

remel

Wellcogen™ N. meningitidis B/ E. coli K1.

REF ZL24/R3085950230 tests

FR

1 UTILISATION

Wellcogen™ N. meningitidis B/E. coli K1 est un test latex rapide destiné à la détection qualitative de l'antigène du méningocoque (*Neisseria meningitidis*) du groupe B et de l'antigène K1 d'*Escherichia coli*, que l'on retrouve dans les liquides corporels suite à une infection. Le latex peut également servir à la détection de l'antigène spécifique dans des surnageants d'hémocultures et à l'identification de cultures de méningocoque du groupe B ou d'*E. coli* K1. L'antigène du méningocoque du groupe B et l'antigène K1 d'*E. coli* sont impossibles à distinguer l'un de l'autre sur le plan immunologique.

2 RÉSUMÉ

La méningite cérébrospinale et la méningococcémie sont des manifestations fréquentes d'une infection à méningocoque, laquelle peut être qualifiée d'endémique dans de nombreuses régions et survient de façon épidémique partout dans le monde^{6,10}. Il est particulièrement important d'en établir un diagnostic précoce¹² pour pouvoir choisir le traitement approprié. Les organismes infectieux portent des antigènes polysaccharides de surface spécifiques aux groupes, dont une quantité est libérée dans les liquides corporels infectés comme le sérum et le liquide céphalo-rachidien (LCR), et est excrétée dans l'urine^{5,13}. L'antigène présent dans ces liquides corporels peut être détecté au moyen de méthodes immunologiques sensibles telles que l'électrosynérèse et l'agglutination au latex⁵. L'un des sérogroupes de *N. meningitidis* les plus fréquemment associés aux infections à méningocoque est le groupe B^{1,7} ; environ 80 % des méningites néonatales à *E. coli* sont provoquées par des souches portant l'antigène K1¹¹.

3 PRINCIPE DU TEST

Le réactif Wellcogen™ N. meningitidis B/E. coli K1 consiste en des particules de latex de polystyrène enrobées d'anticorps monoclonaux spécifiquement dirigés contre l'antigène du méningocoque du groupe B. Ces particules de latex s'agglutinent en présence d'une quantité suffisante d'antigènes homologues, soit dans des liquides corporels soit dans des cultures de l'organisme.

L'antigène polysaccharide K1 d'*E. coli* affiche une similitude structurale⁹ et immunologique^{4,8} avec l'antigène du méningocoque du groupe B, et le réactif Wellcogen™ N. meningitidis B/E. coli K1 ne fait pas de distinction entre les deux. Par conséquent, le réactif peut participer au diagnostic d'une méningite à méningocoque et d'une méningite néonatale à *E. coli*.

Certains échantillons de liquide corporel montrent une aggrégation non spécifique des particules de latex, et une préparation de latex de contrôle est fournie afin de les identifier.

4 DÉFINITIONS DES SYMBOLES

REF	Numéro de référence
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Contenu suffisant pour <N> tests
	Consulter la notice d'utilisation
	Limites de température (Temp. de stockage)
LOT	Code de lot (Numéro de lot)
	Utiliser avant (Date de péremption)
	Fabricant
	Ajouter de l'eau

5 CONTENU DE LA TROUSSE, PRÉPARATION POUR UTILISATION ET CONSERVATION

La trousse Wellcogen™ N. meningitidis B/E. coli K1 contient suffisamment de réactifs pour effectuer 30 tests.

Voir également les **Précautions**, section 6.

Tous les composants doivent être stockés entre 2 et 8 °C ; dans ces conditions, ils conserveront leur activité jusqu'à la date de péremption de la trousse.

Avant utilisation, amener tous les réactifs à température ambiante (18-30 °C) et mélanger. Remettre les réactifs inutilisés au réfrigérateur après utilisation.



Notice d'utilisation

Cartes de réaction jetables (1 paquet)
Bâtonnets de mélange jetables (2 paquets)
Compte-gouttes jetables (1 boîte)
Tétine en caoutchouc noire (1)

TEST LATEX

Latex test

Un flacon compte-gouttes (capuchon marron) contenant une suspension à 0,5 % de particules de latex de polystyrène dans un tampon glycine salin, pH 8,2, avec du Bronidox® à 0,05 % comme conservateur. Les particules de latex sont recouvertes avec un anticorps monoclonal murin dirigé contre l'antigène de *N. meningitidis* groupe B.

CONTROL LATEX

Latex de contrôle

Un flacon compte-gouttes (capuchon bleu foncé) contenant une suspension à 0,5 % de particules de latex de polystyrène dans un tampon glycine salin, pH 8,2, avec du Bronidox® à 0,05 % comme conservateur. Les particules de latex sont recouvertes avec un anticorps monoclonal murin dirigé contre *Bordetella bronchiseptica*.

