

INDICATION

Le Prolisa™ EHEC EIA est un dosage sur micropuits servant à la détection qualitative des shiga-toxines I (Stx1) et II (Stx2) dans des échantillons fécaux directs, et à partir de milieux sélectifs par bouillon de culture ou enrichissement sur gélose des échantillons fécaux. Le Prolisa™ EHEC EIA est destiné pour être utilisé comme accessoire de diagnostic des infections par *Escherichia coli* entérohémorragiques(EHEC).

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Mécanisme de la maladie

Les EHEC sont constituées par un groupe d'organismes produisant des shiga-toxines et sont associées avec les maladies humaines graves que sont la colite hémorragique et le syndrome hémolytique et urémique.^{7,9,11,16} *Escherichia coli* O157:H7 est le EHEC prototypique ; cependant, de nombreux autres organismes, notamment des sérogroupes O26, O111, et O145 sont également réputés produire des Stx et causer des maladies chez l'homme.^{2,4,8,9,10,12,13,17} L'EHEC peut se transmettre par les aliments, par l'eau, par le contact d'une personne à l'autre ou encore par contact avec des animaux.⁶ Ces organismes sont typiquement résistants à l'environnement acide de l'estomac et traversent le tractus gastro-intestinal pour parvenir dans le colon où ils se fixent aux cellules épithéliales et produisent de puissantes cytotoxines portant le nom de shiga-toxines (Stx).^{5,11} Ces toxines sont absorbées par la vascularisation systémique et sont distribuées dans les cellules endothéliales contenant les récepteurs aux toxines dans les tissus sensibles, principalement dans les reins, le colon et le système nerveux central. Les toxines endommagent le tissu local en provoquant la formation d'occlusions micro-vasculaires.¹⁵

Diagnostic de la maladie

Les infections par EHEC affectent en général les personnes jeunes et âgées et sont typiquement diagnostiquées par une combinaison de constatations cliniques et microbiologiques. Les constatations cliniques peuvent être autre se manifester par la présence de diarrhées sanglantes et d'insuffisance rénale en association avec une anémie hémolytique. Les constatations microbiologiques incluent l'isolement dans les selles de l'*E. coli* produisant les shiga-toxines, ou encore la détection de celles-ci directement dans les selles ou dans des cultures de selles enrichies (soit sur un milieu gélosé sélectif soit par bouillon de culture). Les toxines peuvent être détectées dans les selles à l'aide d'immunodosages.³ Une réaction en chaîne par polymérase intégrant des amorces spécifiques des toxines peut également être employée pour la détection indirecte des toxines.^{1,3,14,18}

Le diagnostic des infections par EHEC a pour effet d'améliorer les soins aux patients, de réduire les cas de transmission d'une personne à l'autre et de prévenir la propagation alimentaire des épidémies en accélérant les rapports de résultats et en facilitant les activités de retraçage des sources du problème.⁶

PRINCIPE DU TEST

Le test Prolisa™ EHEC EIA est effectué en ajoutant des échantillons dilués à des barrettes à micropuits auxquelles sont liés des anticorps polyclonaux de lapin anti-Stx1 et Stx2. Les barrettes à micropuits sont incubées à température ambiante. Un lavage est effectué pour éliminer la matière non liée. Des anticorps monoclonaux reconnaissant spécifiquement Stx1 et Stx2 sont ajoutés aux barrettes. Après le lavage, on y ajoute un anticorps polyclonal de lapin anti-IgG de souris conjugué à un enzyme pour ensuite l'incuber à température ambiante. En présence d'une toxine, il y a alors formation d'un complexe enzyme-anticorps. Après un lavage visant à éliminer le conjugué non lié, on y ajoute un substrat avant d'incuber pendant 10 minutes à température ambiante. En présence d'une enzyme liée, il y a coloration. Une solution d'arrêt est ajoutée et les résultats sont interprétés par spectrophotométrie.

