérum Vi, préparer une suspension cellulaire dense dans une solution saline à 0,85% et chauffer la suspension à 100°C pendant 60 minutes ou autoclaver à 121°C pendant 15 minutes. Répéter alors le test d'agglutination avec des sérum polyvalents et Vi sur la suspension cellulaire chauffée.

5. Si l'isolat de cellules vivantes donne un résultat négatif avec l'antisérum polyvalent et un résultat positif avec l'antisérum Vi, alors que l'isolat chauffé donne un résultat positif avec l'antisérum polyvalent et un résultat négatif avec l'antisérum Vi, l'isolat doit probablement être considéré comme *Salmonella typhi* (O9, 12, Vi). Quelques autres micro-organismes comme *Salmonella paratyphi* C (O6, 7, Vi) contiennent également l'antigène Vi mais peuvent facilement être identifiés par leurs spécificités antigéniques O.

### b. Méthode d'Agglutination en tube.

Cette méthode ne peut être utilisée que pour les tests de confirmation.

Les suspensions de cellules vivantes peuvent être utilisées comme antigènes, mais il faut prendre soin de manipuler les cultures avec soin pour éviter une contamination du laboratoire. Les antigènes O tués peuvent être préparés en chauffant une suspension saline d'organismes à 100°C pendant 10 minutes, en centrifugeant et en remettant en suspension le dépôt en suspension dans une solution saline. L'utilisation de phénol ou de formaline dans les préparations d'antigènes O doit être évitée car ces substances inhibent l'agglutination de O en présence d'antigènes H.

1. Prélever les colonies d'une culture sur gélose ou bouillon appropriée et préparer une suspension assez légère de bactéries d'environ  $10^9$  germes par mL dans une solution saline stérile (sérum physiologique à 0,85 %).
2. Effectuer des dilutions en série de l'antisérum dans des volumes de 0,5 mL de solution saline de 1:10 à 1:640 ou 1:1280. Les tubes en verre à fond rond d'environ 9 x 85 mm sont les plus appropriés.
3. Ajouter 0,5 mL de suspension d'antigène dans chaque tube.

**Remarque :** Cela double la dilution de l'antisérum.

4. Un tube contrôle contenant 0,5 mL de suspension d'antigène et 0,5 mL de solution saline doit être aussi préparé.
5. Bien agiter les tubes et incuber les tubes avec facteur O à 50°C pendant 4 heures ou les tubes avec facteur Vi à 37°C pendant 2 heures puis à 4°C pendant 18 heures.

**Remarque :** Les tubes avec le facteur Vi doivent être remis à température ambiante avant la lecture.

6. Examinez les tubes pour l'agglutination. Une agglutination positive est observée en cas d'agglutination granulaire évidente. Dans une réaction négative et dans le contrôle salin, l'aspect de la suspension doit rester inchangé, avec une apparence trouble, et montrer un tourbillon typique lors de l'agitation. La valeur du titre est la dilution du dernier tube présentant une agglutination. Des titres égaux ou proches de la valeur attribuée (disponible sur demande) indiquent que l'antigène est du même sérotype que l'antisérum.

Si une agglutination est observée dans le contrôle salin, le test est invalide. Une nouvelle solution d'antigène doit être préparée à partir d'une préparation de culture fraîche de l'organisme et testée à nouveau.

## 5. Antisérum de Typage H

Les antigènes flagellaires (H) de *Salmonella* peuvent se présenter sous la forme de deux entités sérologiques différentes, appelées phases. Les antigènes étiquetés alphabétiquement peuvent apparaître dans les phases 1 ou 2, mais les antigènes étiquetés numériquement n'apparaissent que dans la phase 2. Les antigènes étiquetés par ordre alphabétique sont désignés par : - a-z, et z1-z68 et les antigènes étiquetés par ordre numérique sont désignés par : - 1, 2, 5, 6 et 7. Pour les antigènes étiquetés par ordre alphabétique, certains facteurs sont toujours vus en association avec d'autres. Celles-ci sont énumérées ci-après :

Complexe E - contient e et un ou plusieurs des facteurs suivants : n, h, x, z<sub>15</sub>

Complexe G - contient g et un ou plusieurs des facteurs suivants : f, m, p, q, s, t, u, z<sub>51</sub>, (z<sub>52</sub>, z<sub>62</sub>, z<sub>63</sub>)

Complexe L - contient l et un ou plusieurs des facteurs suivants : v, w, z<sub>13</sub>, z<sub>28</sub>, (z<sub>40</sub>)

Complexe z<sub>4</sub> - contient z<sub>4</sub> et un ou plusieurs des facteurs suivants : z<sub>23</sub>, z<sub>24</sub>, z<sub>32</sub>

Pour les antigènes marqués numériquement, les facteurs 2, 5, 6 et 7 sont toujours associés au facteur 1, par exemple 1, 2 ou 1,7. L'antigène z6 est également lié à ce groupe.

Une fois que le groupe O d'une souche de salmonelle a été déterminé, celle-ci peut être identifiée à l'aide des Antisérum **MAST® ASSURE Salmonella** pour le typage H. Une liste des antisérum **MAST® ASSURE Salmonella** disponibles pour le typage H figure dans le Tableau 3.

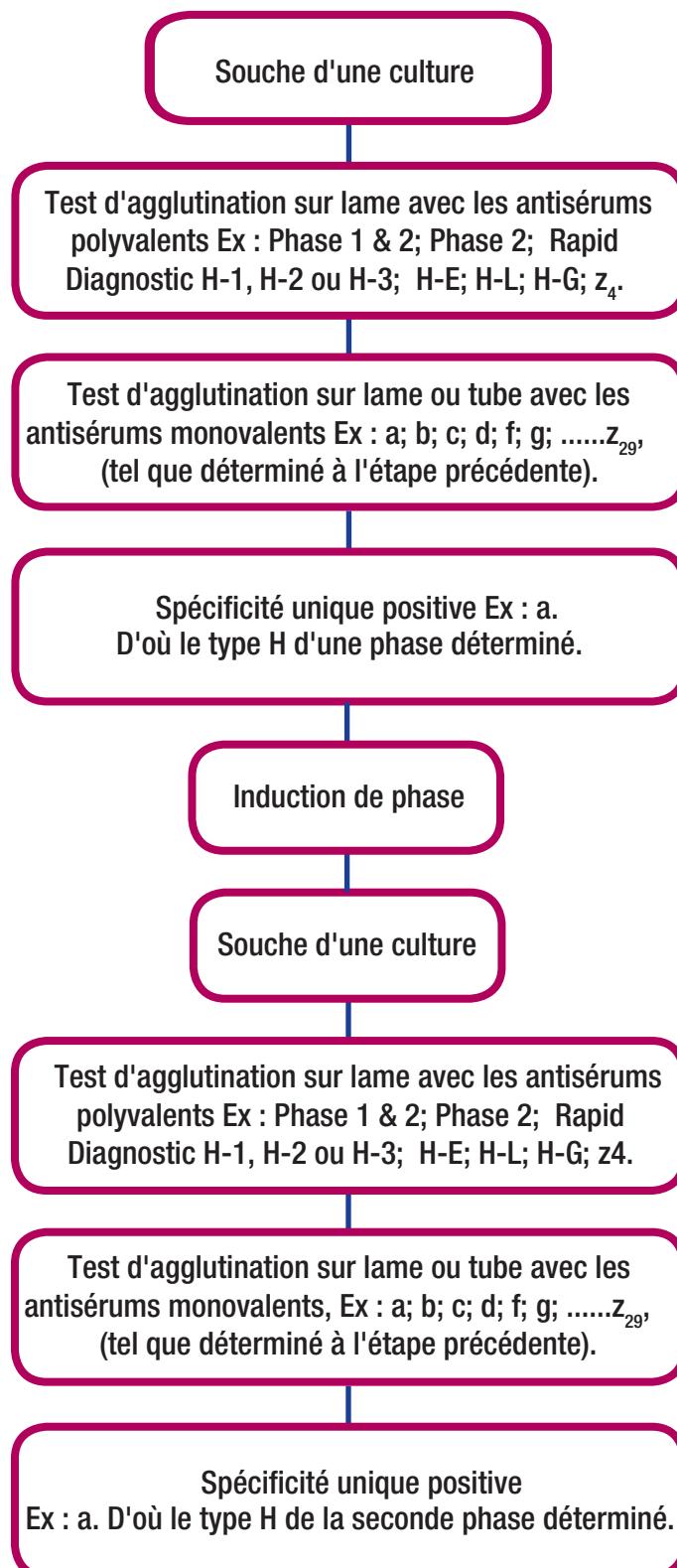
Pour déterminer le type H d'une souche de salmonelle, il faut d'abord utiliser des antisérum H polyvalents pour réduire l'intervalle avant d'utiliser des sérum de typage spécifiques. Ceci est décrit dans le diagramme 2 et selon les méthodes détaillées à la section 6.

**Tableau 3 - Antisérum MAST® ASSURE Salmonella de typage H**

Code Mast	Antisérum H MAST® ASSURE Salmonella	Agglutinines présentes	Commentaires
M14317	Polyvalent Phase 1 & 2	a-z <sub>29</sub>	
M10339	Polyvalent Phase 2 (H-1)	1, 2, 5, 6, 7, z6	
M14324	Rapid Diagnostic 1	b; d; E (n, x, h); r	
M14331	Rapid Diagnostic 2	d; E (n, x, h); k; L (l, v, w)	
M14348	Rapid Diagnostic 3	d; E (n, x, h); G (g, m, s, t); k	
M10327	H - a	a	
M10328	H - b	b	
M10329	H - c	c	
M10330	H - d	d	
M14335	H - E	n, x, h	
M10331	H - e, h	h	Un facteur de H - E
M10338*	H - e, n	n, x.	Un facteur de H - E
M10376*	H - x	x	Un facteur de H - E et H - e, n
M10377*	H - z <sub>15</sub>	z <sub>15</sub>	Un facteur de H - E et H - e, n
M10332	H - G	g, m, s, t	
M10364	H - f	f	Un facteur de H - G
M10365	H - m	m	Un facteur de H - G
M10366	H - p	p	Un facteur de H - G
M10367	H - q	q	Un facteur de H - G
M10368	H - s	s	Un facteur de H - G
M10369	H - t	t	Un facteur de H - G
M10370*	H - u	u	Un facteur de H - G
M10333	H - i	i	
M10334	H - k	k	
M10335	H - L	v, w,	
M10336	H - r	r	
M10337*	H - y	y	
M10378*	H - z	z	
M10379*	H - z <sub>4</sub>	z <sub>4</sub> , z <sub>23</sub> , z <sub>24</sub>	
M10372*	H - z <sub>23</sub>	z <sub>23</sub>	Un facteur de H - z <sub>4</sub>
M10373*	H - z <sub>24</sub>	z <sub>24</sub>	Un facteur de H - z <sub>4</sub>
M10374*	H - z <sub>32</sub>	z <sub>32</sub>	Un facteur de H - z <sub>4</sub>
M10380*	H - z <sub>10</sub>	z <sub>10</sub>	
M10381*	H - z <sub>29</sub>	z <sub>29</sub>	
M10344	H - 2	2	Un facteur de H - 1
M10345	H - 5	5	Un facteur de H - 1
M10346	H - 6	6	Un facteur de H - 1
M10348*	H - z <sub>6</sub>	z <sub>6</sub>	Un facteur de H - 1

\* Délai de livraison de 8 semaines

Diagramme 2 - Procédures de typage H



Ce guide ne remplace pas les notices d'utilisation des produits. C'est une aide à la formation et au laboratoire pour la rédaction des procédures standards sur les méthodes d'identification à l'aide des sérum s bactériens agglutinants.