Les suspensions de latex sont fournies prêtes à l'emploi et doivent être conservées en position verticale entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption de la trousse. Après un stockage prolongé, le latex peut légèrement s'agréger ou sécher en haut du flacon. Si cela se produit, le flacon de latex doit être vigoureusement agité pendant quelques secondes jusqu'à ce que la remise en suspension soit effectuée. NE PAS CONGELER.

CONTROL +

Contrôle positif polyvalent

Un flacon (capuchon rouge) contenant des extraits bactériens lyophilisés, notamment l'antigène d'une souche représentative de *N. meningitidis* du groupe B et/ou l'antigène K1 d'*E. coli*. Contient 0,01 % de bronopol avant reconstitution et 0,004 % une fois la reconstitution effectuée.

Reconstituer avec 3,6 ml d'eau distillée stérile. Après ajout de l'eau, laisser le flacon reposer à la verticale pendant quelques minutes, puis l'agiter par un mouvement de rotation pour mélanger. Stocker l'antigène reconstitué entre 2 et 8 °C pour une conservation jusqu'à 6 mois.

CONTROL -

Contrôle négatif

Un flacon compte-gouttes (capuchon blanc) contenant un tampon glycine salin, pH 8,2, avec du Bronidox® à 0,05 % comme conservateur.

6 PRÉCAUTIONS



Les réactifs sont exclusivement destinés à une utilisation diagnostique *in vitro*.

Usage exclusivement réservé à des professionnels.

Mise en garde : ce produit contient du caoutchouc sec naturel.

Se reporter à la fiche de données de sécurité (FDS) et à l'étiquetage du produit pour prendre connaissance des informations relatives aux composants potentiellement dangereux.

ASPECTS SANITAIRES ET DE SÉCURITÉ

- 6.1 Conformément aux principes de bonnes pratiques de laboratoire, il est fortement recommandé de traiter les liquides corporels comme potentiellement infectieux et de les manipuler en observant toutes les précautions nécessaires.
- 6.2 En cas de manipulation d'un milieu d'hémoculture pour analyse radiométrique, les règles élémentaires de protection contre le rayonnement doivent être respectées. Celles-ci comprennent les suivantes :
- a) Le matériau radioactif doit être conservé dans une zone réservée, dans un conteneur agréé.
 - b) Toute manipulation avec radioactivité doit avoir lieu dans une zone réservée.
 - c) Ne pas pipeter à la bouche un matériau radioactif.
 - d) Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone réservée.
 - e) Un lavage de mains soigneux doit être effectué après utilisation d'un matériau radioactif.
 - f) Le responsable local de la protection contre le rayonnement doit être consulté pour connaître les exigences concernant l'élimination.
- 6.3 Les instruments non jetables doivent être stérilisés par toute procédure appropriée après utilisation, la méthode de prédilection étant cependant le passage à l'autoclave pendant 15 minutes à 121 °C. Les éléments jetables doivent être passés à l'autoclave ou incinérés. Les matériaux potentiellement infectieux qui seraient déversés doivent immédiatement être éliminés avec du papier absorbant, et les zones contaminées doivent être tamponnées avec un désinfectant antibactérien standard ou de l'alcool à 70 %. Ne PAS utiliser d'hypochlorite de sodium. Les matériaux utilisés pour nettoyer les déversements, y compris les gants, doivent être mis au rebut en tant que déchets nocifs pour l'organisme.
- 6.4 Ne pas pipeter à la bouche. Porter des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons et de la réalisation du test. Se laver soigneusement les mains lorsque la procédure est terminée.
- 6.5 Lorsqu'ils sont utilisés conformément aux principes des bonnes pratiques de laboratoire, aux normes à respecter d'hygiène du travail et aux instructions données dans la présente notice d'utilisation, les réactifs fournis ne sont pas considérés comme présentant un danger pour la santé.