MATÉRIELS FOURNIS

Élément	N° de cat.	Quantité / volume de chaque kit	Description de chaque élément	Note
Plaquette enduite et stabilisée	PL.2109	1 plaque / pochette	Anticorps polyclonal de lapin à la Stx1 et la Stx2 enduit sur des barrettes à micropuits	Chaque pochette contient 1 plaque avec 1 scelleuse et 2 dessiccatifs
Contrôle positif EHEC EIA	PL.2107	2,5 ml	Recombinant de Stx1 (non toxique) dans une solution de protéine tampon avec conservateur	Flacon compte-gouttes à capuchon bleu
Contrôle négatif	PL.2105	2,5 ml	Une solution de protéine tampon avec conservateur	Flacon compte-gouttes à capuchon blanc
Solution d'anticorps primaire EHEC EIA	PL.2108	11 ml	Anticorps monoclonaux de souris à Stx1 et Stx2 dans une solution de protéine tampon avec conservateur	Flacon compte-gouttes à capuchon vert
Solution d'anticorps secondaire EHEC EIA	PL.2106	11 ml	Anti-IgG de souris de lapin marqué à la peroxydase de raifort dans une solution de protéine tampon avec conservateur	Flacon compte-gouttes à capuchon rouge
Tampon de lavage 20 X	PL.2101	25 ml X 4	Tampon de lavage concentré contenant du détergent et du conservateur	Flacon blanc
Solution d'arrêt	PL.2103	14 ml	Acide sulfurique 0.2 N	Flacon compte-gouttes à capuchon jaune
Solution de substrat	PL.2104	14 ml	3,3',5,5'-tetraméthylbenzidine (TMB) dans un tampon légèrement acide	Flacon orangé
Diluant échantillon	PL.2102	30 ml	Une solution de protéine tampon avec conservateur	Flacon blanc
Scelleuse de plaque	S/O	3		
Pipette de transfert	S/O	100 dans 4 sacs		
Notice d'utilisation		1		

MATÉRIELS NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

1. Applicateur sous forme d'anse ou de bâtonnet en bois
2. Minuterie
3. Pipette apte à distribuer 100 µl à 1000 µl
4. Embouts de pipette
5. Tubes à essais (12 X 75 mm ou autre taille adaptée) pour la dilution de l'échantillon
6. Eau distillée ou désionisée
7. Pissette ou laveur de microplaque
8. Éprouvette graduée
9. Lecteur de microplaque avec capacité de lecture d'absorbance de 450/630 nm

STABILITÉ ET STOCKAGE

La date de péremption est indiquée sur l'étiquette du kit. Stocker le kit à une température comprise entre 2 et 8°C (le tampon de lavage concentré 20 X peut être stocké à température ambiante). Après chaque utilisation, replacer rapidement le kit à une température comprise entre 2 et 8°C.

PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

1. Tous les réactifs sont exclusivement réservés aux emplois de diagnostic *in vitro*.
2. Les spécimens de patients peuvent contenir des agents infectieux. Ils doivent être manipulés conformément au niveau 2 de biosécurité selon les indications du manuel CDC/NIH, "Biosécurité dans les laboratoires microbiologiques et biomédicaux" (5ème édition publiée en décembre 2009).
3. Agiter doucement tous les réactifs avant l'emploi.
4. Ne pas permuter les réactifs provenant de numéros de lots différents.
5. Laisser les réactifs se stabiliser à température ambiante avant de les utiliser.
6. Les flacons de réactifs devront être maintenus en position verticale au-dessus des puits et à une distance suffisante de ces derniers pour garantir une taille de goutte et un versement adéquats.
7. Ne pas utiliser les éléments du kit au-delà de la date de péremption figurant sur l'étiquette.
8. Jeter le tampon de lavage et tous les matériels de test en observant les règles d'élimination applicables aux matériels présentant un risque biochimique potentiel.
9. Éviter de mettre la solution d'arrêt en contact avec la peau. En cas de contact, rincer immédiatement à l'eau.
10. Les barrettes ne doivent être utilisées qu'une seule fois.
11. Les barrettes non utilisées doivent être rangées à l'intérieur de la pochette refermable. Il est en effet important de les protéger de l'humidité.
12. Les pipettes de transfert fournies doivent être utilisées pour la préparation et le transfert des spécimens. Utiliser une pipette pour chaque spécimen.
13. Lors de la distribution d'échantillons dilués dans un micropuits, éviter les éclaboussures en plaçant l'embout de la pipette de transfert à environ mi-chemin entre le haut et le fond du puits et en laissant la solution s'égoutter lentement le long de la face latérale du puits.
14. Le lavage des barrettes devra être effectué en suivant à la lettre les indications de la procédure de dosage. Un lavage inadéquat peut élever la valeur de l'échantillon de contrôle et rendre des résultats faussement positifs.
15. Tous les réactifs sont prêts à l'emploi à l'exception du tampon de lavage concentré 20X.
16. Tout écart par rapport aux durées d'incubation définies, que ce soit à la hausse ou à la baisse, peut potentiellement altérer la sensibilité et la spécificité du dosage.
17. Le produit contient des matières d'origine animale. Il devra donc être manipulé comme étant potentiellement susceptible de transporter et de transmettre des maladies.



