



DIRECTION GÉNÉRALE DE LA PROTECTION DE LA SANTÉ

OTTAWA

DÉTECTION DE *E. COLI* ENTÉROHÉMORRAGIQUE (EHEC) DANS LES PRODUITS ALIMENTAIRES
ET LES INGRÉDIENTS PAR LA MÉTHODE VIP DE DÉTECTION DE EHEC

Don Warburton
Division de l'évaluation
Bureau de dangers microbiens, Direction des aliments, DGPS
Localisateur postal : 2204A1
Ottawa (Ontario) K1A 0L2

1. **APPLICATION**

Cette méthode est applicable à la détection de la présence de *E. coli* 0157 entérohémorragique dans les produits alimentaires et les ingrédients et vise à déterminer s'il y a conformité aux exigences des articles 4 et 7 de la Loi des aliments et drogues.

2. **DESCRIPTION**

La méthode VIP de détection de EHEC est un essai d'immunoprécipitation visuelle qui permet de détecter la présence de *E. coli* entérohémorragique, y compris *E. coli* 0157:H7. Cette méthode emploie des anticorps hautement spécifiques qui visent des antigènes EHEC et la formule en a été établie spécifiquement pour réduire au minimum la réactivité croisée avec de nombreux entérobactéries tout en maintenant une sensibilité supérieure. Les études de l'AOAC et de la DGPS ont démontré que la méthode donne des résultats satisfaisants avec des aliments contaminés. On peut utiliser cette méthode pour détecter la présence de EHEC dans des produits alimentaires, des ingrédients et des échantillons environnementaux.

3. **PRINCIPE**

La méthode VIP de détection de EHEC utilise un système de réactif exclusif pour former un complexe antigène-anticorps-chromogène en présence de EHEC. Cette méthode assure une très grande sensibilité et spécificité à *E. coli* 0157:H7. On ajoute des échantillons enrichis de la façon requise à l'unité VIP. Tout antigène EHEC se fixera au complexe anticorps chromogène en traversant une membrane de soutien. En présence de EHEC, le complexe antigène-anticorps-chromogène forme une ligne de détection dans la fenêtre de l'échantillon d'essai. L'échantillon continue de s'écouler le long de la membrane pour former une ligne témoin dans la fenêtre de vérification de l'essai, que l'échantillon contienne ou non du EHEC.

4. **DÉFINITION**

Voir l'Appendice A du volume 3.

5. PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

Voir l'Appendice B du volume 3.

6. MATÉRIAUX ET MATÉRIEL SPÉCIAL

- 1) VIP pour dépistage de EHEC (BioControl Systems Inc., téléphone : 206 487-2055, 800 245-0113, télécopieur : 206 487-1476.
- 2) Bouillon de trypticase de soya modifié et novobiocine (mTSB-n). Voir MFLP-80.
- 3) « Stomacher » Colworth 400, mélangeur ou l'équivalent
- 4) Incubateurs capables de maintenir une température de 35 à 37 °C.
- 5) Bain-marie capable de maintenir une température de 100±2 °C (ou autoclave à vapeur réglée à 100 °).
- 6) Sacs « Stomacher » avec filet intérieur (VWR Scientific)
- 7) Filtre pour pipettes. Voir MFLP-80.

7. MARCHE À SUIVRE

On peut analyser chaque unité d'échantillon individuellement ou combiner les unités à analyser. Pour effectuer l'analyse, il faut suivre les instructions suivantes :

7.1 Manipulation des unités d'échantillonnage :

7.1.1 Au laboratoire, avant l'analyse, sauf dans le cas d'aliments de longue conservation, garder les unités d'échantillonnage au réfrigérateur (0-5 °C) ou au congélateur. Tout dépend de la nature du produit. Faire décongeler les échantillons congelés dans un réfrigérateur ou dans des conditions de temps et de température qui empêchent la croissance ou la mort des micro-organismes.

7.1.2 Analyser les unités d'échantillonnage le plus tôt possible après leur arrivée au laboratoire.

7.2 Préparation pour l'analyse :

7.2.1 Avoir à portée de la main du mTSB-n stérile.

7.2.2 Nettoyer la surface de l'aire de travail à l'aide d'un désinfectant convenable.

7.3 Préparation de l'échantillon

7.3.1 Pour que l'unité d'analyse soit vraiment représentative, agiter les liquides ou les solides à écoulement libre jusqu'à ce que le contenu soit homogène. Si l'unité d'échantillonnage est un solide, constituer l'unité d'analyse en prélevant une portion à plusieurs endroits de l'unité d'échantillonnage. Afin de réduire la charge de travail, on peut combiner les unités d'analyse. Il est recommandé que l'unité composée ne contienne pas plus de 500 g.

Note : Dans le cas de certains échantillons (épices, par exemple), il faut utiliser des sacs à « stomacher » munis d'un filet intérieur.

7.3.2 Préparer une dilution de 1:10 de l'aliment en mélangeant ou faisant digérer de façon aseptique 25 g ou mL (l'unité d'analyse) dans 225 mL du bouillon mTSB-n. Pour analyser certains épices, il faut utiliser une dilution plus élevée (voir MFLP 80).

7.3.3 Faire incuber jusqu'au lendemain (au moins 18 heures) à 35 °C.

7.4 Méthode d'essai VIP

7.4.1 Ouvrir l'enveloppe scellée contenant des unités de VIP et prendre le nombre nécessaire. Il faut une unité par échantillon d'essai. Les unités VIP ne sont pas réutilisables. Assurez-vous de resceller sur-le-champ les unités VIP inutilisées dans l'enveloppe contenant un agent déshydratant. Garder à la température de la pièce, à un endroit frais et sombre.

7.4.2 Agiter doucement le bouillon d'enrichissement et laisser ensuite les particules d'aliments se déposer.

7.4.3 Transférer 0,1 mL de bouillon ensemencé pour échantillonner une cupule supplémentaire.

Note : Les particules d'échantillon peuvent ralentir l'écoulement. On recommande d'utiliser des filtres pour pipetter l'échantillon.

7.4.4 Faire incuber à la température de la pièce pendant 10 minutes.

7.5 **Lecture des résultats :**

7.5.1 Examiner l'unité VIP pour y déceler la présence d'une ligne distincte dans la fenêtre de vérification de l'essai. Cette ligne doit être sombre sur le fond blanc et s'étendre sur toute la fenêtre. L'absence de ligne témoin indique que le résultat du test n'est pas valide. Communiquer avec BioControl Technical Services.

7.5.2 Observer la fenêtre de l'échantillon d'essai. La présence d'une ligne distincte décrite ci-dessus indique la présence présumée de micro-organismes. L'absence de ligne est un résultat négatif. Les intensités différentes des lignes d'essai et des lignes témoins sont acceptables tant qu'il y a présence d'une ligne témoin.

Note : Examiner l'unité à 10 minutes. Ne pas lire les résultats après 20 minutes, car des lignes ténues peuvent faire leur apparition à cause d'une coloration non spécifique. Il ne faut pas en tenir compte.

7.5.3 Il faut exécuter des cultures témoins positives et négatives pour se familiariser avec l'interprétation des résultats.

7.5.4 Autoclaver les unités à 121 °C pendant 15 minutes avant de les jeter.

7.6 **Confirmation de résultats positifs d'échantillons VIP :**

7.6.1 Il faut confirmer les résultats positifs en procédant à une culture décrite dans la méthode MLFP 80. Préparer les dilutions nécessaires à partir du mTSB-n.ensemencer les géloses sélectives spécifiées et confirmer par des tests biochimiques et sérologiques.