PRÉCAUTIONS ANALYTIQUES

- 6.6 Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption indiquée.
- 6.7 Les réactifs latex doivent être amenés à température ambiante (entre 18 et 30 °C) avant utilisation. Les réactifs latex qui montrent des signes d'aggrégation ou un aspect « granuleux » peuvent avoir subi une congélation et ne doivent absolument pas être utilisés.
- 6.8 Il est important, lors de l'utilisation des flacons compte-gouttes, de maintenir ceux-ci verticalement et que la goutte se forme à la pointe de la canule. Si la canule est mouillée, il y aura un volume incorrect se formant vers l'extrémité, et non à la pointe ; dans ce cas, sécher la canule avant de continuer.
- 6.9 Les réactifs fournis avec chaque trousse sont correspondants en termes de performances et ne doivent pas être utilisés avec des réactifs provenant d'une trousse dont le numéro de lot est différent.
- 6.10 Ne pas toucher les zones de réaction sur les cartes.
- 6.11 Ce test autorise l'utilisation d'agitateurs rotatifs mécaniques. Les caractéristiques suivantes ont été estimées satisfaisantes :
- a) Agitateur rotatifs à plateau fonctionnant à 100-150 rpm et avec un diamètre orbital de 3,0 à 3,4 cm. La carte doit être retirée de l'agitateur et bougée brièvement par un mouvement de bascule avant la lecture.
 - b) Agitateurs rotatifs orbitaux (également dénommés agitateurs rotatifs dimensionnels) fonctionnant à 25 rpm avec un angle de rotation approximatif de 9 à 10,5 degrés, ou fonctionnant à 18 rpm avec un angle de rotation de 16 à 17,5 degrés.
- 6.12 Éviter la contamination microbienne des réactifs car celle-ci pourrait donner lieu à des résultats erronés.

7 PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

- 7.1 **Les échantillons de liquides corporels** (par exemple de LCR, de sérum, d'urine) doivent être testés le plus rapidement possible après le prélèvement. Si le liquide ne peut pas être immédiatement testé, il peut être conservé jusqu'au lendemain entre 2 et 8 °C, ou plus longtemps s'il est conservé congelé entre -15 et -25 °C. S'il est nécessaire de soumettre l'échantillon à des analyses bactériologiques, celles-ci doivent être préparées avant d'effectuer le test au latex afin d'éviter une contamination de l'échantillon.
- 7.2 **Les hémocultures** peuvent être échantillonnées et testées après 18 à 24 heures d'incubation à 37 °C et/ou dès lors qu'une croissance bactérienne est observée.
- 7.3 **Cultures sur boîtes.** Les colonies isolées ayant poussé sur un milieu gélosé enrichi (par exemple gélose au sang, gélose chocolat) peuvent être testées après une incubation d'une nuit à 37 °C. Une coloration de Gram doit être effectuée pour aider à l'interprétation du résultat du test au latex.

8 PROCÉDURE DE TEST

MATÉRIEL REQUIS FOURNI

Voir le **Contenu de la trousse**, section 5.

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Bain-marie à ébullition
Centrifugeuse de laboratoire ou filtres à membrane (0,45 µm)
Agitateur rotatif (facultatif ; se reporter aux **Précautions**, section 6)

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS CLINIQUES

- 8.1 **Les échantillons de liquides corporels** doivent impérativement être chauffés³ avant de procéder au test par la procédure Wellcogen™, afin de réduire au maximum le risque de réactions non spécifiques. Les procédures suivantes sont recommandées :
- a) Pour le LCR et l'urine, chauffer l'échantillon pendant 5 minutes dans un bain-marie à ébullition. Laisser refroidir l'échantillon jusqu'à température ambiante (18 à 30 °C) et le clarifier par centrifugation ou filtration avec membranes (0,45 µm) avant d'effectuer le test. Pour une sensibilité maximale, les échantillons d'urine peuvent être concentrés jusqu'à 25 fois dans un concentrateur Minicon® B-15. Clarifier comme indiqué ci-dessus avant d'effectuer le test.
 - b) Pour le sérum, ajouter 3 volumes d'EDTA (acide éthylène diamine tétra acétique) disodique 0,1 M, pH 7,4, par volume de sérum, chauffer l'échantillon pendant 5 minutes dans un bain-marie à ébullition, laisser refroidir jusqu'à température ambiante (18 à 30 °C) et clarifier comme indiqué plus haut. Une solution d'EDTA appropriée (10 ml) est disponible (n° de code ZL29/R30164501).
- 8.2 **Hémocultures.** Centrifuger un échantillon d'1 à 2 ml pour former un culot d'hématies, par exemple à 1000 x g pendant 5 à 10 minutes. Effectuer le test latex sur le surnageant.
- S'il se produit une réaction non spécifique avec un surnageant d'hémoculture (voir l'**Interprétation des résultats**, section 10), chauffer l'échantillon dans un bain-marie à ébullition pendant 5 minutes, le laisser refroidir jusqu'à température ambiante (18 à 30 °C), le clarifier par centrifugation et effectuer à nouveau le test.
- 8.3 **Cultures sur boîtes.** Effectuer le test directement à partir de la boîte de culture.

PROCÉDURE

Il est conseillé de lire attentivement les **Précautions**, section 6, avant d'effectuer le test.