PRÉPARATION DES RÉACTIFS

1. Dès la réception du kit EHEC EIA, sortir les 4 flacons de tampon de lavage concentré 20X pour les stocker à température ambiante. Stocker les autres éléments du kit à une température comprise entre 2 et 8°C.
2. Avant de les utiliser, laisser se stabiliser à température ambiante les barrettes, contrôle positif / négatif, solution d'anticorps primaire, solution d'anticorps secondaire, solution d'arrêt et solution de substrat.
3. Préparer à chaque fois que c'est nécessaire un tampon de lavage concentré 1X à partir du tampon de lavage concentré 20X. Par exemple : Pour constituer 500 ml de tampon de lavage concentré 1X, ajouter 25 ml du tampon de lavage concentré 20X à 475 ml d'eau distillée ou désionisée. Le tampon de lavage concentré 1X reste stable à température ambiante pendant trois mois.

MANIPULATION ET TRANSPORT DES SPÉCIMENS

Essais sur le site

Réfrigérer tous les échantillons à une température comprise entre 2 et 8°C ou les congeler à -70°C dès leur réception. Il est déconseillé de congeler/décongeler les produits de manière répétée.

1. Échantillons de selles :
 - Les spécimens réfrigérés doivent être mis en culture dans un délai de 1 à 2 heures. Si la mise en culture ne peut pas être effectuée dans un délai de 2 heures, placer le spécimen dans un milieu de transport Cary-Blair ou le congeler à -70°C.
 - Les échantillons destinés à être testés directement peuvent être stockés pendant un maximum de 7 jours à 2-8°C ou congelés à -70°C.
2. Écouvillons rectaux : Placer immédiatement en milieu de transport Cary-Blair. Réfrigérer à 2-8°C si la mise en culture doit être effectuée dans un délai de 2-3 jours. Si la mise en culture ne peut pas être effectuée dans ce délai, les congeler à -70°C.
3. Milieu de transport Cary-Blair – Stocker jusqu'à 3 jours à 2-8°C ou congeler à -70°C.

Essais hors site

Les spécimens destinés à être soumis à d'autres tests/ou vérifications doivent être préparés et expédiés conformément au processus recommandé par le centre d'analyse concerné.

PRÉPARATION DES SPÉCIMENS

Examen direct des selles

1. Ajouter 300 µl de diluant d'échantillon à un tube à essai de 12 X 75 mm (ou autre tube à essai adapté).
2. Mélanger au mieux les selles avant de pipeter.
 - Selles liquides, semi-formées ou en milieu de transport : À l'aide d'une pipette de transfert, prélever de la matière fécale jusqu'au premier point de calibration (100 µl). Transférer la matière fécale dans le diluant d'échantillon. En procédant délicatement à l'aide de la même pipette, aspirer et expulser la suspension fécale plusieurs fois. Laisser la pipette de transfert dans le tube pour l'utiliser plus tard.
 - Selles formées : À l'aide d'un bâtonnet applicateur en bois ou d'une aiguille ou anse de repiquage, transférer une petite portion de selles (environ d'un diamètre de 3-4 mm et d'un poids de 50 mg) dans 300 µl de diluant échantillon et mélanger soigneusement. Placer une pipette de transfert dans le tube.

