

# Assurance® GDS

## EHEC ID pour *E. coli* O157:H7 Tq

Certification NF VALIDATION TRA 02/13-04/22

Réf. : 71037-52 (52 tests)

### Description générale

Assurance® GDS EHEC ID pour *E. coli* O157:H7 Tq (EHEC ID) est un système automatisé d'amplification des acides nucléiques permettant de confirmer génétiquement et d'identifier la bactérie pathogène *E. coli* O157:H7 dans la viande crue, les produits carnés prêts à cuisiner (RTC), la volaille crue, les produits à base de volaille prêts à cuisiner (RTC), les produits à base de volaille prêts à manger (RTE), les produits à base de volaille prêts à réchauffer (RTRH), le lait cru et les produits laitiers ainsi que les échantillons environnementaux. Les tests Assurance® GDS sont conçus pour être utilisés par du personnel de laboratoire qualifié conformément aux pratiques de laboratoire de microbiologie en vigueur.

Basé sur le processus décrit dans la norme ISO/TS 13136:2012, l'EHEC ID (réf. 20764281) est conçu pour suivre le test Assurance® GDS MPX pour STEC du Top 7 (réf. 20764278) afin de détecter la présence de *E. coli* O157:H7. Cependant, le test EHEC ID ne permet pas de détecter ou de confirmer la présence de STEC non O157 du Top 6. Suivre la procédure PROTOCOLE DE DÉPISTAGE SECONDAIRE. De plus, EHEC ID peut également servir à confirmer les colonies isolées à partir des échantillons présumés positifs pour *E. coli* O157:H7. Suivre la procédure CONFIRMATION DES COLONIES ISOLÉES.

### Composants du kit

Chaque kit Assurance® GDS EHEC ID pour *E. coli* O157:H7 Tq contient les éléments suivants :

- Tubes d'amplification EHEC ID
- Réactif de concentration pour O157
- Tampon de remise en suspension Tq
- Solution de lavage

### Équipement/matériel requis

Le matériel suivant est également nécessaire, mais non inclus :

- Thermocycleur Rotor-Gene® Assurance® GDS
- Rotor GDS et anneau de verrouillage
- Ordinateur portable et logiciel v2.3.103
- Dispositif PickPen® et pointes PickPen®
- Agitateur vortex (IKA® MS3 ou équivalent)
- Bandelettes de film adhésif
- Puits d'échantillon et base pour puits d'échantillon
- Plaque de remise en suspension
- Homogénéiseur à palettes Stomacher® ou équivalent
- Sachets du type Stomacher® avec filtre ou équivalent
- Micropipette à 8 canaux capable de distribuer précisément 30 µl
- Micropipette réglable capable de distribuer précisément 1,0 ml
- Pipette à répétition
- Pointes pour pipette à répétition (0,5 ml et 10 ml)
- Pointes de micropipette à filtre barrière (50 µl et 1,0 ml)
- Bloc de refroidissement avec gel
- Incubateur capable de maintenir une température de 41,5 ±1 °C

Incubateur capable de maintenir une température de  $37 \pm 1$  °C  
Congélateur capable de maintenir une température de  $-20 \pm 5$  °C  
Réfrigérateur capable de maintenir une température de  $5 \pm 3$  °C