REMARQUE : si le volume disponible de l'échantillon à tester est limité, l'échantillon doit d'abord être utilisé avec le latex test, et en cas d'obtention d'un résultat positif, il doit être ensuite testé avec le latex de contrôle. Si l'échantillon est d'un volume suffisant, il doit être testé simultanément avec les latex test et contrôle.

a, b)	Échantillons de liquides corporels et surnageants d'hémocultures :	
Étape 1	Traiter l'échantillon comme décrit dans la Préparation des échantillons cliniques , section 8.	
Étape 2	Agiter les réactifs latex.	
Étape 3	Pour chaque échantillon à tester, déposer 1 goutte de latex de test dans un cercle d'une carte de réaction, et 1 goutte de latex de contrôle dans un autre cercle. S'assurer que les flacons compte-gouttes sont maintenus en position verticale pour verser une goutte précise. (Voir les Précautions , section 6).	1 goutte
Étape 4	À l'aide d'un compte-gouttes jetable, verser 1 goutte (environ 40 µl) de l' échantillon à tester à côté de chaque goutte de latex.	1 goutte
Étape 5	Mélanger le contenu de chaque cercle avec un bâtonnet de mélange et étaler pour recouvrir la zone entière du cercle. Utiliser un bâtonnet différent pour chaque cercle et le jeter après utilisation de façon à ce qu'il soit éliminé en toute sécurité.	
Étape 6	Bouger la carte en la basculant lentement et observer la formation d'une agglutination pendant 3 minutes, en maintenant la carte à une distance normale de lecture (25 à 35 cm des yeux). Ne pas utiliser de loupe grossissante. Un agitateur rotatif mécanique peut être utilisé pendant 3 minutes (voir les Précautions , section 6). Les résultats obtenus sont clairs et facilement interprétables dans des conditions normales d'éclairage.	3 min
Étape 7	Jeter la carte de réaction utilisée de façon à ce qu'elle soit éliminée en toute sécurité.	
c)	Cultures sur boîtes.	
Étape 1	Agiter les réactifs latex.	
Étape 2	Pour chaque culture à tester, déposer 1 goutte de latex de test dans un cercle sur une carte de réaction, et 1 goutte de latex de contrôle dans un autre cercle. Remarque : il est indispensable d'utiliser le latex de contrôle pour les cultures suspectées contenir <i>E. coli</i> .	1 goutte
Étape 3	Prendre un bâtonnet de mélange et prélever une petite quantité de la culture en la touchant avec l'extrémité aplatie du bâtonnet. À titre indicatif, il convient de prélever une quantité à peu près équivalente à 1 grosse colonie.	Échantillon de croissance
Étape 4	Émulsionner l'échantillon de culture dans la goutte de latex test en frottant avec l'extrémité aplatie du bâtonnet. Frotter énergiquement, mais pas trop vigoureusement pour ne pas détériorer la surface de la carte. Étaler le latex pour recouvrir le cercle autant que possible. Jeter le bâtonnet de mélange de façon à ce qu'il soit éliminé en toute sécurité.	
Étape 5	Avec un bâtonnet différent, émulsionner un échantillon de culture similaire dans le latex de contrôle .	
Étape 6	Bouger la carte en la basculant lentement et observer la formation d'une agglutination pendant 20 secondes, en maintenant la carte à une distance normale de lecture (25 à 35 cm des yeux). Ne pas utiliser de loupe grossissante. Les résultats obtenus sont clairs et facilement interprétables dans des conditions normales d'éclairage.	20 s
Étape 7	Jeter la carte de réaction utilisée de façon à ce qu'elle soit éliminée en toute sécurité.	

9 CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les procédures ci-après doivent être effectuées initialement avec chaque livraison de trousse de test et avec chaque série d'échantillons destinés au test. En pratique, une série peut être définie comme étant une période de tests d'une durée allant jusqu'à 24 heures. Tout écart par rapport aux résultats escomptés indique un possible problème au niveau des réactifs, qu'il est impératif de résoudre avant toute utilisation ultérieure avec des échantillons cliniques.

INSPECTION VISUELLE

Il est nécessaire de toujours vérifier l'absence d'agrégation au niveau des suspensions de latex lorsqu'elles sont déposées sur la carte de réaction ; s'il y a des signes d'agglomération avant l'ajout de l'échantillon destiné au test, la suspension ne doit pas être utilisée. Après un stockage prolongé, le latex peut légèrement s'être agrégé ou avoir séché en haut du flacon. Si ce phénomène se produit, le flacon doit être vigoureusement agité pendant quelques secondes jusqu'à ce que la remise en suspension soit effectuée.