Bouillon d'enrichissement

1. Ajouter 50 µl de selles à 5 ml d'un bouillon de MacConkey ou d'un bouillon GN.
2. Incuber pendant 16-24 heures à 37°C dans un incubateur.
3. Ajouter 100 µl du bouillon de culture à 300 µl de diluant d'échantillon dans un tube à essai propre de 12 X 75 mm. Laisser la pipette de transfert dans le tube.

Remarque :

- Les bouillons peuvent être conservés pendant un maximum de sept jours à 2-8°C avant d'être testés dans le Prolisa™ EHEC EIA. Si le test n'est pas effectué dans ce délai, congeler le bouillon à -70°C. Éviter toute répétition de cycles de congélation/décongélation.

Enrichissement sur gélose sélective

1. Ajouter 20 µl de selles à une plaque de gélose MacConkey ou MacConkey au sorbitol et étaler l'échantillon à l'aide d'une anse stérile.
2. Incuber pendant 16 à 24 heures à 37°C.
3. Mettre en suspension les colonies isolées ou un prélèvement de colonies dans 200 µl de diluant d'échantillon dans un tube à essai de 12 X 75 mm.

PROTOCOLE DE TEST

Remarque :

- Avant de l'utiliser, stabiliser le kit dans son intégralité, y compris la pochette de la microplaque, à température ambiante.
- Trois (3) gouttes de contrôle positif / négatif, solution d'anticorps primaire, solution d'anticorps secondaire et solution d'arrêt tombant librement du flacon compte-gouttes du kit équivalent à 100 µl de chaque élément.

1. Découper la pochette métallisée refermable et en retirer délicatement la plaque EIA.
2. Retirer le feuillet de scellement du nombre de barrettes requis. Les barrettes non utilisées doivent être rangées immédiatement dans la pochette refermée et stockées à 2-8°C.
3. Utiliser une pipette pour transférer 100 µl (équivalent au premier point de calibration de la pipette) de spécimen dilué dans les puits, avant d'ajouter 100 µl de contrôle positif et 100 µl de contrôle négatif aux puits appropriés. Incuber la plaque pendant 60 minutes à température ambiante sans l'agiter.
4. Diluer le tampon de lavage concentré 20X dans de l'eau distillée ou désionisée pour obtenir un tampon de lavage concentré 1X [50 ml de tampon de lavage concentré 1X sont nécessaires pour chaque barrette (8 puits)].
5. Éliminer les échantillons/contrôles de la ou des bandelette(s) et laver 5 fois les puits avec du tampon de lavage concentré 1X.

Option 1

- Jeter le contenu des plaques dans un récipient de collecte approprié pour les objets présentant des risques biologiques.
- Taper fermement la plaque retournée sur une pile de serviettes en papier propres.
- Remplir complètement tous les puits avec de la solution de tampon de lavage concentrée 1X en utilisant une pissette.
- Répéter le cycle de lavage (jeter, taper et remplir) quatre fois de plus.
- Après le dernier remplissage, jeter le contenu et taper les plaques fermement sur des serviettes en papier propres afin d'éliminer tout tampon de lavage résiduel.

Option 2

- Laver 5 fois la plaque avec un laveur de plaques automatique en remplissant les puits de 300 µl de tampon de lavage concentré 1X.
6. Ajouter 100 µl (3 gouttes) de solution d'anticorps primaire à chaque puits. Incuber la plaque pendant 30 minutes à température ambiante sans l'agiter.
 7. Jeter la solution d'anticorps primaire et laver les puits 5 fois avec du tampon de lavage (Répéter la procédure de lavage de l'étape 5).
 8. Ajouter 100 µl (3 gouttes) de solution d'anticorps secondaire à chaque puits. Incuber la plaque pendant 30 minutes à température ambiante sans l'agiter.
 9. Jeter la solution d'anticorps secondaire et laver les puits 5 fois avec du tampon de lavage (Répéter la procédure de lavage de l'étape 5).
 10. Transférer 100 µl de la solution de substrat à chaque puits et incuber pendant 10 minutes à température ambiante.
 11. Ajouter 100 µl (3 gouttes) de solution d'arrêt à chaque puits. Mélangez délicatement en tapotant légèrement le côté du porte-bandelettes.
 12. Mesurer la DO de 450/630 nm dans un lecteur de microplaque immédiatement après avoir réalisé l'étape 11.