Bibliographie disponible sur demande.

## 6. Procédures de sérotypage H et interprétation des résultats

Les antisérum MAST® ASSURE salmonelle de typage H sont destinés à l'identification des antigènes H (flagellaires). Les antisérum polyvalents doivent de préférence être utilisés dans les tests d'agglutination sur lame. Les sérum spécifiques pour le typage H peuvent également être utilisés pour l'agglutination qualitative initiale sur lame, bien qu'ils puissent être utilisés dans les tests quantitatifs d'agglutination en tube à des fins de confirmation.

Un isolat est testé initialement contre le sérum Polyvalent H phase 1 & 2 (antigènes spécifiques et non spécifiques). S'il y a agglutination, il doit être testé contre le sérum Polyvalent H phase 2 (antigènes non spécifiques, c'est-à-dire 1, 2, 5, 6, 7, Z<sub>6</sub>). S'il n'est pas agglutiné par ce sérum, l'isolat est supposé être dans la phase spécifique et des tentatives doivent être faites pour déterminer les antigènes de phase 1 en utilisant les Antisérum polyvalents Rapid Diagnostic, les antisérum polyvalents complexe H - G, L ou E ou les antisérum H monovalents, comme décrit ci-dessous.

L'antigène de phase 1 courant, à l'exception du facteur i, peut être identifié par des tests d'agglutination sur lame à l'aide des Antisérum Rapid Diagnostic, comme illustré ci-dessous :

Facteur(s) antigénique(s)	Rapid Diagnostic 1	Rapid Diagnostic 2	Rapid Diagnostic 3
B	+	+	-
d	+	-	+
E	+	+	+
G	-	-	+
k	-	+	+
L	-	+	-
r	+	-	-

Pour les sérotypes H possédant des déterminants communs (par exemple le groupe G : f,g ; g,m ; g,m ; g,p ; g,s,t), des antisérum spécifiques doivent être utilisés pour caractériser davantage le groupe antigénique, par exemple f, m, p, s ou t.

Parfois, une seule des deux phases possédées par une souche diphasique est détectée pour ce test. Pour déterminer les antigènes de l'autre phase, sécuriser la culture dans l'autre phase par induction de phase (voir section 8 - Procédures d'induction de phase).

### a. Agglutination sur lame pour typage des antigènes H.

Les souches identifiées *Salmonella* par leurs caractéristiques morphologiques et biochimiques et dont le groupe O a été déterminé comme indiqué en section 4 peuvent faire l'objet d'un sérotypage H selon les procédures suivantes.

1. Placer deux gouttes de solution saline stérile à 0,85 % (sérum physiologique) sur une lame soigneusement nettoyée. La lame peut être divisée en plusieurs parties à l'aide d'un crayon gras ou d'un crayon pour verre. Avec une anse d'inoculation ou un fil métallique, émulsionner dans chaque goutte de solution saline une colonie de cellules vivantes d'un boîte gélosée ou d'une culture en pente fraîche pour produire un trouble distinct et uniforme.
2. Déposer une goutte d'antisérum polyvalent sur l'une des gouttes d'isolat émulsifié et sur l'autre une goutte de solution saline comme témoin.
3. Mélanger les réactifs en inclinant la lame dans un mouvement de va-et-vient pendant 60 secondes tout en observant sous une lumière indirecte sur un fond noir.
4. L'agglutination distincte durant ce laps de temps, sans agglutination dans le contrôle salin (auto-agglutination), doit être considéré comme un résultat positif.

Un isolat produisant une réaction positive distincte avec un antisérum polyvalent est supposé être une salmonelle portant un ou plusieurs des facteurs antigéniques H contenus dans cet antisérum. Sur la base de ces informations, il convient d'effectuer d'autres tests, comme décrit aux étapes 1 à 3, avec des antisérum H spécifiques afin de révéler le typage antigénique H complet de l'isolat.

### **b. Méthode d'agglutination en tube.**

1. Préparer une suspension de bactéries dans une solution saline au formol 0,5 % (v/v), une culture en bouillon traitée au formol peut aussi être utilisée. Les colonies prélevées d'un milieu d'isolement primaire peuvent être insatisfaisantes pour la détermination du sérotype H en raison de la faible motilité des souches. Ceci peut être amélioré en utilisant des souches cultivées à 37°C pendant 6 à 8 heures dans un bouillon, par sub-culture sur des géloses en pentes humides, en utilisant une gélose à 0,5 % dans une boîte de Pétri ou à 0,2 % dans un tube de Craigie et en collectant le bord avant de la culture après incubation.
2. Effectuer des dilutions en série de l'antisérum dans des volumes de 0,5 mL de solution saline de 1:10 à 1:640 ou 1:1280. Les tubes en verre à fond rond d'environ 9 x 85 mm sont les plus appropriés.
3. Ajouter 0,5 mL de suspension d'antigène à chaque tube.

**Note :** Cela double la dilution de l'antisérum.

4. Un tube contrôle contenant 0,5 mL de suspension d'antigène et 0,5 mL de solution saline doit être aussi effectué.
5. Bien agiter les tubes et les incuber les tubes à 50-52°C pendant 1 à 2 heures.
6. Examinez les tubes pour l'agglutination. Une agglutination positive est observée en cas d'agglutination caractéristique sous la forme d'une flocculation. Dans une réaction négative et dans le contrôle salin, l'aspect de la suspension doit rester inchangé, avec une apparence trouble, et montrer un vortex typique lors de l'agitation. La valeur du titre est la dilution du dernier tube présentant une agglutination. Des titres égaux ou proches de la valeur attribuée (disponible sur demande) indiquent que l'antigène est du même sérotype que l'antisérum. Si une agglutination est observée dans le contrôle salin, le test est invalide. Une nouvelle solution d'antigène doit être préparée à partir d'une préparation de culture fraîche et testée à nouveau.

## **7. Induction de phase des antigènes H**

Il est parfois nécessaire d'isoler la deuxième phase d'une souche diphasique pour l'identification sérologique complète. Une liste des antisérum MAST®ASSURE Salmonella induction de Phase H disponibles figure dans le tableau 4.

Ces antisérum sont stériles dans des flacons d'injection scellés et ne contiennent aucun agent de conservation. Pour l'utilisation, le volume requis peut être prélevé dans des conditions stériles à l'aide d'une seringue et d'une aiguille.

## **8. Procédures d'induction de phase des antigènes H**

L'induction de phase peut se faire selon les procédures suivantes :

### **A. Méthode du Tube de Craigie**

1. Ajouter 0,1 mL d'antisérum H pour lequel la souche agglutine à environ 3 mL de gélose nutritive semi-solide maintenue à 50°C dans un bain-marie. Mélanger le contenu en prenant soin de ne pas faire mousser.
2. Après avoir mélangé le sérum et la gélose, placer aseptiquement un tube de Craigie préalablement stérilisé verticalement dans le milieu, l'extrémité supérieure dépassant largement la surface de la gélose.
3. Une fois le milieu refroidi et solidifié, inoculer la souche à l'aide d'un fil droit dans la gélose à l'intérieur du tube Craigie. Incuber la culture à 37°C une nuit (16-18 heures).

4. Après incubation, prélever les souches de la gélose à l'extérieur du tube de Craigie, les placer dans un bouillon de glucose et incuber à 37 °C pendant 6 à 8 heures. Après cette durée, la croissance doit être suffisante pour évaluer les antigènes H de la phase induite.

5. Déterminer les antigènes H de la phase induite avec les antisérum **MAST® ASSURE - SALMONELLA**.

Pour la méthode, voir les instructions séparées.

Si l'organisme n'apparaît pas à l'extérieur du tube de Craigie à 37°C pendant la nuit (16-18 heures), les cultures doivent être laissées 24 heures de plus, ou réduire de moitié le volume de sérum utilisé pour l'induction de phase à 0,05 mL. Si de telles procédures ne fonctionnent pas, il faut supposer que la souche possède les flagelles d'une seule phase.

## B. Méthode de pontage

1. Creuser une cavité de 50 × 20 mm dans une boîte gélosée nutritive bien séchée.

2. Tremper une bande de papier filtre préalablement stérilisé (environ 36 × 7 mm) dans l'antisérum H pour lequel la souche agglutine et placer cette bande à angle droit sur la cavité. A une extrémité de la bande de papier-filtre, placer un disque de papier-filtre stérile (d'environ 7 mm de diamètre) de sorte que la moitié soit sur la bande contenant le sérum et l'autre moitié sur l'agar.

3. Ensemencer la gélose à l'extrémité de la bande de papier opposée au disque avec des souches provenant d'une culture de 6 à 8 heures d'un bouillon nutritif et incuber une nuit (16-18 heures) à 37°C.

4. Après incubation, retirer le disque de papier avec une pince stérile et le déposer dans un bouillon glucosé. Incuber à 37°C pendant 4 heures. Après cette durée, la croissance doit être suffisante pour évaluer les antigènes H de la phase induite.

