



DIRECTION GÉNÉRALE DE LA PROTECTION DE LA SANTÉ

OTTAWA

DÉTECTION DES ENTÉROTOXINES DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
(DOSAGE IMMUNOENZYMATIQUE RIDASCREEN POUR LES
ENTÉROTOXINES STAPHYLOCOCCIQUES A, B, C, D, E)

M. Akhtar

Division de la recherche microbiologique

Bureau des dangers microbiens, Direction des aliments

Repère postal : 2204A2

Ottawa (Ontario) K1A 0L2

1. APPLICATION

La présente méthode peut servir à déceler la présence, dans les aliments, d'entérotoxines produites par *Staphylococcus aureus* et par *S. aureus* isolé dans les aliments et les ingrédients alimentaires (8.1-8.4), afin de vérifier la conformité aux articles 4 et 7 de la Loi sur les aliments et drogues. Cette méthode révisée remplace la méthode MFLP-69 datée d'octobre 1993.

2. PRINCIPE

La présence de *Staphylococcus aureus* dans les aliments et les ingrédients alimentaires peut indiquer une manipulation ou des conditions d'hygiène médiocres, mais ne suffit pas pour identifier un aliment ou un ingrédient alimentaire comme vecteur d'intoxication alimentaire. Il faut en effet montrer que le *S. aureus* isolé est entérotoxigène et pouvoir utiliser à son endroit une réaction antigène-anticorps. Les cupules des bandes de microtitrage sont enduites d'anticorps spécifiques pour les entérotoxines staphylococciques A, B, C, D et E, dans l'ordre suivant:

A	anti-entérotoxine staphylococcique A	
B	anti-entérotoxine staphylococcique B	
C	anti-entérotoxine staphylococcique C	anticorps de capture spécifique aux ETS
D	anti-entérotoxine staphylococcique D	
E	anti-entérotoxine staphylococcique E	
F	IgG de mouton	(témoin négatif)
G	IgG de mouton	(témoin négatif)
H	anti-entérotoxine staphylococcique	(témoin positif)

On obtient cette séquence lorsque l'on introduit les bandes de microtitrage de la bonne façon dans le cadre.

En ajoutant la solution échantillon dans les cupules A à G (voir les lettres du côté gauche du cadre) et le témoin positif dans la cupule H, la toxine qui se trouve dans l'échantillon se liera aux anticorps de capture spécifiques. Les éléments constituants de l'échantillon non liés par les anticorps sont ensuite éliminés par lavage. Les toxines liées sont détectées au moyen d'un mélange d'anticorps spécifiques conjugués à la peroxydase. Tout conjugué enzymatique non lié est ensuite éliminé par lavage. On ajoute le substrat enzymatique et le chromogène dans les cupules. Pendant l'incubation, le conjugué enzymatique lié convertit le chromogène incolore qui vire au bleu. L'addition du réactif d'arrêt le fait virer du bleu au jaune (9.1). La mesure se fait par photométrie à 450 nm (longueur d'onde de référence facultative ≥ 600 nm).

RIDASCREEN est une marque déposée de R-Biopharm GmbH, de Darmstadt, Allemagne.

3. DÉFINITIONS

Voir l'annexe A du volume 3.

4. PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

Voir l'annexe B du volume 3.

5. MATÉRIEL ET PRODUITS SPÉCIAUX

- 1) Les réactifs nécessaires pour la trousse d'immunoessai enzymatique RIDASCREEN A, B, C, D, E sont disponibles au Canada chez Bioman Products Inc., 400, boul. Matheson, Unité 4, Mississauga (Ont.) L4Z 1N8. (Tél : (905) 890-6023; Téléc : (905) 890-0370).
- 2) Micropipettes de 20 μ L, 50 μ L, 100 μ L, 200 μ L et 1 000 μ L.

6. MARCHE À SUIVRE

6.1 Instructions générales

- 6.1.1 Ne pas utiliser la trousse après la date de péremption.
- 6.1.2 Il est fortement recommandé de préparer des témoins positif et négatif de l'aliment pour chaque épreuve. Le témoin positif contient des entérotoxines staphylococciques qui peuvent être dangereuses pour le personnel de laboratoire. Éviter tout contact avec la peau et éviter d'ingérer. Il faut manipuler avec prudence tout matériel qui entre en contact avec des entérotoxines staphylococciques. Inactiver en traitant pendant la nuit avec une solution d'hypochlorite de sodium à 0.5 % (poids/volume). Attention: le réactif d'arrêt contient de l'acide sulfurique 1 M qu'il faut neutraliser avant d'ajouter l'hypochlorite de sodium. Le témoin positif contient également de l'azoture de sodium à 0.1 %, qui peut réagir avec la tuyauterie en cuivre et former des azotures métalliques explosifs. Il faut toujours éliminer les matières contenant des azotures avec de grandes quantités d'eau courante.
- 6.1.3 Le réactif d'arrêt contient de l'acide sulfurique 1 M. Éviter tout contact avec la peau. Ne pas interchanger de réactifs entre des trousse portant des numéros de lot différents.

7. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Suivre les instructions du fabricant.

8. RÉFÉRENCES

- 8.1 Park, C.E., Akhtar, M., et Rayman, M.K. 1994. Evaluation of a commercial enzyme immunoassay kit (RIDASCREEN) for detection of staphylococcal enterotoxins A, B, C, D, and E in foods. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**:677-681.
- 8.2 Akhtar, M., Park, C.E., et M.K. Rayman. 1996. Effect of urea treatment on recovery of staphylococcal enterotoxin A from heat processed foods. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**: 3274-3276.
- 8.3 Park, C.E., Warburton, D.W., et P.J. Laffey. 1996. A collaborative study on detection of staphylococcal enterotoxins in foods by an enzyme immunoassay kit (RIDASCREEN). *Int. J. Food Microbiol.* **29**: 281-295.
- 8.4 Park, C.E., M. Akhtar, et K. Rayman. 1996. Efficacy of a commercial enzyme immunoassay kit for the detection of staphylococcal enterotoxins in foods. *Amer. Chem. Soc.* **621**:273-280.