VALEURS PRÉVISIBLES

Le test Prolisa™ EHEC EIA détecte la présence de Stx1 et/ou de Stx2. Les valeurs prévisibles pour une population donnée doivent être déterminées par chaque laboratoire individuel. Le taux de résultats positifs pourra varier en fonction de l'âge des patients, leur situation géographique, la méthode de collecte, de manipulation et de transport des spécimens, du test utilisé et de l'état de santé général de la population de patients étudiée.

PROCÉDURE DE CONTRÔLE QUALITÉ

1. Les contrôles positifs et négatifs doivent être utilisés à chaque cycle de dosage à des fins d'assurance qualité des réactifs.
2. La valeur du contrôle positif doit être > 0,800 à 450/630 nm.
3. La valeur du contrôle négatif doit être < 0,150 à 450/630 nm, mais supérieure à 0,000. Si le contrôle négatif est < 0,000, refaire le blanc du lecteur de plaque par rapport à l'air et procéder à une nouvelle lecture de la plaque.
4. Tout puits positif sans coloration visible doit être repositionné et sa face inférieure (dessous) essuyée avant de procéder à une nouvelle lecture de ce puits.
5. Procéder à une inspection visuelle des éléments du kit à chaque utilisation pour détecter tout signe évident de contamination microbienne, de congélation ou de fuite.
6. Consigner les résultats de chaque test de contrôle qualité dans un carnet afin de maintenir des données d'essai de haute qualité.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Détection spectrophotométrique à double longueur d'onde (450/630 nm)

Négatif = DO 450/630 nm < 0,150

Positif = DO 450/630 nm ≥ 0,150

REMARQUE : Un résultat positif indique la présence de Stx1 et/ou Stx2. Un résultat négatif indique l'absence de shiga-toxines ou signifie que le niveau de toxines est inférieur au niveau détectable par le test.

LIMITATIONS DE LA PROCÉDURE

1. Le test Prolisa™ EHEC EIA détecte la présence de Stx1 et/ou de Stx2. Aucune corrélation n'a été démontrée entre le niveau de toxines et la présence ou la gravité de la maladie. Comme pour toute autre procédure de diagnostic in vitro, les résultats des tests devront être interprétés par un médecin en tenant compte d'autres informations cliniques à sa disposition.
2. Un résultat positif n'exclut pas la présence d'autres organismes infectieux.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Sensibilité et spécificité

Le test Pro-Lab Prolisa™ EHEC EIA a été évalué dans deux hôpitaux et un laboratoire de référence aux États-Unis et au Canada. Des échantillons ont été testés à l'aide du Pro-Lab Prolisa EHEC EIA ainsi que d'un test alternatif EHEC EIA commercialisé internationalement.

Les échantillons étaient considérés positifs si le dosage de cytotoxicité sur les cellules VERO (VCA) était positif. Les échantillons étaient considérés comme négatifs si le VCA était négatif. Les résultats combinés de ces études sont présentés dans le tableau suivant.

Performance	Dosage direct des selles		Dosage du bouillon d'enrichissement	
	Prolisa™ EHEC EIA	Alternative EHEC EIA	Prolisa™ EHEC EIA	Alternative EHEC EIA
Sensibilité	56.7% (17/30)	56.7% (17/30)	86.5% (32/37)	70.3% (26/37)
Spécificité	96.7% (502/519)	94.0% (488/519)	98.6% (493/500)	99.6% (498/500)
Globale	94.5% (519/549)	92.0% (505/549)	97.8% (525/537)	97.6% (524/537)

Précision du test

Variabilité intra-dosage (intra-série)

Huit répliquats de 4 échantillons différents, contaminés avec des quantités variables de Stx1 et Stx2, seules et en combinaison, ont été testés pour déterminer la variabilité intra-dosage.