5. Déterminer les antigènes H de la phase induite avec les antisérum **MAST® ASSURE - SALMONELLA**.

Pour la méthode, voir les instructions séparées.

Si l'organisme n'apparaît pas sur le disque de papier après incubation à 37°C pendant une nuit (16-18 heures), répéter le test. Si les procédures ne fonctionnent pas à nouveau, il faut supposer que la souche possède les flagelles d'une seule phase.

**Note :** s'assurer que la surface de la boîte gélosée est sèche avant utilisation et que la bande de papier filtre n'est pas trop saturée d'antisérum. Si de l'humidité est présente à la surface de la gélose, les colonies peuvent se développer sur le côté de la cavité et être récupérées sur le disque de papier filtre, ce qui donne des résultats erronés.

**Tableau 4 -Antisérum MAST® ASSURE Salmonella Induction de Phase H Non marqués CE, sur commande spéciale uniquement.**

Code Mast	Antisérum H MAST® ASSURE Salmonella	Agglutinines présentes
M10349/NCE	H - a	a
M10350/NCE	H - b	b
M10351/NCE	H - c	c
M10352/NCE	H - d	d
M10353/NCE	H - e, h	h
M10354/NCE	H - G	g, m, s, t
M10355/NCE	H - i	i
M10356/NCE	H - k	k
M10357/NCE	H - L	l, v, w
M10358/NCE	H - r	r
M10359/NCE	H - y	y
M10360/NCE	H - e, n	n, x
M10361/NCE	H - 1	1, 2, 5, z <sub>6</sub>
M10382/NCE	H - z	z
M10383/NCE	H - z <sub>4</sub>	z <sub>4</sub>
M10384/NCE	H - z <sub>10</sub>	z <sub>10</sub>
M10385/NCE	H - z <sub>29</sub>	z <sub>29</sub>

## 9. Coffrets d'Antisérum

Les antisérum MAST® ASSURE Salmonella sont également disponibles sous forme de coffrets pratiques. Ils sont listés dans le Tableau 5. Ils sont composés de flacons individuels d'antisérum monovalents et polyvalents.

**Tableau 5 - Coffrets d'Antisérum MAST® ASSURE Salmonella**

Code Mast	Composition des kits MAST® ASSURE Salmonella	Présentation
M10303*	<b>Salmonella Antisera Set 1</b> - Ce kit contient 17 antisérum O et Vi. i.e. Polyvalents O et O1, et sérum de groupage O : O2; O4; O7; O8; O9; O9. 46; O3. 10; O1. 3. 19; O11; O13; O6. 14; O16; O18; O21; O35; et Vi	18 x 2 mL
M10304*	<b>Salmonella Antisera Set 2</b> - Ce kit contient 17 antisérum H. i.e. a; b; c; d; e; h; G; i; k; L; r; y; e, n; 1; z; z <sub>4</sub> ; z <sub>10</sub> ; z <sub>29</sub>	17 x 5 mL
M10386*	<b>Salmonella Antisera Set 3</b> - Ce kit contient 4 antisérum H-L. i.e. v; w; z <sub>13</sub> ; z <sub>28</sub>	4 x 5 mL
M10387*	<b>Salmonella Antisera Set 4</b> - Ce kit contient 5 antisérum H-1. i.e. 2; 5; 6; 7; z <sub>6</sub>	5 x 5 mL
M10388*	<b>Salmonella Antisera Set 5</b> - Ce kit contient 7 antisérum H-G. i.e. f; m; p; q; s; t; u	7 x 5 mL
M10389*	<b>Salmonella Antisera Set 6</b> - Ce kit contient 3 antisérum H-z4 et 2 antisérum H-e,n. i.e. z <sub>23</sub> ; z <sub>24</sub> ; X; z <sub>15</sub>	5 x 5 mL
M10390*	<b>Salmonella Antisera Set 7</b> - Ce kit contient les antisérum de groupage O : O2 et O9, les antisérum de typage H : a and d, et l'antisérum Vi	3 x 2 mL + 2 x 5 mL
M10391/NCE*	<b>Salmonella H-sera for Phase Induction</b> - Ce kit contient 17 antisérum d'Induction de Phase H. i.e. a; b; c; d; e; h; G; i; k; L; r; y; e, n; 1; z; z <sub>4</sub> ; z <sub>10</sub> ; z <sub>29</sub>	17 x 5 mL

\* Non marqués CE, sur commande spéciale uniquement, veuillez vérifier les délais de livraison

\* Délai de livraison de 8 semaines

# Antisérums Bactériens

Code MAST

Désignation

Présentation

## MAST® ASSURE

ANTISERUMS MAST® ASSURE DISPONIBLES SUR STOCK

### ANTISERUMS SALMONELLA O - MONOVALENT

M10310	Salmonella O Facteur O2	2 mL
M10311	Salmonella O Facteur O4	2 mL
M10312	Salmonella O Facteur O7	2 mL
M10313	Salmonella O Facteur O8	2 mL
M10314	Salmonella O Facteur O9	2 mL
M10316	Salmonella O Facteur O3,10	2 mL
M10321	Salmonella O Facteur O6,14	2 mL
M10326	Salmonella O Facteur Vi	2 mL

### ANTISERUMS SALMONELLA O - POLYVALENT

M10308	POLY O Facteurs O2, O4, O7, O8, O9, O9, 46, O3, 10 et O1,3,19	2 mL
M10309	POLY O1 Facteurs O11, O13, O6, 14, O16, O18, O21, O35	2 mL
M14294	POLY O A-G	2 mL
M14300	POLY O A-S	2 mL
M92537	Omnivalent (Kauffmann-White groupe A-067)	2 mL

### ANTISERUMS SALMONELLA H - MONOVALENT

M10327	Salmonella H Facteur a	2 mL
M10328	Salmonella H Facteur b	2 mL
M10329	Salmonella H Facteur c	2 mL
M10330	Salmonella H Facteur d	2 mL
M10331	Salmonella H Facteur e, h	2 mL
M14335	Salmonella H Facteur G	2 mL
M10332	Salmonella H Facteur E	2 mL
M10333	Salmonella H Facteur i	2 mL
M10344	Salmonella H Facteur 2	2 mL
M10345	Salmonella H Facteur 5	2 mL
M10346	Salmonella H Facteur 6	2 mL
M10364	Salmonella H Facteur f	2 mL
M10365	Salmonella H Facteur m	2 mL
M10366	Salmonella H Facteur p	2 mL
M10367	Salmonella H Facteur q	2 mL
M10368	Salmonella H Facteur s	2 mL
M10369	Salmonella H Facteur t	2 mL

### ANTISERUM SALMONELLA H - POLYVALENT

M14317	POLYVALENT PHASE 1&2 (a-z29)	2 mL
M10339	POLYVALENT PHASE 2 (H-1)	2 mL
M14324	RAPID DIAGNOSTIC 1 Facteurs b, d, E, r	2 mL
M14331	RAPID DIAGNOSTIC 2 Facteurs b, E, k, l	2 mL
M14348	RAPID DIAGNOSTIC 3 Facteurs d, E, G, k	2 mL

# MAST® ASSURE

## ANTISERUMS *ESCHERICHIA COLI* PATHOGENES

# A. Antisérum MAST® ASSURE *Escherichia coli* pathogènes

## 1. Introduction

### a. Généralités

*Escherichia coli* (*E. coli*) est un groupe de micro-organismes Gram négatifs appartenant à l'ordre des Enterobactériales. Ce sont des bacilles non sporulés, et la plupart sont mobiles et possèdent des flagelles.

De nombreuses souches d'*E. coli* sont naturellement présentes dans l'intestin humain et animal, où elles sont l'organisme prédominant dans la flore commensale aérobie. Certaines souches peuvent cependant être associées à une infection humaine, causant des infections des voies urinaires (la cause la plus fréquente d'infection aiguë et non complexe des voies urinaires), des diarrhées et gastro-entérites, des lésions suppuratives, des abcès dans diverses plaies, des septicémies et méningites néonatales ou des infections animales entraînant des mammites, des pyomètres chez les chiennes, des granulomes chez les volailles, et des diarrhées blanches chez les veaux.

Quatre groupes d'*E. coli* pathogènes peuvent causer la diarrhée, la gastrite aiguë ou la colite en fonction de leurs mécanismes pathogènes : Entéropathogènes (EPEC), Entérotoxigènes (ETEC), Entéro-invasifs (EIEC) et Entérophémorragiques (EHEC) ou maintenant connu sous le nom de Vérotoxinogènes (VTEC).

- Les *E. coli* Entéropathogènes (EPEC) causent l'entérite infantile, surtout dans les pays tropicaux, où les épidémies surviennent souvent dans les hôpitaux et entraînent des taux de mortalité élevés. De telles épidémies sont devenues rares dans les pays industrialisés. Les symptômes comprennent diarrhée, maux d'estomac, fièvre et vomissements.
- Les *E. coli* Entérotoxigènes (ETEC) produisent une entérotoxine thermolabile (ST) ou thermostable (LT) ou les deux. De plus, ils possèdent des facteurs de colonisation spécifiques à l'espèce animale hôte et qui permettent aux organismes d'adhérer à l'épithélium de l'intestin grêle. Les symptômes comprennent la diarrhée, les maux d'estomac, la fièvre et les vomissements.
- Les *E. coli* Entéro-invasifs (EIEC) provoquent une maladie identique à la shigellose chez les patients de tous les agents. Les symptômes comprennent la diarrhée (avec mucus et sang), des maux d'estomac et de la fièvre.
- Les *E. coli* Vérotoxinogènes (VTEC) produisent une ou deux Vérocytotoxines (VT1 et VT2). VT1 est étroitement liée à la toxine dite de Shiga produite par les souches de *Shigella dysenteriae* 1 et est parfois appelée Shiga-like toxine. Les organismes VTEC provoquent un éventail de symptômes allant d'une diarrhée légère et aqueuse à une diarrhée sévère avec de grandes quantités de sang frais dans les selles (colite hémorragique). Une complication importante chez l'enfant est le syndrome hémolytique urémique. Les symptômes comprennent la diarrhée (avec du sang), des maux d'estomac et de la fièvre.