## PROTOCOLE DE DEPISTAGE SECONDAIRE

### Préparation des échantillons

Veuillez vous reporter au tableau de l'ANNEXE A - Méthodes d'enrichissement

#### A. Préparation des prises d'essai

1. **Viande crue et viande RTC jusqu'à 25 g** – Retirer de l'incubateur à  $41,5 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$  °C les échantillons (enrichis selon le Mode d'emploi de Assurance® GDS MPX pour les STEC du Top 7) à l'issue d'une durée d'incubation totale de 8 à 26 h.
2. **Viande de bœuf crue jusqu'à 375 g** – Retirer de l'incubateur à  $41,5 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$  °C les échantillons (enrichis selon le Mode d'emploi de Assurance® GDS MPX pour les STEC du Top 7) à l'issue d'une durée d'incubation totale de 12 à 20 h.
3. **Volaille crue,produits à base de volaille RTC, RTRH et RTE jusqu'à 25 g** – Retirer de l'incubateur à  $41,5 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$  °C les échantillons (enrichis selon le Mode d'emploi de Assurance® GDS MPX pour les STEC du Top 7) à l'issue d'une durée d'incubation totale de 10 à 26 h.
4. **Lait cru et produits laitiers jusqu'à 25 g** – Retirer de l'incubateur à  $41,5 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$  °C les échantillons (enrichis selon le Mode d'emploi de Assurance® GDS MPX pour les STEC du Top 7) à l'issue d'une durée d'incubation totale de 12 à 26 h **ou** de 20 à 30 h (pour les protocoles ne respectant pas les normes EN ISO 6887 (aucun ajout de Tween-80)).
5. **Échantillons environnementaux jusqu'à 25 g, ml ou dispositif d'échantillonnage** – Peser en conditions aseptiques 25 g de balayures ou 25 ml d'eau de procédé et les introduire dans 225 ml de milieu mEHEC® pré-chauffé (à  $41,5 \pm 1$  °C). Pour le contrôle environnemental, pré-humidifier des éponges déshydratées stériles avec 10 ml de bouillon D/E (Dey/Engley) ou de bouillon Lethen. Humidifier un écouvillon stérile en le trempant dans du bouillon D/E ou Lethen. Après avoir recueilli l'échantillon, ajouter l'éponge ou l'écouvillon à respectivement 100 ml ou 10 ml de milieu mEHEC®. Incuber pendant 12 à 26 h à  $41,5 \pm 1$  °C.

**Remarque :** la durée totale de l'enrichissement sera basée sur l'achèvement de l'analyse primaire Assurance® GDS MPX pour les STEC du Top 7.

**Remarque :** les échantillons enrichis peuvent être conservés à  $5 \pm 3$  °C jusqu'à 72 h avant analyse avec EHEC ID (**non applicable aux protocoles à enrichissement court**).

#### B. Protocole d'extraction des échantillons

*Changer de gants avant de manipuler les réactifs.*

1. Vortexer le **réactif de concentration pour O157**. Transférer immédiatement 20 µl dans chacun des puits d'échantillon GDS requis (1 puits/échantillon) à l'aide d'une pipette à répétition et de pointes de pipette de 0,5 ml. Couvrir les puits d'échantillon avec des bandelettes de film adhésif.
2. Transférer 1,0 ml de **solution de lavage** dans le nombre requis de puits d'échantillon GDS (1 puits/échantillon) à l'aide d'une pipette à répétition et d'une pointe de pipette de 10 ml. Couvrir les puits d'échantillon avec des bandelettes de film adhésif.
3. Transférer 45 µl de **tampon de remise en suspension Tq** dans les puits d'échantillon de la plaque de remise en suspension à l'aide d'une pipette à répétition et d'une pointe de pipette de 0,5 ml. Couvrir la plaque de remise en suspension avec des bandelettes de film adhésif.
4. Retirer avec précaution la bandelette de film adhésif d'une barrette de puits d'échantillon contenant du réactif de concentration pour O157. Ajouter 1 ml d'enrichissement présumé positif à chaque puits

d'échantillon. Éviter de transférer des particules alimentaires. Utiliser une nouvelle pointe de pipette pour chaque enrichissement. Couvrir chaque barrette de puits d'échantillon avec une nouvelle bandelette de film adhésif avant d'ajouter des enrichissements à une nouvelle barrette de puits. **Replacer immédiatement les échantillons dans l'incubateur en vue d'une confirmation, si nécessaire.**