Échantillon	DO moyenne 450/630 nm	S	CV
Stx1 et Stx2	1.317	0.038	2.9%
Stx1	0.203	0.001	0.5%
Stx2	0.366	0.004	1.1%
Pas de toxine	0.033	0.004	12.1%

Variabilité inter-dosages (inter-séries)

Huit répliquats de 4 échantillons différents, contaminés avec des quantités variables de Stx1 et Stx2, seules et en combinaison, ont été testés dans un seul dosage réalisé trois jours différents pour déterminer la variabilité inter-dosages.

Échantillon	DO moyenne 450/630 nm	S	CV
STx1 et STx2	1.284	0.032	2.5%
STx1	0.204	0.004	1.8%
STx2	0.354	0.011	3.3%
Pas de toxine	0.033	0.001	4.6%

Sensibilité analytique

Le test Pro-Lab Prolisa™ EHEC EIA détecte environ 20-40 pg/ml de Stx1 et <20 pg/ml de Stx2.

Enrichissement sur gélose sélective

Des isolats humains de 12 sérotypes communs produisant Stx1 seule (n=4), Stx2 ou Stx2c seule (n=6), ou Stx1 et Stx2 (n=2) ensemble, et une souche d'*E. coli* non-toxinogène de référence ont été mis en culture pendant une nuit dans un bouillon de soja tryptique à 37°C. La quantité prélevée dans une anse du bouillon de culture a été déposée en stries sur des plaques de gélose MacConkey et de gélose MacConkey au sorbitol ; ces plaques ont été incubées pendant 16 à 24 heures à 37°C. Chacune des deux colonies isolées de chaque gélose a été mise en suspension individuellement dans un diluant d'échantillon avant d'être testée dans l'EIA. Toutes les colonies d'*E. coli* produisant des Stx des deux géloses se sont révélées positives lors du test. Toutes les colonies de la souche d'*E. coli* non-toxinogène de référence des deux géloses se sont révélées négatives lors du test.

Réactivité croisée

Les isolats cliniques (IC) ou souches de référence suivants ont été testés par rapport à leur réactivité croisée et se sont tous révélés négatifs.

Organisme	ID
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Isolat clinique (IC)
<i>Arcobacter butzleri</i>	IC
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 14179
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6051
<i>Campylobacter coli</i>	IC
<i>Campylobacter fetus</i>	IC
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 29428
<i>Citrobacter braakii (freundii)</i>	ATCC 43162
<i>Clostridium difficile</i>	IC
<i>Enterobacter aerogenes</i>	IC
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 49149

Organisme	ID
<i>Escherichia coli non STEC</i>	ATCC 25922
<i>Escherichia coli O55:NM, EPEC</i>	ATCC 12014
<i>Escherichia coli O111:NM, ETEC/EPEC</i>	ATCC 43887
<i>Escherichia coli O124, EIEC</i>	ATCC 43893
<i>Escherichia hermanii</i>	ATCC 33650
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 27736
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 33420
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Salmonella enteritidis</i>	IC
<i>Salmonella typhimurium</i>	IC
<i>Serratia marcescens</i>	IC
<i>Serratia liquefaciens</i>	ATCC 27592
<i>Shigella dysenteriae</i>	ATCC 49347
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 25929
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	IC
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 23715

Études des interférences







Certaines substances susceptibles d'être présentes dans les échantillons fécaux ont été analysées pour déterminer leurs effets sur le Pro-Lab Prolisa™ EHEC EIA. Les résultats de l'étude sont présentés dans le tableau suivant :

Substance Interférente	Tampon	Selles	Selles +Stx1	Selles +Stx2
Sulfate de baryum	négatif	négatif	positif	positif
Sang	négatif	négatif	positif	positif
Cary-Blair	négatif	négatif	positif	positif
Imodium	négatif	négatif	positif	positif
Kaopectate	négatif	négatif	positif	positif
PeptoBismol	négatif	négatif	positif	positif