Les groupes les plus courants d'*E. coli* responsables de diarrhées sont indiqués ci-dessous :

Groupe d' <i>E. coli</i> pathogènes	Sérogrroupe Commun d' <i>E. coli</i>
<i>E. coli</i> Entéropathogènes (EPEC)	O26, O44, O55, O86, O111, O114, O119, O125, O126, O127, O128, O142, O158
<i>E. coli</i> Entérotoxinogènes (ETEC)	O6, O8, O15, O20, O25, O27, O63, O78, O85, O115, O148, O153, O159, O167
<i>E. coli</i> Entéro-invasifs (EIEC)	O28, O29, O32, O42, O112, O124, O136, O143, O144, O152, O164
<i>E. coli</i> Vérotoxinogènes (VTEC)	O157

### b. Caractérisation antigénique d'*Escherichia coli*

Les membres de l'espèce *E. coli* possèdent trois principaux types d'antigènes de surface, les antigènes O (somatiques), K (capsulaires) et H (flagellaires). Les antigènes O sont stables à la chaleur et sont à la base du groupage des organismes. Les antigènes H et K sont labiles à la chaleur et normalement seuls les antigènes H sont utilisés pour identifier le sérotype d'un organisme. Le terme antigène K était à l'origine utilisé collectivement pour désigner les antigènes de surface ou capsulaires et était divisé en trois classes L, A et B selon l'effet de la chaleur sur l'agglutinabilité, l'antigénicité et le pouvoir de liaison des anticorps. Les désignations L, A et B ne sont plus utilisées et la détermination des antigènes K n'est plus jugée nécessaire pour l'identification du sérotype d'*E. coli*. Beaucoup d'antigènes que l'on croyait être des antigènes K sont maintenant reconnus comme n'étant pas des antigènes K. Les antigènes K ne sont utilisés à des fins diagnostiques que, par exemple, pour certains *E. coli* toxinogènes d'importance vétérinaire. Ces *E. coli* toxigènes ont des antigènes des pili qui sont antigéniquement différents de ceux des autres

*E. coli*. Les pili sont importants non seulement pour la fixation et l'infection de l'organisme aux cellules épithéliales de la muqueuse intestinale, mais aussi pour la capacité de l'organisme à produire des entérotoxines. Les antigènes K88 et 987P sont présents dans les souches d'*E. coli* associées aux maladies diarrhéiques chez les porcs, et l'antigène K99 aux maladies diarrhéiques chez les agneaux et les veaux. Les *E. coli* Entérotoxinogène (ETEC) chez l'homme possède également des antigènes facteurs de colonisation (CFA I, II et E8775) et il peut en exister d'autres, mais ils ne sont pas couramment utilisés pour le diagnostic clinique<sup>2</sup>.

En 1947, Kauffmann a proposé pour la première fois un système de classification des *E. coli* sur la base de leurs antigènes O. Actuellement, plus de 160 antigènes O, 90 K et 50 H ont été décrits, ce qui constitue la base des tests sérologiques actuels pour les *E. coli* pathogènes.

### c. Antisérum MAST® ASSURE *E. coli* Pathogènes : préparation et conditionnement

Les antisérum MAST® ASSURE *E. coli* Pathogènes sont préparés à partir de lapins hyperimmunisés avec des souches standards *E. coli* possédant des facteurs antigéniques définis. Tous les sérum sont inactivés à 56°C pendant 30 minutes, absorbés pour éliminer les agglutinines à réaction croisée et stérilisés par filtration. Les antisérum MAST® ASSURE *E. coli* Pathogènes offrent une gamme complète d'antisérum O et H pour la détermination des antigènes O et H d'*E. coli* pathogènes. Les antigènes sont normalement identifiés par agglutination qualitative sur lame ou par agglutination quantitative sur tube.

Les antisérum MAST® ASSURE *E. coli* Pathogènes sont fournis en flacons de 2 mL (ou 5 mL) avec un compte-gouttes et contiennent 0,1 % d'azoture de sodium comme agent de conservation. Réactifs prêts à l'emploi pour 50 (125) tests d'agglutination sur lame ou 20 (50) tests d'agglutination sur tube.

## 2. Culture d'*E. coli* - Préparation pour la sérologie

Les souches *E. coli* appartiennent à l'ordre des *Enterobacteriales* et il existe de nombreuses réactions croisées et relations antigéniques entre *E. coli* et d'autres genres dans cette famille, particulièrement *Shigellae*. Il est donc important que les souches ayant une classification sérologique soient d'abord correctement identifiés comme *E. coli* à partir de leurs caractéristiques morphologiques et biochimiques.

## 3. Antisérum de groupage O et de typage H des *E. coli* pathogènes

Le tableau 1 liste les antisérum polyvalents MAST® ASSURE *E. coli* Pathogènes disponibles avec les codes MAST, le tableau 2 énumère les antisérum monovalents MAST® ASSURE *E. coli* Pathogènes disponibles pour le typage H. Il est irréalisable de fournir des sérum pour chaque facteur unique pour tous les antigènes connus d'*E. coli*, mais un large éventail de sérum est disponible dans la gamme MAST® ASSURE suffisante pour identifier avec un degré raisonnable de probabilité la majorité des types d'*E. coli* isolés.

Pour déterminer le groupe O d'une souche d'*E. coli* pathogène, il faut d'abord utiliser des antisérum de groupage O polyvalents pour réduire l'intervalle avant d'utiliser des sérum de groupes spécifiques. Ceci est décrit schématiquement par l'illustration 1 et selon les méthodes détaillées à la section 4.

Les antisérum MAST® ASSURE *E. coli* Pathogènes sont sous forme de coffrets pratiques. Ils sont listés dans le Tableau 4 et comprennent des flacons individuels des antisérum indiqués.

## 4. Procédures de sérotypage et interprétation des résultats

Les antisérum MAST® ASSURE *E. coli* Pathogènes sont destinés à l'identification des antigènes O par agglutination qualitative sur lame, bien qu'ils puissent être utilisés dans les tests quantitatifs d'agglutination en tube à des fins de confirmation.

Les cultures de souches identifiées *E. coli* par leurs caractéristiques morphologiques et biochimiques peuvent être sérotypées selon les procédures suivantes. Voir également le diagramme 1 pour un résumé de la procédure de groupage O et de typage H des *E. coli* Pathogènes.

## A. Groupage des antigènes O

### a. Agglutination sur lame de souches vivantes

1. Placer deux gouttes de solution saline stérile à 0,85 % (sérum physiologique) sur une lame soigneusement nettoyée. La lame peut être divisée en plusieurs parties à l'aide d'un crayon gras ou d'un crayon pour verre. Avec une anse d'inoculation ou un fil métallique, émulsionner dans chaque goutte de solution saline une colonie de cellules vivantes d'un boîte gélosée ou d'une culture en pente fraîche pour produire un trouble distinct et uniforme.
2. Déposer une goutte d'antisérum polyvalent sur l'une des gouttes d'isolat émulsifié et sur l'autre une goutte de solution saline comme témoin.

**Remarque :** Déposer l'antisérum à l'aide du compte-gouttes fourni avec le flacon sans toucher la lame, pour ne pas contaminer l'antisérum avec les souches à tester.

3. Mélanger les réactifs en inclinant la lame dans un mouvement de va-et-vient pendant 60 secondes tout en regardant sous une lumière indirecte sur un fond sombre.
4. L'agglutination distincte durant ce laps de temps, sans agglutination du contrôle salin (auto-agglutination), doit être considéré comme un résultat positif.

Une souche produisant une réaction positive distincte avec un antisérum polyvalent est supposé être un *E. coli* portant un ou plusieurs des facteurs antigéniques O contenus dans cet antisérum. Sur la base de ces informations, il convient d'effectuer d'autres tests sur l'isolat, comme décrit aux étapes 1 à 3, avec des antisérum O monovalents spécifiques afin de révéler le groupage antigénique O complet de l'isolat.

Toujours confirmer le groupe O par agglutination sur lame sur des organismes tués par chaleur (voir ci-dessous).

En général, les sérogroupes des antisérum O polyvalents D1, D2 et D3 sont considérés comme entéropathogènes, les sérogroupes des sérum polyvalents D4, D5 et D6 sont considérés comme entérotoxigènes et les sérogroupes des sérum polyvalents D7 et D8 sont considérés comme entéro-invasifs. Les groupes antigéniques O sont les plus courants.

### b. Agglutination sur lame pour les souches tuées par la chaleur

Si les souches vivantes donnent une réaction positive avec un antisérum O monovalent particulier, préparer une suspension cellulaire dense dans une solution saline à 0,85 % et chauffer la suspension à 100°C pendant 60 minutes ou autoclaver à 121°C pendant 15 minutes puis répéter le test d'agglutination comme ci-dessus avec l'antisérum O monovalent sur la suspension cellulaire chauffée. Ceci devrait être fait pour identifier le type d'antigène O en tant qu'antigène distinct de l'antigène K.

### c. Interprétation des résultats

Si à la fois les cellules vivantes et tuées par la chaleur de l'isolat bactérien, qui a été précédemment caractérisé morphologiquement comme un *E. coli*, s'agglutinent positivement avec un antisérum monovalent, l'organisme doit être considéré comme un *E. coli* pathogène appartenant au groupe sérique représenté par cet antisérum. Toutefois, si les cellules vivantes donnent un résultat d'agglutination positif alors que les cellules tuées par la chaleur ne le font pas, le groupe sérologique O ne peut être considéré comme représenté par cet antisérum monovalent.

### d. Agglutination en Tube

Les tests quantitatifs d'agglutination en tube peuvent être effectués selon la méthode suivante :

1. La suspension cellulaire doit être préparée en prenant les colonies d'une culture de gélose pure appropriée ou d'une culture en bouillon centrifugée et lavée, et en les remettant en suspension dans une solution saline stérile ou une solution de formol salin à 0,5% pour obtenir une suspension assez légère (environ  $7,5 \times 10^8$  germes par mL).

2. Chauffer la suspension pendant 1 heure à 100°C pour obtenir une suspension d'antigène O. On peut aussi utiliser un bouillon de culture traité thermiquement pendant 4 à 6 heures.
3. Effectuer des dilutions en série d'antisérum dans des volumes de 0,5 mL de solution saline de 1:10 à 1:1280. Les tubes en verre à fond rond d'environ 9 x 85 mm sont les plus appropriés.
4. Ajouter 0,5 mL de suspension d'antigène à chaque tube.