5. Placer des puits d'échantillon scellés contenant le réactif de concentration pour O157 et les enrichissements sur l'agitateur vortex et vortexer à environ 900 tr/min pendant 5 à 15 min. Si nécessaire, ajuster le régime pour veiller à ce que le liquide n'entre pas en contact avec le film adhésif.
6. Retirer avec précaution le film adhésif d'une barrette d'enrichissements et le jeter. Retirer le film adhésif correspondant des puits d'échantillon contenant la solution de lavage et de la plaque de remise en suspension.
7. Charger des pointes sur le PickPen® en veillant à ce qu'elles soient bien fixées sur l'outil PickPen®. Déployer les aimants PickPen® et insérer les pointes dans la première barrette de puits d'enrichissements. Agiter doucement pendant 30 s en effectuant un mouvement continu des pointes de haut en bas (de la surface vers le fond des puits). Tapoter les pointes PickPen® contre la paroi des puits d'échantillon pour éliminer l'excédent de gouttelettes de milieu.
8. Transférer les pointes PickPen® dans la solution de lavage. Avec les pointes immergées, agiter doucement le PickPen® d'un côté à l'autre pendant 10 à 20 s (ne pas libérer les particules dans la solution). Tapoter doucement les pointes PickPen® contre la paroi des puits d'échantillon pour éliminer l'excédent de gouttelettes de solution de lavage.
9. Transférer les particules dans la rangée correspondante de la plaque de remise en suspension préparée. Après immersion des pointes, rétracter les aimants PickPen® et tapoter doucement les pointes pour libérer les particules dans le tampon. Couvrir la plaque de remise en suspension avec du film adhésif.
10. Répéter les étapes (6) à (9) pour tous les échantillons en utilisant de nouvelles pointes pour chaque barrette d'échantillons.

## Procédure de test (amplification et détection)

*Changer de gants avant de manipuler les réactifs*

### A. Préparation des blocs de refroidissement avec gel

1. Avant la première utilisation, le bloc de refroidissement avec gel doit être stocké au congélateur (à  $-20 \pm 5$  °C) pendant au moins 6 h. Lorsqu'il est congelé, le bloc de refroidissement avec gel change de couleur et passe du rose au violet. Lorsqu'il n'est pas utilisé, le bloc de refroidissement avec gel doit continuer à être stocké à  $-20 \pm 5$  °C.
2. Entre deux utilisations, replacer le bloc de refroidissement avec gel au congélateur jusqu'à ce qu'il soit complètement violet, ce qui indique qu'il est prêt à être utilisé. Cela peut prendre jusqu'à 2 h.

### B. Préparation des tubes d'amplification

1. La configuration du Rotor-Gene® Assurance® GDS et la saisie des données doivent être terminées avant de transférer les échantillons de la plaque de remise en suspension dans les tubes d'amplification.
2. Retirer les tubes d'amplification du sachet en aluminium et les placer dans le bloc de refroidissement avec gel congelé. Refermer le sachet.
3. Ouvrir les tubes d'amplification. À l'aide d'une pipette multicanal et de pointes à filtre barrière, pipeter brièvement le tampon de remise en suspension Tq vers le haut puis vers le bas pour mélanger les billes dans les puits de la plaque de remise en suspension. Transférer 30 µl d'échantillon des puits de la plaque de remise en suspension vers chaque tube d'amplification. Appuyer fermement sur le couvercle de chaque

tube d'amplification pour le fermer. Inspecter visuellement chaque tube d'amplification pour s'assurer que le bouchon est bien scellé.

4. Placer les tubes d'amplification dans le Rotor-Gene® Assurance® GDS dans l'ordre séquentiel, en commençant par la position 1. Démarrer le cycle du Rotor-Gene®. Se reporter au Manuel d'utilisation Assurance® GDS pour des instructions détaillées sur l'utilisation du Rotor-Gene®.

**Remarque :** le Rotor-Gene® Assurance® GDS doit être démarré dans les 20 min suivant l'ajout des échantillons aux tubes d'amplification.