RÉFÉRENCES

1. **Bellin T., Pulz M., Matussek A., Hempten H.G., and Gunzer F.** Rapid detection of enterohemorrhagic *Escherichia coli* by real-time PCR with fluorescent hybridization probes. *J. Clin. Microbiol.* 39: 370-374, 2001.
2. **Bettelheim K.A.** The non-O157 shiga-toxigenic (verocytotoxigenic) *Escherichia coli*; under-rated pathogens. *Crit. Rev. Microbiol.* 33: 67-87, 2007.
3. **Bettelheim K.A. and Beutin L.** Rapid laboratory identification and characterization of verocytotoxigenic (Shiga toxin producing) *Escherichia coli* (VTEC/STEC). *J. Appl. Microbiol.* 95: 205-217, 2003.
4. **Griffin P.M., Ostroff S.M., Tauxe R.V., Greene K.D., Wells J.G., Lewis J.H., and Blake P.A.** Illnesses associated with *Escherichia coli* O157:H7 infections. A broad clinical spectrum. *Ann. Intern. Med.* 109: 705-712, 1988.
5. **Kaper J.B.** Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Curr. Opin. Microbiol.* 1: 103-108, 1998.
6. **Karch H., Bielaszewska M., Bitzan M., and Schmidt H.** Epidemiology and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 34: 229-243, 1999.
7. **Kleanthous H., Smith H.R., Scotland S.M., Gross R.J., Rowe B., Taylor C.M., and Milford D.V.** Haemolytic uraemic syndromes in the British Isles, 1985-8: association with vero-cytotoxin producing *Escherichia coli*. Part 2: Microbiological aspects. *Arch. Dis. Child.* 65: 722-727, 1990.

8. **Konowalchuk J., Dickie N., Stavric S., and Speirs J.I.** Properties of an *Escherichia coli* cytotoxin. *Infect. Immun.* 20: 575-577, 1978.
9. **Konowalchuk J., Dickie N., Stavric S., and Speirs J.I.** Comparative studies of five heat labile toxic products of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 22: 644-648, 1978.
10. **Maniar A.C., Williams T., Anand C.M., and Hammond G.W.** Detection of verotoxin in stool specimens. *J. Clin. Microbiol.* 28: 134-135, 1990.
11. **O'Brien A.D. and Holmes R.K.** Shiga and Shiga-like toxins. *Microbiol. Rev.* 51: 206-220, 1987.
12. **O'Brien A.D., LaVeck G.D., Thompson M.R., and Formal S.B.** Production of *Shigella dysenteriae* type 1-like cytotoxin by *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* 146: 763-769, 1982.
13. **O'Brien A.O., Lively T.A., Chen M.E., Rothman S.W., and Formal S.B.** *Escherichia coli* O157:H7 strains associated with haemorrhagic colitis in the United States produce a *Shigella dysenteriae* 1 (SHIGA) like cytotoxin. *Lancet* 1: 702, 1983.
14. **Osek J.** Rapid and specific identification of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in faeces by multiplex PCR. *Lett. Appl. Microbiol.* 34: 304-310, 2002.
15. **Paton J.C. and Paton A.W.** Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 11: 450-479, 1998.
16. **Riley L.W., Remis R.S., Helgerson S.D., McGee H.B., Wells J.G., Davis B.R., Hebert R.J., Olcott E.S., Johnson L.M., Hargrett N.T., Blake P.A., and Cohen M.L.** Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N. Engl. J. Med.* 308: 681-685, 1983.
17. **Strockbine N.A., Marques L.R., Newland J.W., Smith H.W., Holmes R.K., and O'Brien A.D.** Two toxin-converting phages from *Escherichia coli* O157:H7 strain 933 encode antigenically distinct toxins with similar biologic activities. *Infect. Immun.* 53: 135-140, 1986.
18. **Ziebell K.A., Read S.C., Johnson R.P., and Gyles C.L.** Evaluation of PCR and PCR-RFLP protocols for identifying Shiga toxins. *Res. Microbiol.* 153: 289-300, 2002.

	= Fabricant
	= Representant legal dans la comunaute Europeenne
	= Contenu suffisant pour (n) tests
	= Dispositif medical de diagnostic in vitro
	= Limite de temperature
	= Consulter la notice d'utilisation

Ce mode d'emploi est une traduction professionnelle de la version anglaise d'origine. En cas d'ambiguïté ou de divergence flagrante, veuillez consulter le Service de soutien de Pro-Lab