**Note :** Cela double la dilution de l'antisérum.

5. Un tube contrôle contenant 0,5 mL de suspension d'antigène et 0,5 mL de solution saline doit être aussi effectué.
6. Bien agiter les tubes et les incuber les tubes à 50°C pendant 16 à 24 heures.
7. Examiner les tubes pour l'agglutination. Une agglutination positive apparaîtra comme un éclaircissement du fluide avec des sédiments qui s'élèvent en une masse granulaire lorsque le tube est tapoté avec le doigt. Le tube de contrôle doit être trouble et tout sédiment doit être remis en suspension lors du tapotement. Les titres d'agglutination de 1:20 ne sont pas considérés comme significatifs. Des titres égaux ou proches de ceux définis pour l'antisérum indiquent que l'antigène est du groupe O spécifique de l'antisérum qui a causé l'agglutination

## B. Sérotypage des antigènes H

La majorité des souches d'*E. coli* sont peu mobiles lorsqu'elles sont isolées pour la première fois ; il est donc normalement nécessaire de les faire passer en série dans plusieurs tubes de milieux gélosés semi-solides de motilité pour améliorer la motilité et le développement de l'antigène H. Le nombre de passages requis peut varier selon les cultures.

### Agglutination en Tube

1. Laisser la souche passer à travers des tubes de Craigie avec un milieu nutritif semi-solide 3 à 5 fois. Ensemencer ensuite cet organisme dans des tubes de bouillon nutritif approprié et incuber à 37 °C pendant 6 à 8 heures.
2. Après incubation, effectuer une dilution 1:2 en ajoutant un volume égal de solution saline à 0,85 % contenant 1 % (v/v) de formol à la culture.
3. Ajouter 2 gouttes du sérum H spécifique requis dans un petit tube à essai, et ajouter 0,45 à 0,5 mL de la suspension traitée. Préparer un tube similaire qui ne contient que la suspension d'antigène.
4. Bien agiter le contenu des tubes et les laisser reposer dans un bain-marie à 50°C-52°C pendant 1 heure.
5. Observer les tubes pour voir s'il apparaît une agglutination spontanée et distincte qui se voit facilement à l'œil nu. Ne pas les secouer car cela perturberait l'agglutination. Un isolat produisant une réaction positive distincte est supposé être un *E. coli* portant les facteurs antigéniques H représentés par cet antisérum.

Des tests quantitatifs par agglutination en tube peuvent être effectués comme décrit dans la section ci-dessus (Groupage des antigènes O, agglutination en tube).

## Limites du Test

1. Les résultats des tests obtenus lors de l'utilisation de ces sérum ne permettent pas de déterminer si un organisme particulier est pathogène. Pour déterminer la pathogénicité, il est nécessaire de tester les facteurs associés à la pathogénicité, par exemple les toxines.
2. En général, les sérotypes couverts par les sérum polyvalents 1, 2 et 3 sont considérés comme entéropathogènes, les sérotypes couverts par les sérum polyvalents 4, 5 et 6 sont considérés comme entérotoxigènes et les sérotypes couverts par les sérum polyvalents 7 et 8 sont considérés comme entéro-invasifs. Cependant, il faut noter qu'il existe d'autres *E. coli* pathogènes qui ne sont pas couverts par ces antisérum.
3. Les souches doivent être caractérisées morphologiquement et biochimiquement comme étant *E. coli* avant d'être testées avec les antisérum, car des réactions croisées avec des membres étroitement apparentés des Enterobacteriaceae peuvent survenir.

**Tableau 1 - Antisérum O Polyvalents MAST® ASSURE *E. coli* Pathogènes**

Code Mast	Antisérum O MAST® ASSURE <i>E. coli</i> Pathogènes	Sérotypes O détectés
M12005*	<i>E. coli</i> O - Polyvalent D1	O1; O26; O86a; O111; O119; O127a, O128;
M12006*	<i>E. coli</i> O - Polyvalent D2	O44; O55; O125; O126; O146; O166
M12007*	<i>E. coli</i> O - Polyvalent D3	O18; O114; O142; O151; O157; O158
M12008*	<i>E. coli</i> O - Polyvalent D4	O6; O27; O78; O148; O159; O168
M12009*	<i>E. coli</i> O - Polyvalent D5	O20; O25; O63; O153; O167
M12010*	<i>E. coli</i> O - Polyvalent D6	O8; O15; O115; O169
M12011*	<i>E. coli</i> O - Polyvalent D7	O28ac; O112ac; O124; O136; O144
M12012*	<i>E. coli</i> O - Polyvalent D8	O29; O143; O152; O164
M14263	<i>E. coli</i> O - Polyvalent 2	O26; O55; O111; O119; O126
M14270	<i>E. coli</i> O - Polyvalent 3	O86; O114; O125; O127; O128
M14287	<i>E. coli</i> O - Polyvalent 4	O44; O112; O124; O142

\* Délai de livraison de 8 semaines

Tableau 2 - Antisérum de groupage O Monovalents MAST® ASSURE *E. coli* Pathogènes

Code Produit	<i>E. coli</i> Sérotype O
M12013*	O1
M12014	O26
M12015*	O86a
M12016	O111
M12017	O119
M12018	O127a
M12019*	O128
M12020*	O44
M12021*	O55
M12022*	O125
M12023*	O126
M12024*	O146
M12025*	O166
M12026*	O18
M12027*	O114
M12028*	O142
M12029*	O151
M12030	O157
M12031*	O158
M12032*	O6
M12033*	O27
M12034*	O78
M12035*	O148
M12036*	O159
M12037*	O168
M12038*	O20
M12039*	O25
M12040*	O63
M12041*	O153
M12042*	O167
M12043*	O8
M12044*	O15
M12045*	O115
M12046*	O169
M12047*	O28ac
M12048*	O112ac
M12049*	O124
M12050*	O136
M12051*	O144
M12052*	O29
M12053*	O143
M12054*	O152
M12055*	O164

\* Délai de livraison de 8 semaines

Tableau 3 - Antisérum de typage H Monovalents MAST® ASSURE *E. coli* Pathogènes

Code Mast	<i>E. coli</i> Sérotype H
M12056*	H-2
M12057*	H-4
M12058*	H-5
M12059*	H-6
M12060*	H-7
M12061*	H-9
M12062*	H-10
M12063*	H-11
M12064*	H-12
M12065*	H-16
M12066*	H-18
M12067*	H-19
M12068*	H-20
M12069*	H-21
M12070*	H-27
M12071*	H-28
M12072*	H-34
M12073*	H-40
M12074*	H-41
M12075*	H-42
M12076*	H-45
M12077*	H-51

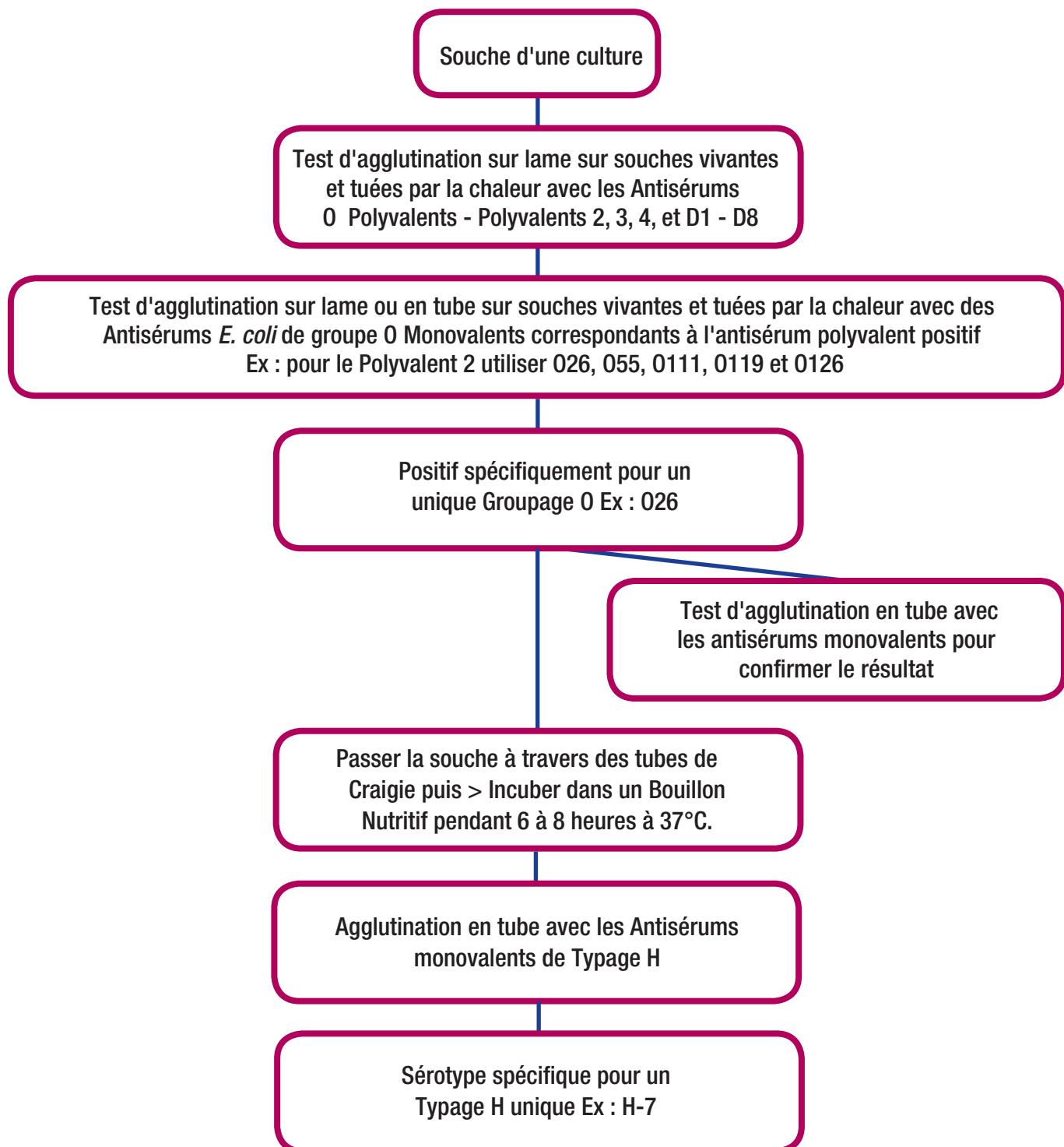
\* Délai de livraison de 8 semaines

Tableau 4 - Coffrets d'antisérum de Groupage O et Typage H Polyvalents MAST® ASSURE *E. coli* Pathogènes

Code Mast	Composition des coffrets MAST® ASSURE <i>E. coli</i> Pathogènes	Présentation
M12001*	<b><i>E. coli</i> O Antisera Set 1</b> - Ce kit contient 8 antisérum O polyvalents et 43 antisérum O monovalents. i.e. Polyvalents : D1 - D8, et sérum de groupage O Monovalents : O1; O26; O86a; O111; O119; O127a, O128; O44; O55; O125; O126; O146; O166; O18; O114; O142; O151; O157; O158; O6; O27; O78; O148; O159; O168; O20; O25; O63; O153; O167; O8; O15; O115; O169; O28ac; O112ac; O124; O136; O144; O29; O143; O152; O164.	51 x 2 mL
M12002*	<b><i>E. coli</i> O Antisera Set 2</b> - Ce kit contient 22 antisérum de typage H. i.e. 2; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12; 16; 18; 19; 20; 21; 27; 28; 34; 40; 42; 45; 51	22 x 5 mL

\* Délai de livraison de 8 semaines

Diagramme 1- Procédures de groupage O et de typage H des *E. coli* pathogènes



Ce guide ne remplace pas les notices d'utilisation des produits. C'est une aide à la formation et au laboratoire pour la rédaction des procédures standards sur les méthodes d'identification à l'aide des sérum bactériens agglutinants.