## Résultats

Une fois l'analyse terminée, le logiciel du Rotor-Gene® Assurance® GDS fournit un tableau de résultats. Chaque échantillon est identifié comme **Positif** ou **Négatif** pour *E. coli* O157:H7, ou comme **Pas d'amp** dans l'onglet des résultats.

**Positif :** les échantillons sont présumés positifs pour *E. coli* O157:H7, ce qui signifie qu'ils sont positifs pour O157 (*rfbE*) et positifs pour un des gènes codant pour la shigatoxine (*stx1*, *stx2*) ou les deux, et peuvent être ou ne pas être positifs pour H7 (*fliC*).

**Négatif :** les échantillons sont négatifs pour *E. coli* O157:H7.

**Remarque :** si un résultat EHEC ID est négatif, et que l'onglet TOP STEC de l'essai GDS MPX primaire était positif, l'échantillon peut potentiellement contenir *E. coli* O145 et peut être confirmé par analyse à l'aide de Assurance® GDS MPX ID pour les principaux STEC (MPX ID).

**Pas d'amp.** : aucune amplification ne s'est produite. Répéter le test en commençant à l'étape **B. Protocole d'extraction des échantillons**. Si le résultat "Pas d'amp." se répète, contacter votre service technique local.

N°	Couleur	Nom	Résultat	Test	Numéro de lot du kit
1		Échantillon 1	Positif	EHEC ID	1234567
2		Échantillon 2	Négatif	EHEC ID	1234567
3		Échantillon 3	Pas d'amp.	EHEC ID	1234567

## Confirmation

Après 8 à 30 heures d'enrichissement (en fonction du type d'aliment analysé) dans mEHEC® à 41,5 °C ±1 °C, les échantillons peuvent être confirmés à partir de l'enrichissement mEHEC® retenu par les protocoles suivants. Dans le cadre de la certification NF VALIDATION, tous les échantillons identifiés comme positifs par Assurance® GDS EHEC ID pour *E. Coli* O157:H7 Tq doivent être confirmés par l'un des tests suivants :

Pour les produits laitiers, stocker l'enrichissement au bouillon mEHEC® à 5 ±3 °C. La confirmation doit partir d'un enrichissement au mEHEC®. La confirmation ne peut pas partir du repiquage au BHI.

- A. *E. coli* O157:H7 peut être isolé à partir d'échantillons positifs à *E. coli* O157:H7 en ensemencant directement en stries 10 µl de l'enrichissement dans un choix de plaques chromogènes: plaques CHROMagar™ O157, gélose MacConkey Sorbitol contenant du céfixime et de la tellurite (CT-SMAC) ou gélose ChromoSelect modifiée EC O157:H7. Ensemencer la plaque chromogène en stries en vue d'un isolement. Incuber les plaques pendant 20 à 24 h à 37 ±1 °C.

Confirmer jusqu'à 5 colonies typiques en analysant les colonies isolées par les tests GDS MPX et EHEC ID, à l'aide du protocole de CONFIRMATION DES COLONIES ISOLÉES POUR E. COLI O157:H7 PAR EHEC ID, ci-dessous.

- B. *E. coli* O157:H7 peuvent être isolés à partir des échantillons positifs au test GDS en ensemencant le réactif de concentration pour STEC O157 GDS qui reste dans la plaque de remise en suspension (étape C, procédure de test) sur une plaque chromogène de votre choix : plaques CHROMagar™ O157, CT-SMAC, ou gélose

ChromoSelect modifiée EC O157:H7. Ensemencer la plaque chromogène en stries en vue d'un isolement. Incuber les plaques pendant 20 à 24 h à 37 ±1 °C.