PROCÉDURE DE CONTRÔLE POSITIF

La réactivité du test peut être confirmée en ajoutant un contrôle positif polyvalent dans un cercle de réaction pour lequel l'échantillon destiné au test n'a pas entraîné d'agglutination du latex de test après rotation pendant 3 minutes.

Étape 1	Utiliser un compte-gouttes jetable pour ajouter 1 goutte de contrôle positif dans le cercle contenant le latex de test et l'échantillon.	1 goutte
Étape 2	Mélanger avec un bâtonnet de mélange et jeter celui-ci de façon à ce qu'il soit éliminé en toute sécurité.	
Étape 3	Bouger la carte en la basculant, manuellement ou avec un agitateur rotatif, pendant 3 minutes supplémentaires. Après cela, une agglutination avérée doit être visible dans le latex de test.	3 min
Étape 4	Jeter la carte de réaction utilisée de façon à ce qu'elle soit éliminée en toute sécurité.	

PROCÉDURE DE CONTRÔLE NÉGATIF

Si au moins un échantillon testé dans une série donne un résultat négatif avec les latex test et de contrôle (ou avec le latex test seul quand aucun latex de contrôle n'a été utilisé), cela constitue un contrôle négatif valide et il n'est pas nécessaire de procéder à d'autres tests.

Si un échantillon testé donne une agglutination avec le latex test et une absence d'agglutination avec le latex de contrôle, le latex test doit alors être testé, soit avec le contrôle négatif soit avec un milieu d'hémoculture non inoculé, selon les cas (voir ci-dessous).

Étape 1	Déposer 1 goutte de latex de test dans un cercle sur une carte de réaction.	1 goutte
Étape 2	Verser 1 goutte de contrôle négatif ou de milieu d'hémoculture non inoculé à côté du latex de test.	1 goutte
Étape 3	Mélanger avec un bâtonnet de mélange et jeter celui-ci de façon à ce qu'il soit éliminé en toute sécurité.	
Étape 4	Bouger la carte en la basculant, manuellement ou avec un agitateur rotatif, pendant 3 minutes. Après cela, il ne devrait y avoir aucune agglutination significative dans le latex test.	3 min
Étape 5	Jeter la carte de réaction utilisée de façon à ce qu'elle soit éliminée en toute sécurité.	

Pour les tests avec des échantillons de liquides corporels, le contrôle négatif fourni avec la trousse doit être utilisé.

Pour les tests avec des hémocultures, un échantillon de milieu d'hémoculture non inoculé provenant de la même source que l'échantillon doit être utilisé en tant que contrôle négatif. Le test d'un milieu non inoculé est important car des résultats faussement positifs peuvent être observés avec certaines formulations de milieu d'hémoculture.

REMARQUES :

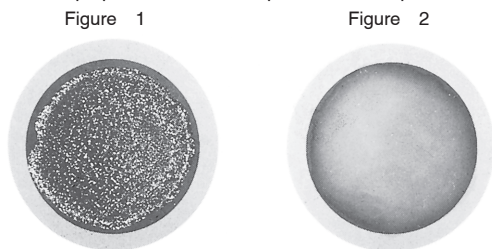
- Des échantillons positifs et négatifs précédemment soumis au test, séparés en parties aliquotes et conservés à une température entre -15 et -20 °C ou inférieure, peuvent être le cas échéant utilisés en tant que contrôles respectivement positifs et négatifs. Le contrôle positif peut également être utilisé à la place de l'échantillon destiné au test.
- Pour les tests d'identification de colonies, les performances des réactifs latex test et de contrôle peuvent être confirmées avec des cultures fraîches, sur une nuit, de souches de référence de bactéries, en appliquant la méthode décrite dans la **Procédure de test** (c). Les souches de référence utilisables sont :
ATCC 13090 – *N. meningitidis* groupe B (réaction positive)
ATCC 23503 – *E. coli* type K1 (réaction positive)
ATCC 13077 – *N. meningitidis* groupe A (réaction négative)
Les souches ATCC 13090 et ATCC 23503 doivent donner une agglutination avec le latex de test et une absence d'agglutination significative dans le latex de contrôle ; ATCC 13077 doit donner une absence d'agglutination significative avec le latex de test comme avec le latex de contrôle.

10 RÉSULTATS

LECTURE DES RÉSULTATS

Une réaction **positive** est indiquée par le développement d'un profil d'agglutination dans les 3 minutes (20 secondes pour le test de détection sur colonies) suivant le mélange du latex et de l'échantillon à tester, avec une agglomération clairement visible des particules de latex (figure 1).