Bibliographie disponible sur demande.

# Antisérums Bactériens

Code MAST	Désignation	Conditionnement
-----------	-------------	-----------------

## MAST® ASSURE

ANTISERUMS MAST® ASSURE DISPONIBLES SUR STOCK

### ANTISERUMS E.COLI O - MONOVALENT

M12014	<i>Escherichia coli</i> Facteur O26	2 mL
M12016	<i>Escherichia coli</i> Facteur O111	2 mL
M12017	<i>Escherichia coli</i> Facteur O119	2 mL
M12018	<i>Escherichia coli</i> Facteur O127a	2 mL
M12030	<i>Escherichia coli</i> Facteur O157	2 mL

### ANTISERUMS E.COLI O - POLYVALENT

DISPONIBLES SUR STOCK

M14263	<i>E. coli</i> POLY 2 Facteurs O26, O55, O111, O119, O126	2 mL
M14270	<i>E. coli</i> POLY 3 Facteurs O86, O114, O125, O127, O128	2 mL
M14287	<i>E. coli</i> POLY 4 Facteurs O44, O112, O124, O142	2 mL

# MAST® ASSURE ANTISERUMS SHIGELLA

## A. Antisérums MAST® ASSURE Shigella

### 1. Introduction

#### a. Généralités

Le genre *Shigella* est un groupe de micro-organismes Gram négatifs appartenant à l'ordre des *Enterobacteriales*. Il est étroitement lié au genre *Escherichia*. Ce sont des bacilles non sporulés, qui ne possèdent pas de flagelles et qui ne sont donc pas mobiles.

Les *Shigelles* sont les agents responsables de la dysenterie bacillaire classique. La maladie se propage généralement par la voie oro-fécale, bien que des épidémies occasionnelles aient été attribuées à des réserves d'eau non chlorée. La maladie est endémique dans la plupart des pays à climat chaud et est également répandue dans de nombreux pays à climat tempéré. En France et dans d'autres pays, les épidémies sont fréquentes dans les institutions et les écoles où un assainissement plus laxiste permet la propagation de l'organisme.

La gravité de la maladie varie selon l'espèce et le sérotype de la souche responsable, mais elle se caractérise par une diarrhée mucopurulente sévère, et sanglante, accompagnée de fièvre et de malaise. Un bref épisode de diarrhée aqueuse précède souvent le flux sanguin grave. Dans les formes les plus virulentes telles que celle causée par *Shigella dysenteriae*, les symptômes tels que les pertes sévères d'eau et d'électrolytes de l'intestin grêle sont causés par la production de toxines, et la dose infectieuse d'organismes nécessaire pour provoquer la maladie est faible. Après avoir atteint le gros intestin, les organismes se multiplient dans la lumière intestinale où beaucoup adhèrent et envahissent les cellules épithéliales de la muqueuse intestinale. Les micro-organismes se multiplient alors à l'intérieur des cellules épithéliales et se propagent aux cellules adjacentes et des plaques de cellules épithéliales nécrotiques se détachent et des ulcères se forment. Une réponse immunitaire cellulaire se produit, entraînant la présence d'un grand nombre de phagocytes polymorphonucléaires, que l'on peut facilement observer par examen microscopique des selles.

Le diagnostic en laboratoire de l'infection à *Shigella* dépend habituellement de l'isolement et de l'identification de l'organisme causal à partir d'un échantillon de sang ou de fèces du patient. L'examen microscopique de l'échantillon est normalement effectué pour pouvoir distinguer la dysenterie bactérienne de la dysenterie amibienne et étudier l'xsudat cellulaire. Une analyse antigénique plus poussée de l'organisme est souvent nécessaire pour identifier l'espèce ou la souche à des fins épidémiologiques.

#### b. Caratérisation antigénique des *Shigellae*

La classification moderne des *Shigellae* doit beaucoup à Ewing qui s'est basé sur les fondements de Murray, Andrews et Inman et Boyd dont la reconnaissance des antigènes spécifiques de type et de groupe a initié un système de classification pour l'analyse sérologique des *Shigellae*. Les *Shigellae* sont actuellement différenciées en quatre sous-groupes sur la base de leurs antigènes O (somatiques) et différenciées en sérotypes comme indiqué ci-dessous :

- |                 |  |
|-----------------|--|
| <b>Groupe A</b> | - <i>Sh. dysenteriae</i> , contient 12 sérotypes antigéniques distincts.   |
| <b>Groupe B</b> | - <i>Sh. flexneri</i> , contient 6 sérotypes (I-VI) que l'on peut diviser en sous sérotypes en fonction de la présence de facteurs de groupes désignés 3,4; 4; 6; 7; et 7, 8 (voir Tableau 1). |
| <b>Groupe C</b> | - <i>Sh. boydii</i> , contient 18 sérotypes antigéniques distincts.  |
| <b>Groupe D</b> | - <i>Sh. sonnei</i> , ne contient qu'un seul sérotype distinct qui peut se présenter sous deux formes : phase I (lisse) et phase II (rugueuse).  |

**Tableau 1 - Structure Antigénique de *Sh. flexneri***

Sérotype	Sous sérotype	Type d'antigène	Groupe antigénique*
1	1a	I	4
1	1b	I	4,6
2	2a	II	3,4
2	2b	II	7,8
3	3a	III	(3,4),6,7,8
3	3b	III	(3,4),6
4	4a	IV	3,4
4	4b	IV	6
5	5a	V	3,4
5	5b	V	7,8
6		VI	(4)
Variant X		-	7,8
Variant Y		-	3,4

\* Tous les groupes antigéniques ne sont pas listés.

### c. Antisérums MAST® ASSURE Shigella : préparation et conditionnement

Les antisérums **MAST® ASSURE Shigella** sont préparés à partir de lapins hyperimmunisés avec des souches standards d'organismes Shigella possédant des facteurs antigéniques définis. Tous les sérums sont inactivés à 56°C pendant 30 minutes, absorbés pour éliminer les agglutinines à réaction croisée et stérilisés par filtration. Les Antisérums **MAST® ASSURE Shigella** constituent une gamme complète d'antisérums polyvalents et monovalents pour l'agglutination des sérotypes et groupes antigéniques O spécifiques des Shigellae. Les antigènes sont normalement identifiés par agglutination qualitative sur lame. Les résultats positifs peuvent être confirmés par des tests d'agglutination en tube.

Tous les antisérums **MAST® ASSURE Shigella** sont fournis en flacons de 2 mL avec un compte-gouttes et contiennent 0,1 % d'azoture de sodium comme agent de conservation. Réactifs prêts à l'emploi en quantité suffisante pour 50 tests d'agglutination sur lame ou 20 tests d'agglutination sur tube.

## 2. Culture de Shigella - Préparation pour la Sérologie

Les Shigelles appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* et il existe de nombreuses réactions croisées et relations antigéniques entre Shigella et d'autres genres dans cette famille, particulièrement avec le genre *Escherichia*. Il est donc important que les souches subissant une classification sérologique soient d'abord correctement identifiés Shigella à partir de leurs caractéristiques morphologiques et biochimiques.

### 3. Antisérums de groupage et de typage MAST® ASSURE Shigella

Le Tableau 2 liste les antisérums de groupage et de typage **MAST® ASSURE Shigella** disponibles. Ces coffrets contiennent des antisérums monovalents et polyvalents. Les antisérums sont également disponibles sous forme de coffrets pratiques composés de flacons individuels des antisérums indiqués.