### **Isolement de *E. coli* O157:H7 à l'aide du réactif de concentration restant dans la plaque de remise en suspension**

#### **Équipement/matériel requis**

Matériel nécessaire en plus de celui demandé pour le PROTOCOLE DE DÉPISTAGE SECONDAIRE :

Solution de lavage

Anses d'inoculation stériles jetables de 10 µl

1. Ajouter 30 µl de solution de lavage, en utilisant une pipette à répétition et une pointe de pipette de 0,5 ml, dans le nombre requis de puits d'une nouvelle plaque de remise en suspension (1 puits/échantillon). Couvrir les puits de la plaque de remise en suspension contenant la solution de lavage avec des bandelettes de film adhésif.
2. À partir de la plaque de remise en suspension de l'échantillon précédemment utilisée pour l'analyse EHEC ID (étape C, procédure de test), pipeter brièvement de haut en bas le liquide restant contenu dans le puits à ensemencer. Cela remettra en suspension les billes d'IMS contenues dans le tampon de remise en suspension Tq (il reste un volume d'environ 15 µl).
3. Retirer une bandelette de film adhésif de la plaque de remise en suspension contenant la solution de lavage de l'étape 1. Transférer 15 µl de billes d'IMS en suspension dans un puits de la plaque de remise en suspension contenant de la solution de lavage pour les principaux STEC.
4. Pipeter brièvement la solution de lavage vers le haut puis vers le bas pour mélanger les billes dans le puits. Transférer 20 µl depuis la plaque de remise en suspension vers le premier quadrant de la plaque sélective de votre choix : plaques CHROMagar™ O157, CT-SMAC, ou gélose ChromoSelect modifiée EC O157:H7 et faire des stries en vue de l'isolement sur les plaques chromogènes. Incuber les plaques pendant 20 à 24 h à 37 ±1 °C.
5. Confirmer jusqu'à 5 colonies typiques en analysant les colonies isolées par les tests Assurance® GDS MPX pour les STEC du Top 7 et Assurance® GDS EHEC ID pour *E. coli* O157:H7 Tq, à l'aide du protocole de CONFIRMATION DES COLONIES ISOLÉES POUR *E. coli* O157:H7 PAR EHEC ID, ci-dessous.

**Remarque :** la plaque de tampon de remise en suspension GDS EHEC ID originale peut être conservée à 5 ±3 °C (réfrigération) jusqu'à 48 h avant la confirmation.

### **Confirmation des colonies isolées pour *E. coli* O157:H7 par EHEC ID**

#### **Équipement/matériel requis**

Matériel nécessaire en plus de celui demandé pour le PROTOCOLE DE DÉPISTAGE SECONDAIRE :

Solution de lavage

Tampon de remise en suspension Tq

Anses d'inoculation jetables stériles de 1 µl

#### **Préparation des colonies**

1. Transférer 500 µl de solution de lavage, en utilisant une pipette à répétition et une pointe de pipette de 10 ml, dans le nombre requis de puits d'échantillon GDS (1 puits pour chaque colonie suspecte).

**Remarque :** la colonie testée doit être bien isolée. Si ce n'est pas le cas, ensemencer de nouveau en stries pour garantir la pureté avant de poursuivre la confirmation de la colonie.

2. Pipeter 100 µl de tampon de remise en suspension Tq, en utilisant une pipette à répétition et une pointe de pipette de 0,5 ml, dans le nombre requis de puits de la plaque de remise en suspension (1 puits/test).
3. À l'aide d'une anse stérile de 1 µl, transférer une petite quantité de la colonie suspecte dans le puits d'échantillon contenant la solution de lavage.

**Remarque :** éviter de générer une trop forte turbidité pour la remise en suspension de la colonie. Il n'est pas nécessaire de créer une turbidité évidente dans l'échantillon. Mélanger avec l'anse pendant environ 5 s puis jeter l'anse dans le récipient pour déchets biologiques à risque infectieux.