La vitesse à laquelle apparaît l'agglutination et sa qualité dépendent de la puissance de l'antigène ; il peut y avoir de gros agglomérats apparaissant quelques secondes après le mélange comme de petits agglomérats qui se développent plutôt lentement. Pour les identifications sur culture, la plupart des réactions positives sont quasi-instantanées.



Dans une réaction **négative**, le latex ne s'agglutine pas et l'aspect laiteux reste notablement inchangé tout au long du test (figure 2). Il convient cependant de noter que des traces subtiles de granularité peuvent être détectées dans des profils négatifs, en fonction de l'acuité visuelle de l'opérateur. Dans les identifications sur culture, certaines souches peuvent occasionner une agrégation « filandreuse » du latex sur un fond laiteux ; ce phénomène doit être interprété comme une réaction négative.

Les particules de latex ne sont pas les mêmes que celles utilisées dans d'autres trousses Wellcogen™ et donnent une agglutination plus fine.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Résultat positif

Une agglutination évidente au niveau du latex test, accompagnée d'une absence d'agglutination au niveau du latex de contrôle, témoigne de la présence de l'antigène du méningocoque groupe B ou de l'antigène K1 d'*E. coli* dans le liquide corporel ou l'hémoculture, ou confirme l'identité de la culture. En règle générale, un résultat positif obtenu pour un échantillon néonatal évoque une infection à *E. coli* K1 ; chez les patients plus âgés, la présence du méningocoque du groupe B est plus vraisemblable.

Résultat négatif

Avec un liquide corporel ou un surnageant d'hémoculture, l'absence d'agglutination avec les deux réactifs signifie que l'antigène du méningocoque groupe B ou l'antigène K1 d'*E. coli* n'est pas présent dans le liquide testé à un niveau détectable ; elle n'élimine pas la possibilité d'une infection à méningocoque ou à *E. coli*, et si les symptômes persistent, il peut être souhaitable d'effectuer le test sur des échantillons autres ou prélevés ultérieurement, ou encore après concentration des échantillons d'urine.

Avec une culture, l'absence d'agglutination au niveau des deux réactifs évoque l'improbabilité d'une présence de *N. meningitidis* groupe B ou d'*E. coli* K1.

Résultat non interprétable

Une agglutination visible au niveau du latex de contrôle, qu'elle soit plus marquée ou moins marquée que celle observée au niveau du latex de test, indique une réaction non spécifique. Dans la plupart des cas, les réactions non spécifiques avec des liquides corporels peuvent être éliminées en chauffant et en clarifiant l'échantillon (voir la **Préparation des échantillons cliniques**, section 8). S'il se produit une réaction non spécifique avec un surnageant d'hémoculture, chauffer l'échantillon dans un bain-marie à ébullition pendant 5 minutes, le laisser refroidir jusqu'à température ambiante (18 à 30 °C), le clarifier par centrifugation et effectuer à nouveau le test.

REMARQUE : les tests effectués directement sur des échantillons cliniques ont une finalité de dépistage et doivent s'ajouter aux procédures de culture, non les remplacer. Les résultats doivent être utilisés conjointement avec d'autres données, par exemple les symptômes, les résultats d'autres tests, les impressions cliniques, etc.

11 LIMITES DE PERFORMANCES

- 11.1 Pour l'obtention d'un résultat positif du test, il faut la présence de l'antigène à un niveau détectable dans le liquide corporel ou le milieu d'hémoculture.
- 11.2 Il existe des données cliniques limitées relatives à la détection de l'antigène dans l'urine ou le sérum au moyen de ce réactif.

- 11.3 Outre l'antigène K1 d'*E. coli* qui a déjà été mentionné, quelques exemples de bactéries sans rapport possédant des antigènes communs ont été rapportés² et, comme avec tout système de test immunologique, on ne peut éliminer la possibilité de réactions croisées qui se produiraient avec le test au latex.
- 11.4 Les cultures d'*E. coli* portant des antigènes K autres que K1 sont particulièrement susceptibles de donner des réactions non spécifiques.

12 RÉSULTATS ESCOMPTÉS

Les échantillons contenant l'antigène de *N. meningitidis* groupe B/ l'antigène K1 d'*E. coli* à un niveau détectable produiront une réaction d'agglutination avec le latex de test.

13 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Des études cliniques ont été menées dans 12 laboratoires sur des échantillons de liquides corporels (frais et conservés congelés) et sur des surnageants d'hémocultures. Des techniques de culture aussi bien traditionnelles que radiométriques ont été employées dans les études d'hémocultures.

SENSIBILITÉ

La sensibilité du test Wellcogen™ *N. meningitidis* B/*E. coli* K1 a été établie à partir de tests d'échantillons de culture positifs pour les organismes homologues ou pour lesquels existaient d'autres preuves d'infection (diagnostic clinique plus positivité à un autre test de détection des antigènes).