Tableau 2 - Antisérum de Groupage et de Typage MAST® ASSURE Shigella

Code MAST	Désignation	Sérotype
M10109	<i>Sh. dysenteriae</i> Polyvalent A	Types 1, 2, 3, 4, 5, 6 et 7
M10110	<i>Sh. dysenteriae</i> Polyvalent A1	Types 8, 9, 10, 11 et 12
M10116	<i>Sh. dysenteriae</i> type 1	Type 1
M10117*	<i>Sh. dysenteriae</i> type 2	Type 2
M10118*	<i>Sh. dysenteriae</i> type 3	Type 3
M10119*	<i>Sh. dysenteriae</i> type 4	Type 4
M10120*	<i>Sh. dysenteriae</i> type 5	Type 5
M10121*	<i>Sh. dysenteriae</i> type 6	Type 6
M10122*	<i>Sh. dysenteriae</i> type 7	Type 7
M10123*	<i>Sh. dysenteriae</i> type 8	Type 8
M10124*	<i>Sh. dysenteriae</i> type 9	Type 9
M10125*	<i>Sh. dysenteriae</i> type 10	Type 10
M10152*	<i>Sh. dysenteriae</i> type 11	Type 11
M10153*	<i>Sh. dysenteriae</i> type 12	Type 12
M10111	<i>Sh. flexneri</i> Polyvalent B	Types I, II, III, IV, V, et VI et groupes (3) 4, 6 et 7 (8)
M10126	<i>Sh. flexneri</i> type I	Type I
M10127	<i>Sh. flexneri</i> type II	Type II
M10128*	<i>Sh. flexneri</i> type III	Type III
M10129*	<i>Sh. flexneri</i> type IV	Type IV
M10130	<i>Sh. flexneri</i> type V	Type V
M10131	<i>Sh. flexneri</i> type VI	Type VI
M10132*	<i>Sh. flexneri</i> group (3)4	Groupe (3) 4
M10133*	<i>Sh. flexneri</i> group 6	Groupe 6
M10134*	<i>Sh. flexneri</i> group 7(8)	Groupe 7 (8)
M10112	<i>Sh. boydii</i> Polyvalent C	Types 1, 2, 3, 4, 5, 6, et 7
M10113	<i>Sh. boydii</i> Polyvalent C1	Types 8, 9, 10 et 11
M10114	<i>Sh. boydii</i> Polyvalent C2	Types 12, 13, 14 et 15
M10154	<i>Sh. boydii</i> Polyvalent C3	Types 16, 17 et 18
M10135*	<i>Sh. boydii</i> type 1	Type 1
M10136	<i>Sh. boydii</i> type 2	Type 2
M10137*	<i>Sh. boydii</i> type 3	Type 3
M10138*	<i>Sh. boydii</i> type 4	Type 4
M10139*	<i>Sh. boydii</i> type 5	Type 5
M10140*	<i>Sh. boydii</i> type 6	Type 6
M10141*	<i>Sh. boydii</i> type 7	Type 7
M10142*	<i>Sh. boydii</i> type 8	Type 8
M10143*	<i>Sh. boydii</i> type 9	Type 9
M10144*	<i>Sh. boydii</i> type 10	Type 10
M10145*	<i>Sh. boydii</i> type 11	Type 11
M10146*	<i>Sh. boydii</i> type 12	Type 12
M10147*	<i>Sh. boydii</i> type 13	Type 13
M10148*	<i>Sh. boydii</i> type 14	Type 14
M10149*	<i>Sh. boydii</i> type 15	Type 15
M10155*	<i>Sh. boydii</i> type 16	Type 16
M10156*	<i>Sh. boydii</i> type 17	Type 17
M10157*	<i>Sh. boydii</i> type 18	Type 18
M10115	<i>Sh. sonnei</i> Polyvalent D	Phase I et II

\* Délai de livraison de 8 semaines

Tableau 2 - Antisérum de groupage et de typage MAST® ASSURE Shigella (SUITE)

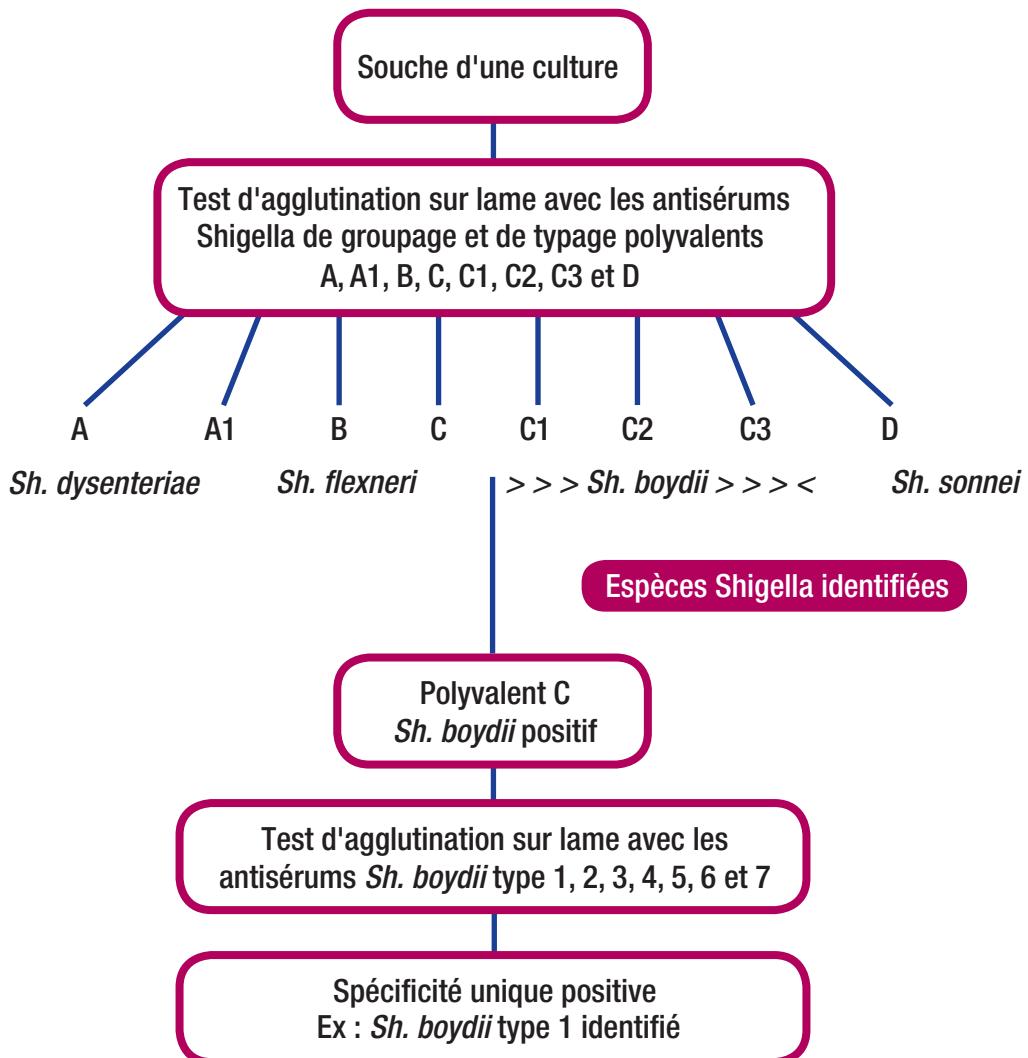
Code MAST	Désignation	Description
M10150	<i>Sh. sonnei</i> phase I	Phase I
M10151	<i>Sh. sonnei</i> phase II	Phase II
M10104*	Shigella Antisera Set 1	8 sérum polyvalents - A, A1, B, C, C1, C2, C3, et D, et 41 sérum monovalents correspondants aux sérum polyvalents
M10105*	Shigella Antisera Set 2	8 sérum polyvalents - A, A1, B, C, C1, C2, C3, et D, et 11 sérum monovalents sera couvrant tous les types et groupes de <i>Sh. flexneri</i> et les phases I et II de <i>Sh. sonnei</i>
M10106*	Shigella Antisera Set 3	8 sérum polyvalents - A, A1, B, C, C1, C2, C3, et D

\* Délai de livraison de 8 semaines

Les antisérum de groupage et de typage MAST® ASSURE Shigella sont destinés à l'identification des antigènes O par agglutination qualitative sur lame.

Les cultures de souches identifiées comme *Shigella* par leurs caractéristiques morphologiques et biochimiques peuvent être sérotypées selon les procédures suivantes. Pour déterminer le type, le groupe ou la phase des espèces *Shigella*, il faut d'abord utiliser des antisérum polyvalents pour réduire l'intervalle avant d'utiliser des sérum spécifiques. (Voir diagramme 1).

Diagramme 1 - Procédures de Sérogroupage et Typage de Shigella



1. Déposer deux gouttes de solution saline stérile à 0,85 % (sérum physiologique) sur une lame soigneusement nettoyée. La lame peut être divisée en plusieurs parties à l'aide d'un crayon gras ou d'un crayon pour verre. Avec une anse d'inoculation ou un fil métallique, émulsionner dans chaque goutte de solution saline une colonie d'une boîte gélosée ou d'une culture en pente fraîche pour produire un trouble distinct et uniforme.
2. Déposer une goutte d'antisérum polyvalent sur l'une des gouttes d'isolat émulsifié et sur l'autre une goutte de solution saline comme témoin.

**Remarque :** Déposer l'antisérum à l'aide du compte-gouttes fourni avec le flacon. Ne pas toucher la lame pour ne pas contaminer l'antisérum avec les souches.

3. Mélanger les réactifs en inclinant la lame dans un mouvement de va-et-vient pendant 60 secondes tout en regardant sous une lumière indirecte sur un fond sombre.
4. L'agglutination distincte durant ce laps de temps, sans agglutination dans le contrôle salin (auto-agglutination), doit être considéré comme un résultat positif. Une faible agglutination doit être considérée comme négative.

Une souche produisant une réaction positive distincte avec un antisérum polyvalent est supposé être une Shigelle des lettres (A-D) contenues dans cet antisérum. Sur la base de ces informations, il convient d'effectuer d'autres tests, comme décrit aux étapes 1 à 4, avec des antisérum monovalents. Si la souche est identifiée *Sh. flexneri*, il faut effectuer le groupage et le typage séparemement.

5. Si les souches vivantes ne donnent pas de réaction d'agglutination positive, préparer une suspension cellulaire dense dans une solution saline à 0,85 % et chauffer la suspension à 100°C pendant 60 minutes ou autoclaver à 121°C pendant 15 minutes puis répéter le test d'agglutination comme décrit ci-dessus aux étapes 1 à 3. Certaines Shigelles possèdent des antigènes capsulaires (K) labiles à la chaleur, qui masquent la présence des antigènes somatiques (O) stables à la chaleur.