4. À l'aide d'une nouvelle anse stérile de 1 µl, transférer 1 µl de la colonie en suspension dans le puits de la plaque de remise en suspension préparée. Agiter doucement avec l'anse. Jeter l'anse dans le récipient pour déchets biologiques à risque infectieux.
5. Répéter les étapes (3) à (4) pour 5 colonies suspectes maximum à analyser.
6. Procéder aux tests Assurance® GDS MPX pour STEC du Top 7 et Assurance® EHEC ID pour *E. coli* O157:H7 Tq comme indiqué dans le mode d'emploi [en commençant à l'étape **A. PROCÉDURE DE TEST (AMPLIFICATION ET DÉTECTION)**].

### Interprétation et résultats de confirmation des colonies

Une fois l'analyse terminée, le logiciel du Rotor-Gene® Assurance® GDS fournit un tableau de résultats. Chaque échantillon est identifié comme **positif**, **négatif** ou **pas d'amp.**

**Positif** : un isolat sera considéré comme positif pour *E. coli* O157:H7 si les deux critères suivants sont remplis :

1. Résultat positif avec EHEC ID : le test EHEC ID identifie le gène du sérogroupe O157 (*rfbE*) et le gène *stx1* ou le gène *stx2* et peut être ou ne pas être positif pour H7 (*fliC*).
2. Résultat positif avec GDS MPX pour STEC du Top 7 : le test GDS MPX pour les STEC du Top 7 fournit des résultats concernant le gène *eae* pour *E. coli* O157:H7.

**Négatif** : l'isolat est confirmé négatif pour *E. coli* O157:H7 s'il ne remplit pas les critères énoncés ci-dessus.

**Pas d'amp.** : aucune amplification ne s'est produite. Répéter le test en commençant à partir de Confirmation des colonies isolées, étape **Préparation des colonies**. Si le résultat "Pas d'amp." se répète, contacter votre service technique local.

**Remarque** : si *E. coli* O157:H7 n'est pas isolé à l'aide de la méthode directe par stries (ci-dessus), *E. coli* O157:H7 peut être isolé en utilisant soit le réactif de concentration O157 (inclus dans le Kit Assurance® GDS EHEC ID pour *E. coli* O157:H7) soit la plaque de remise en suspension contenant le reste de particules d'IMS ciblant O157 dans le tampon de remise en suspension issu des échantillons positifs avec GDS. Voir les étapes B et C ci-dessus.

**Remarque** : dans l'éventualité de résultats discordants (présumés positifs avec la méthode alternative, non confirmés par l'un des moyens ci-dessus), le laboratoire doit prendre les mesures nécessaires pour s'assurer de la validité des résultats obtenus.

### Stockage

Stocker les composants du kit Assurance® GDS EHEC ID pour *E. coli* O157:H7 Tq à 5 ±3 °C. La date de péremption du kit est indiquée sur l'étiquette de la boîte du produit.

### Précautions

**Respecter les Bonnes pratiques de laboratoire (voir la norme EN ISO 7218).**

Ne pas utiliser le kit de test au-delà de la date de péremption figurant sur l'étiquette de la boîte du produit.

Ne pas utiliser les réactifs du test Assurance® GDS EHEC ID pour *E. coli* O157:H7 Tq après expiration.

Assurance® GDS EHEC ID pour *E. coli* O157:H7 Tq doit être utilisé comme décrit dans le présent document.

### Sécurité

Kit Assurance® GDS EHEC ID pour *E. coli* O157:H7 Tq — Ce produit n'est pas destiné à un usage humain ou vétérinaire. Assurance® GDS EHEC ID pour *E. coli* O157:H7 Tq doit être utilisé comme décrit dans la notice. Le contenu du test peut être nocif en cas d'ingestion. L'utilisateur doit lire, comprendre et suivre toutes les informations

relatives à la sécurité figurant dans les instructions du kit Assurance® GDS EHEC ID pour *E. coli* O157:H7 Tq. Conserver les consignes de sécurité pour pouvoir les consulter ultérieurement.