Le tableau 1 montre le nombre d'échantillons frais de chaque type testés avec le latex ainsi que le nombre de résultats positifs obtenus.

La sensibilité du test Wellcogen™ *N. meningitidis* B/*E. coli* K1 pour la détection de l'antigène bactérien dans des échantillons de LCR frais provenant de patients porteurs d'une infection à *N. meningitidis* groupe B a été de 64 % (7/11). Des tests ont également été effectués sur des échantillons conservés (congelés) provenant de patients porteurs d'une infection à *N. meningitidis* groupe B. Les résultats ont montré que, pour la plupart des échantillons, la conservation avait entraîné une détérioration de l'antigène. Le test Wellcogen™ *N. meningitidis* B/*E. coli* K1 a détecté l'antigène dans 9 des 18 échantillons conservés soumis au test. La présence de l'antigène dans les 9 mêmes échantillons a été détectée par d'autres tests de détection de l'antigène (électrosynérèse, latex) effectués simultanément. Un échantillon supplémentaire a donné une réaction non spécifique avec le latex Wellcogen™ et un résultat positif avec l'électrosynérèse.

L'antigène a été détecté dans 4 échantillons de LCR conservés sur 6, qui provenaient de patients porteurs d'une infection à *E. coli* K1. Les deux échantillons ayant donné un résultat négatif avec le latex Wellcogen™ ont également montré une absence de réaction avec l'électrosynérèse.

Des données limitées concernant les échantillons de sérum et d'urine sont disponibles à l'heure actuelle (tableau 1).

Le test Wellcogen™ *N. meningitidis* B/*E. coli* K1 a détecté l'antigène dans 5 hémocultures sur 7 dans lesquelles l'organisme *N. meningitidis* groupe B avait été isolé (tableau 1). Une autre étude utilisant le test Wellcogen™ *N. meningitidis* B/*E. coli* K1 a montré des résultats similaires¹⁴.

SPÉCIFICITÉ

La spécificité du test Wellcogen™ *N. meningitidis* B/*E. coli* K1 a été évaluée en utilisant 138 échantillons de liquides corporels (frais et congelés) et 461 échantillons d'hémocultures provenant de patients qui présentaient une méningite bactérienne ou aseptique et d'autres pathologies sans rapport.

Les organismes isolés dans les échantillons infectés étaient : *Haemophilus influenzae* type b, *pneumocoque*, *N. meningitidis* groupes A, C, W135, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus epidermidis*, streptocoque bêta-hémolytique du groupe A + streptocoque du groupe B et *Streptococcus sanguis*.

La spécificité du test Wellcogen™ *N. meningitidis* B/*E. coli* K1 pour les tests effectués sur des liquides corporels et des surnageants d'hémocultures a été respectivement de 100 % (138/138) et de 99 % (458/461) (tableau 1). Les bactéries isolées dans les 3 hémocultures positives étaient les suivantes : un streptocoque bêta-hémolytique du groupe A (cultures aéro-anaérobies provenant du même patient) et un staphylocoque à coagulase négative. Un échantillon de LCR provenant d'un patient porteur d'une infection à *N. meningitidis* groupe C a donné une réaction non spécifique.

Identification des cultures sur boîtes

Des cultures de *N. meningitidis* et *E. coli* développées sur un milieu gélosé enrichi ont été testées dans des laboratoires hospitaliers et au laboratoire interne de recherche et développement. Toutes les cultures de *N. meningitidis* groupe B et d'*E. coli* K1 ont été correctement identifiées. Il n'y a pas eu de réaction croisée avec des antigènes d'autres groupes de *N. meningitidis* ni avec d'autres antigènes K d'*E. coli* (tableau 2). Les cultures d'*E. coli* avec d'autres antigènes K soumises au test ont donné des réactions non spécifiques en proportion élevée (tableau 2).

Tableau 1

Résultats d'études cliniques sur le test de détection Wellcogen™ *N. meningitidis* B/*E. coli* K1

Échantillon	Sensibilité ^a		Spécificité ^b	
	Nombre de testés	Nombre de positifs	Nombre de testés	Nombre de positifs
LCR :				
<i>N. meningitidis</i> B	11	7	128	0
<i>E. coli</i> K1 ^c	6	4	128	0
Sérum :				
<i>N. meningitidis</i> B	2	1	3	0
Urine :				
<i>N. meningitidis</i> B	2	1	7	0
Hémoculture :				
<i>N. meningitidis</i> B	7	5	461	3 ^d

^a Échantillons avérés positifs en culture ou positifs à un autre test de détection de l'antigène plus diagnostique clinique.