## Antisérums Bactériens

Code MAST	Désignation	Présentation
-----------	-------------	--------------

### MAST® ASSURE

ANTISERUMS MAST® ASSURE DISPONIBLES SUR STOCK

#### ANTISERUMS SHIGELLA - MONOVALENT

M10116	<i>Shigella dysenteriae</i> Type 1	2 mL
M10126	<i>Shigella flexneri</i> Type I	2 mL
M10127	<i>Shigella flexneri</i> Type II	2 mL
M10130	<i>Shigella flexneri</i> Type V	2 mL
M10131	<i>Shigella flexneri</i> Type VI	2 mL
M10136	<i>Shigella boydii</i> Type 2	2 mL
M10150	<i>Shigella sonnei</i> Phase I	2 mL
M10151	<i>Shigella sonnei</i> Phase II	2 mL

#### ANTISERUMS SHIGELLA - POLYVALENT

M10109	<i>S.dysenteriae</i> POLY A Types 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	2 mL
M10110	<i>S.dysenteriae</i> POLY A1 Types 8, 9, 10, 11, 12	2 mL
M10111	<i>S.flexneri</i> POLY B Types I, II, III, IV, V, VI, (Groupes (3)4, 6 & 7 (8)	2 mL
M10112	<i>S.boydii</i> POLY C Types 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	2 mL
M10113	<i>S.boydii</i> POLY C1 Types 8, 9, 10, 11	2 mL
M10114	<i>S.boydii</i> POLY C2 Types 12, 13, 14, 15	2 mL
M10154	<i>S.boydii</i> POLY C3 Types 16, 17, 18	2 mL
M10115	<i>S.sonnei</i> POLY D Phase I & II	2 mL

**MAST® ASSURE**

**ANTISERUMS VIBRIO  
CHOLERAЕ**

## A. Antisérum MAST® ASSURE *Vibrio cholerae*

### 1. Introduction

#### a. Généralités

*Vibrio cholerae* appartient au genre *Vibrio*, bacilles Gram-négatifs aérobies ou anaérobies facultatifs en forme de virgule, fermentatif et presque tous oxydase positifs. Ils sont mobiles et ne possèdent qu'un seul flagelle polaire.

Le choléra se caractérise généralement par l'apparition soudaine de vomissements sans effort et d'une diarrhée aqueuse abondante. Bien que les vomissements soient fréquents, l'apparition rapide de la déshydratation et du choc hypovolémique, qui peuvent causer la mort en 12 à 24 heures, sont principalement liés aux selles abondantes, liquides et incolores avec des taches de mucus et une odeur caractéristique de poisson (selles en "eau de riz") qui contiennent peu de protéines et sont très différentes des selles muco-purulantes sanguinolentes de la dysenterie bacillaire. L'anurie se développe, des crampes musculaires apparaissent et le patient s'affaiblit rapidement avec une perte de turgescence cutanée, une tension artérielle basse et un pouls absent ou filant. Les symptômes varient en gravité et il est difficile de distinguer les cas plus légers des autres diarrhées sécrétorielles. Les infections sans symptômes sont également fréquentes.

Le diagnostic du laboratoire consiste à cultiver les vibrions des échantillons de selles dans de l'eau peptonée alcaline, puis à les inoculer en surface sur un milieu solide approprié tel que le Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose (TCBS). Sur ce milieu, les souches de *Vibrio cholerae* apparaissent sous forme de colonies jaunes fermentant le saccharose. Les colonies peuvent ensuite être évaluées pour la production d'oxydase, les tests biochimiques de confirmation et l'agglutination par des antisérum.

#### b. Caractérisation antigénique de *Vibrio cholerae*

Taxonomiquement, *Vibrio cholerae* est une espèce homogène composée d'organismes biochimiquement similaires, partageant un antigène H (flagellaire) commun et étroitement liés génétiquement. La sérologie de *Vibrio cholerae* est basée sur la classification de l'antigène O somatique de Sakazaki et al. 80 sérogroupe ont été identifiés dans l'espèce. Les organismes du sérogroupe O1 sont les agents responsables de la plupart des épidémies et des pandémies de choléra. Une série de flambées pandémiques de choléra O1 provenant du bassin du Bengale ont ravagé le monde au XIXe siècle et au début du XXe siècle. La souche responsable du septième foyer a été étiquetée comme étant le biotype El Tor, car elle a été isolée des pèlerins à la station de quarantaine appelée El Tor. D'autres foyers ont été attribués aux souches du biotype classique.

Les souches de *Vibrio cholerae* de sérotypes O1 peuvent être subdivisées en sérotypes appelés Ogawa, Inaba et Hikojima. Ces sérovars partagent trois antigènes somatiques - a, b et c. L'absorption des antisérum O1 avec les organismes Ogawa produit un sérum qui agglutine les souches Inaba et Hikojima. De même, l'absorption des antisérum O1 par les organismes Inaba produit un sérum qui agglutine les souches Ogawa et Hikojima. Le sérum non absorbé (contenant a, b et c) appelé "antisérum polyclonal *Vibrio cholerae*" agglutine les trois variétés de O1.

Les *Vibrio cholerae* non O1 provoquent une diarrhée légère, parfois sanguinolente, souvent accompagnée de crampes abdominales. Les symptômes peuvent parfois être graves, auquel cas la maladie ressemble au choléra. En outre, certaines souches non O1 produisent des facteurs de virulence, y compris des toxines. Il peut donc être important, à des fins épidémiologiques, de procéder à un sérotypage de la souche dans un isolat.

Au début des années 1990, un nouveau sérototype de *Vibrio cholerae* s'est révélé être l'agent responsable d'une pandémie en Inde et au Bangladesh, et a été nommé sérototype O139. Elle donne lieu à une infection aussi grave que celles causées par le sérototype O1.

#### c. Antisérum MAST® ASSURE *Vibrio cholerae* : préparation et conditionnement

Les antisérum **MAST® ASSURE** *Vibrio cholerae* sont préparés à partir de lapins hyperimmunisés avec des souches standards de *Vibrio cholerae* de type O1 Inaba et Ogawa ou O139 Bengale. Tous les sérum sont inactivés à 56°C pendant 30 minutes, absorbés pour éliminer les agglutinines à réaction croisée et stérilisés par filtration.

Les antisérum **MAST® ASSURE** *Vibrio cholerae* sont des coffrets d'antisérum pour l'agglutination des antigènes O1 spécifiques de *Vibrio cholerae* et de l'antigène O139 (Bengale). Les antigènes sont normalement identifiés par agglutination qualitative des lames. Les résultats positifs peuvent être confirmés par des tests d'agglutination en tube.

Tous les antisérum **MAST® ASSURE Vibrio cholerae** sont fournis en flacons de 2 mL avec un compte-gouttes et contiennent 0,1 % d'azoture de sodium comme agent de conservation. Réactifs prêts à l'emploi, quantité suffisante pour 50 tests d'agglutination sur lame ou quantité suffisante pour 20 tests d'agglutination sur tube.

## 2. Culture de *Vibrio cholerae* - Préparation pour la sérologie

Il est important que les souches subissant une classification sérologique soient d'abord correctement identifiées comme *Vibrio cholerae* par leurs caractéristiques morphologiques et biochimiques.

## 3. Antisérum **MAST® ASSURE Vibrio cholerae**

Le Tableau 1 liste les antisérum **MAST® ASSURE Vibrio cholerae** disponibles, composés d'antisérum monovalents et polyvalents.

**Tableau 1 - Antisérum **MAST® ASSURE Vibrio cholerae****

Code MAST	Désignation
M11002	<i>Vibrio cholerae</i> Polyvalent (O1) - Sérovar Inaba et Ogawa
M11003	<i>Vibrio cholerae</i> (O1) - Sérovar Inaba
M11004	<i>Vibrio cholerae</i> (O1) - Sérovar Ogawa
M15001	<i>Vibrio cholerae</i> O139 "Bengale"
M11001*	<i>Vibrio cholerae</i> (O1) coffret d'antisérum comprenant ; 1 x Antisérum polyvalent - Sérovar Inaba et Ogawa 2 x Antisérum monovalent - Sérovar Inaba et Ogawa

\* Délai de livraison de 8 semaines

## 4. Procédures de typage de l'antigène O pour les souches *Vibrio Cholerae* et interprétation des résultats

Les souches identifiées comme *Vibrio cholerae* par leurs caractéristiques morphologiques et biochimiques peuvent être sérotypées selon les procédures suivantes.

1. Déposer deux gouttes de solution saline stérile à 0,85 % (sérum physiologique) sur une lame soigneusement nettoyée. La lame peut être divisée en plusieurs parties à l'aide d'un crayon gras ou d'un crayon pour verre. Avec une anse d'inoculation ou un fil métallique, émulsionner dans chaque goutte de solution saline une colonie de cellules vivantes d'un boîte gélosée ou d'une culture en pente fraîche pour produire un trouble distinct et uniforme.
2. Déposer une goutte d'antisérum polyvalent sur la zone contenant la souche émulsifiée et une autre goutte d'antisérum sur la zone contenant la solution saline comme témoin.

**Remarque :** Déposer l'antisérum à l'aide du compte-gouttes fourni avec le flacon. Ne pas toucher la lame pour ne pas contaminer l'antisérum avec les souches.

3. Mélanger les réactifs en inclinant la lame dans un mouvement de va-et-vient pendant 60 secondes tout en regardant sous une lumière indirecte sur un fond sombre.
4. L'agglutination distincte durant ce laps de temps, sans agglutination dans le contrôle salin (auto-agglutination), doit être considéré comme un résultat positif.
5. Les souches qui montrent une agglutination uniquement avec du sérum de type Inaba doivent être déclarés comme étant *Vibrio cholerae* de sérovar O1 Inaba et les échantillons qui montrent une agglutination uniquement avec du sérum de type Ogawa doivent être déclarés comme étant *Vibrio cholerae* de sérovar O1 Ogawa. Les échantillons qui montrent une agglutination avec les deux types de sérum doivent être déclarés comme étant *Vibrio cholerae* O1 sérovar Hikojima. Les échantillons qui montrent une agglutination uniquement avec le sérum O139 Bengale doivent être déclarés comme *Vibrio cholerae* O139 Bengale

**Remarque :** Il faut rappeler que le biotype El Tor de *Vibrio cholerae* O1 ne peut être distingué du biotype classique par des moyens sérologiques.

**Royaume Uni**  
**Mast Group Ltd.**  
**Mast House**  
**Derby Road, Bootle**  
**Merseyside L20 1EA**

Tel: +44 (0)151 933 7277  
Fax: +44 (0)151 944 1332  
e-mail: sales@mastgrp.com

**Allemagne**  
**Mast Diagnostica GmbH**  
**Feldstraße 20**  
**DE-23858 Reinfeld**

Tel: +49 (0)4533 2007 0  
Fax: +49 (0)4533 2007 68  
e-mail: mast@mast-diagnostica.de

**www.mast-group.com**

**France**  
**Mast Diagnostic**  
**12 rue Jean-Jacques Mention**  
**CS 91106**  
**80011 Amiens CEDEX 1**

Tél: +33 (0)3 22 80 80 67  
Fax: +33 (0)3 22 80 99 22  
e-mail: info@mast-diagnostic.fr