Décontaminer et éliminer les produits conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux réglementations locales, nationales et fédérales.

Ne pas ouvrir ou autoclaver les tubes d'amplification usagés. Une fois l'analyse terminée, placer les tubes d'amplification usagés dans un récipient scellé contenant suffisamment de solution d'eau de Javel à 10 % pour recouvrir les tubes pendant au moins 15 min, ou dans un double sachet et les éliminer à l'extérieur du laboratoire. Suivre toutes les réglementations locales, des États/des provinces, et/ou nationales en vigueur relatives à l'élimination des tubes d'amplification. En cas de suspicion d'une contamination, humidifier une serviette en papier avec une solution d'eau de Javel à 10 % et essuyer toutes les paillasses de laboratoire et les surfaces de l'équipement. Éviter de vaporiser la solution d'eau de Javel directement sur les surfaces. Laisser la solution d'eau de Javel agir sur les surfaces pendant au moins 15 min avant de l'essuyer avec une solution d'alcool isopropylique à 70 %.

Pour préparer une solution d'eau de Javel à 10 %, ajouter 10 ml d'eau de Javel du commerce contenant au moins 5 % d'hypochlorite de sodium à 90 ml d'eau désionisée. La concentration finale d'hypochlorite de sodium dans la solution d'eau de Javel doit être de 0,5 % minimum. La solution d'eau de Javel est stable pendant 7 jours à compter de la préparation. Pour préparer une solution d'alcool isopropylique à 70 %, ajouter 70 ml d'alcool isopropylique pur à 30 ml d'eau désionisée ou acheter de l'alcool isopropylique à 70 % du commerce.

Ne pas ouvrir ou autoclaver les tubes d'amplification usagés. Une fois l'analyse terminée, placer les tubes d'amplification usagés dans un récipient scellé contenant une solution d'eau de Javel à 10 % pendant au moins 15 min, ou placer les tubes d'amplification dans un double sachet et les éliminer à l'extérieur du laboratoire.

**Rotor-Gene Assurance® GDS** — Une utilisation incorrecte de Rotor-Gene Assurance® GDS peut provoquer des blessures ou endommager l'appareil. S'ils ne sont pas manipulés correctement, certains composants peuvent présenter un risque de blessure du fait de leur forte chaleur. Pour un usage en toute sécurité, l'appareil ne doit être utilisé que par du personnel de laboratoire qualifié dûment formé. L'entretien de l'appareil ne doit être réalisé que par des techniciens de maintenance de MilliporeSigma.

**Enrichissement des échantillons.** — Pour réduire les risques liés à une exposition aux produits chimiques et aux produits biologiques à risque infectieux, effectuer les analyses de pathogènes dans un laboratoire correctement équipé sous la supervision d'un personnel formé. Toujours suivre les consignes de sécurité standards de laboratoire, notamment le port d'un équipement de protection individuelle (EPI) et d'une protection des yeux adaptés, lors de la manipulation des réactifs et des échantillons contaminés. Éviter tout contact avec les constituants des milieux d'enrichissement et les tubes de réactifs après l'amplification. Éliminer les échantillons enrichis conformément aux normes actuellement en vigueur dans le secteur. Décontaminer et éliminer les produits conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux réglementations locales, nationales et fédérales.

**Précautions pour *E. coli* O157:H7.** — *E. coli* O157:H7 est un micro-organisme présentant un degré de sécurité de niveau 3. Les échantillons biologiques, tels que les enrichissements, ont la capacité de transmettre des maladies infectieuses. Suivre toutes les réglementations locales, des États/des provinces, et/ou nationales en vigueur relatives à l'élimination des déchets biologiques. Porter un équipement de protection approprié comprenant, sans toutefois s'y limiter, des lunettes de protection, un masque facial, une blouse de laboratoire/des vêtements de protection et des gants. Toutes les tâches doivent être réalisées dans des installations correctement équipées, contenant du matériel de sécurité adapté (systèmes de confinement physique, etc.). Le personnel doit être formé conformément aux exigences de la réglementation et de l'entreprise/institution applicables avant de travailler avec des produits potentiellement infectieux. Tous les bouillons d'enrichissement doivent être stérilisés après toute étape de confirmation basée sur une culture. Nettoyer les postes de travail et le matériel de laboratoire avec le désinfectant de son choix avant et après chaque activité de laboratoire (solution d'hypochlorite de sodium, solution de phénol, solution d'ammonium quaternaire, etc.).