^b Échantillons négatifs pour la détection de *N. meningitidis* B/*E. coli* K1 par culture et autre test de détection de l'antigène.

^c Échantillons conservés congelés. Tous les autres échantillons ont été testés à l'état frais.

^d Cultures aéro-anaérobies (streptocoque bêta-hémolytique du groupe A) pour un même patient ; staphylocoque à coagulase négative.

Tableau 2

Identification de cultures au moyen du test de détection Wellcogen™ *N. meningitidis* B/*E. coli* K1

Culture ^a	+	–
<i>N. meningitidis</i> groupe A	0	16
<i>N. meningitidis</i> groupe B	10	0
<i>N. meningitidis</i> groupe C	0	18
<i>N. meningitidis</i> groupe 29E	0	8
<i>N. meningitidis</i> groupe W135	0	7
<i>N. meningitidis</i> groupe X	0	4
<i>N. meningitidis</i> groupe Y	0	5
<i>N. meningitidis</i> groupe Z	0	3
<i>E. coli</i> K1	7	0
<i>E. coli</i> (autres antigènes)	0	13 ^b

^a Cultures identifiées par agglutination sur lames.

^b 10 cultures supplémentaires ont donné des réactions non spécifiques.

14 BIBLIOGRAPHIE

- 1 **Band, J.D., Chamberland, M.E., et al (1983).**
Trends in meningococcal disease in the United States, 1975-1980.
J. Infect. Dis., 148, 754.
- 2 **Bovre, K., Bryn, K., et al (1983).**
Surface polysaccharide of *Moraxella non-liquefaciens* identical to *Neisseria meningitidis* group B capsular polysaccharide. A chemical and immunological investigation.
NIPH Annals, 6, 65.
- 3 **Doskeland, S.O. and Berdal, B.P. (1980).**
Bacterial antigen detection in body fluids: methods for rapid antigen concentration and reduction of nonspecific reactions.
J. Clin. Microbiol., 11, 380.
- 4 **Fallon, R.J. and McIlmurray, M.B. (1976).**
Escherichia coli K1.
Lancet, i, 201.
- 5 **Feigin, R.D., Wong, M., et al (1976).**
Counterimmunoelectrophoresis of urine as well as of CSF and blood for diagnosis of bacterial meningitis.
J. Pediatr., 89, 773.
- 6 **Galazka, A. (1982).**
Meningococcal disease and its control with meningococcal polysaccharide vaccines.
Bull. W.H.O., 60, 1.

- 7 **Jones, D.M. and Eldridge, J. (1981).**
Meningococcal disease in England and Wales 1978-79 – a change in the serotype pattern.
J. Infect., 3, 134.
- 8 **Kasper, D.L., Winkelhake, J.L., et al (1973).**
Immunochemical similarity between polysaccharide antigens of *Escherichia coli* 07:K1(L):NM and group B *Neisseria meningitidis*.
J. Immunol., 110, 262.
- 9 **Lifely, M.R., Gilbert, A.S., et al (1981).**
Sialic acid polysaccharide antigens of *Neisseria meningitidis* and *Escherichia coli*: esterification between adjacent residues.
Carbohydr. Res., 94, 193.
- 10 **Peltola, H. (1983).**
Meningococcal disease: still with us.
Rev. Infect. Dis., 5, 71.
- 11 **Sarff, L.D., McCracken, G.H., et al (1975).**
The Lancet – Saturday 17 May 1975. Epidemiology of *Escherichia coli* K1 in healthy and diseased newborns.
Lancet, i, 1099.
- 12 **Slack, J. (1982).**
Deaths from meningococcal infection in England and Wales in 1978.
J. Royal Coll. Phys. London, 16, 40.
- 13 **Stevens, P., Young, L.S., et al (1983).**
Correlation of *E. coli* K-1 bacteremia and capsular polysaccharide antigenemia in acute and chronic infection.
Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 1, 185.
- 14 **Williams, R.G. and Hart, C.A. (1988).**
Rapid identification of bacterial antigen in blood cultures and cerebrospinal fluid.
J. Clin. Path., 41, 691.

Bronidox® est le nom commercial déposé de Cognis UK Ltd.

Minicon® est une marque du groupe Millipore Corporation.



Fabriqué par :
Remel Europe Ltd
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT
Royaume-Uni

Fabriqué pour :
Oxoid Ltd
Wade Road
Basingstoke, Hants, RG24 8PW
Royaume-Uni

Pour une assistance technique, contacter le distributeur local.

Notice d'utilisation X7712-FR,
révision au 04 mai 2011

Imprimée au Royaume-Uni