## ANNEXE A – Méthodes d'enrichissement

**Tableau 1. Types d'échantillon et méthodes d'enrichissement pour *E. coli* O157:H7.**

L'échantillon doit être prélevé dans l'enrichissement retenu, conformément aux instructions d'utilisation de Assurance® GDS MPX pour STEC du Top 7.

Catégorie de denrées alimentaires	Milieu	Taille de l'échantillon	Rapport échantillon/milieu (volume de milieu)	Durée d'enrichissement	Température d'enrichissement (préchauffage du milieu)
Viande crue et viande RTC*	mEHEC®	Jusqu'à 25 g	1:10 (225 ml)	8 à 26 h	41,5 ±1 °C (41,5 ±1 °C)
Viande de bœuf crue		Jusqu'à 375 g	1:5 (1 500 ml)	12 à 20 h	41,5 ±1 °C (41,5 ±1 °C)
Volaille crue, produits à base de volaille RTC, RTRH et RTE*		Jusqu'à 25 g	1:10 (225 ml)	10 à 26 h	41,5 ±1 °C (37 ±1 °C)
Lait cru et produits laitiers*		Jusqu'à 25 g	1:10 (225 ml)	12 à 26 h	41,5 ±1 °C (41,5 ±1 °C)
Lait cru et produits laitiers (à l'exception des fromages au lait cru)		Jusqu'à 25 g	1:10 (225 ml)	20 à 26 h	41,5 ±1 °C (41,5 ±1 °C)
Fromages au lait cru		Jusqu'à 25 g	1:10 (225 ml)	22 à 30 h	41,5 ±1 °C (41,5 ±1 °C)
Échantillons environnementaux*		Jusqu'à 25 g ou ml ou dispositif d'échantillonnage	1:10	12 à 26 h	41,5 ±1 °C (41,5 ±1 °C)

\* Pour ces protocoles, suivre les normes EN ISO 6887.

**Certificat NF Validation accordé par AFNOR Certification à Assurance® GDS EHEC ID pour E. coli O157:H7 Tq comme méthode alternative d'analyse pour la détection de E. coli O157:H7 dans la viande crue, les produits carnés prêts à cuisiner (RTC), la volaille crue, les produits à base de volaille prêts à cuisiner (RTC), les produits à base de volaille prêts à manger (RTE), les produits à base de volaille prêts à réchauffer (RTRH), le lait cru et les produits laitiers ainsi que les échantillons environnementaux en relation avec la méthode de référence décrite dans la norme internationale ISO EN 13136 conformément à la norme EN ISO 16140-2 (2016). Pour de plus amples informations sur la date de fin de validité de la certification NF VALIDATION, veuillez consulter le certificat TRA 02/13-04/22 disponible sur le site Internet <http://nf-validation.afnor.org/en>.**



**TRA 02/13-04/22**

**MÉTHODES ANALYTIQUES ALTERNATIVES POUR L'AGRO-ALIMENTAIRE**

<http://nf-validation.afnor.org/en>

## Entité de fabrication

BioControl Systems, Inc., 12822 SE 32<sup>nd</sup> St, Bellevue, WA 98005, États-Unis.

Tél. : +1 425-586-3300 [www.sigmaldrich.com](http://www.sigmaldrich.com)

BioControl Systems, Inc. est une filiale de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne.

