

Pseudomonas aeruginosa

Sérums agglutinants pour groupage de Bacilles pyocyaniques

DOMAINE D'APPLICATION

Les infections humaines ou animales dues au bacille pyocyanique (*Pseudomonas aeruginosa*) sont actuellement très fréquentes, en raison de la sélection dues aux antibiotiques à la plupart desquels cette bactérie devient résistante.

En milieu hospitalier, ces infections peuvent revêtir une allure épidémique. Elles sont alors redoutables et peuvent entraîner la fermeture provisoire du service dans lequel elles sévissent. Il devient alors impérieux de rechercher la filière épidémiologique de ces infections hospitalières, pour en trouver l'origine (il s'agit très souvent de solutions dites « antiseptiques » utilisées pour la désinfection du matériel et des sondes médicales non autoclavables), ou pour disculper le personnel soignant, éventuellement porteur sain (gorge, selles) de bacilles pyocyaniques non responsables de l'épidémie. Pour cette enquête épidémiologique, on doit rechercher si toutes les souches de bacille pyocyanique, isolées au cours de l'épidémie, sont identiques ou non.

Pour cette étude, trois méthodes peuvent être mises en oeuvre :

1. Etude des caractères biochimiques d'identification

Elle permet le diagnostic d'espèce.

2. Détermination du lysotype et du pyocynotype

Méthode très précise, mais ne pouvant être appliquée que dans les laboratoires spécialisés.

3. Détermination du groupe antigénique O à l'aide de sérums agglutinants

Cette méthode est d'utilisation facile et fournit une information indispensable et parfois suffisante pour les enquêtes épidémiologiques.

a) Groupes antigéniques O

Le classement en groupes O des souches de bacille pyocyanique a fait l'objet de nombreux travaux. Nous avons adopté cette classification établie par HABS et complétée par le Sous-Comité International des *Pseudomonas*.

D'après cette classification, il existe 16 groupes antigéniques O numérotés de 1 à 16.

b) Sérums agglutinants anti-pyocyaniques (ANTI-O)

Les immunosérums anti-O sont obtenus chez le lapin auquel on inocule des suspensions bactériennes chauffées (l'antigène H thermolabile est aussi détruit).

La spécificité est ensuite obtenue par saturation croisée.

Sérums-mélanges

Pour faciliter le typage, 4 mélanges de sérums sont préparés et désignés par les sigles PMA :

$$PMA = P_1 + P_3 + P_4 + P_6$$

$$PME = P_2 + P_5 + P_{15} + P_{16}$$

$$PMC = P_9 + P_{10} + P_{13} + P_{14}$$

$$PMF = P_7 + P_8 + P_{11} + P_{12}$$

Sérums monovalents

16 sérums monovalents numérotés de 1 à 16, sont disponibles. Il existe de fortes réactions croisées entre les groupes O : 7 et O : 8, d'autre part, ainsi qu'entre les groupes O : 13 et O : 14. Les sérums monovalents correspondant à ces groupes sont absorbés en conséquence.

PRESENTATION

Les Sérums-mélanges et les sérums monovalents sont présentés en compte-gouttes de 3 ml.

• Sérums-mélanges

PMA	code 355-8922
PME	code 355-8932
PMC	code 355-8942
PMF	code 355-8952

• Sérums monovalents

P ₁	code 355-8901
P ₂	code 355-8902
P ₃	code 355-8903
P ₄	code 355-8904
P ₅	code 355-8905
P ₆	code 355-8906
P ₇	code 355-8907
P ₈	code 355-8908
P ₉	code 355-8909
P ₁₀	code 355-8910
P ₁₁	code 355-8911
P ₁₂	code 355-8912
P ₁₃	code 355-8913
P ₁₄	code 355-8914
P ₁₅	code 355-8915
P ₁₆	code 355-8916

CONSERVATION / VALIDITE / LOT

- Prêt à l'emploi : à + 2 - 8°C.
- La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

METHODOLOGIE

Elle repose sur l'agglutination d'une suspension bactérienne vivante avec un sérum-anti O.

Mode opératoire :

Rechercher d'abord l'agglutination dans les 4 Sérums-mélanges, puis dans les 4 sérums spécifiques correspondant au mélange donnant une agglutination nette.

Prélever les bactéries à la surface d'une gélose assez sèche cultivée à 37°C depuis 16 à 24 h.

Mettre ces bactéries en suspension dans une goutte de chaque sérum-mélange déposée sur une lame, en ayant soin de faire une suspension très homogène, par adjonction progressive du sérum avec l'anse de platine.

L'agglutination O apparaît en quelques minutes, elle est fine et régulière et se distingue très facilement de fragments de colonie bactérienne mal émulsionnés éventuellement présents.

Rechercher ensuite l'agglutination dans les sérums spécifiques entrant dans la composition du sérum-mélange ayant donné une agglutination.

En cas d'échec (par exemple avec des souches produisant beaucoup d'antigènes muqueux), il est conseillé d'effectuer une suspension très épaisse en eau distillée des colonies prises sur gélose, de chauffer cette suspension très épaisse en eau distillée des colonies prises sur gélose, de chauffer cette suspension à 120°C pendant 30 min (autoclave). Cette suspension est centrifugée, le surnageant est écarté, et les agglutinations sont à nouveau recherchées à partir du culot bactérien.

REMARQUES

- 5 % environ de souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont instables, auto-agglutinables.
- 1 % environ de souches stables de *Pseudomonas aeruginosa* appartiennent à d'autres groupes que les 16 utilisés ici. Leur typage serait théoriquement possible avec d'autres sérums, mais l'intérêt pratique de ces nouveaux groupes O paraît limité.

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

BIBLIOGRAPHIE

• **VIEU J.F., ALLOS G., HASSAN-MASSOUD B., SANTOS-FERREIRA M.O., TSELENTIS G. (1984)** : Existe-t-il une épidémiologie géographique des sérogroupes O de *Pseudomonas aeruginosa* ? Bull Soc. Path. Ex. **77** : 288-294.

• **HABS I.Z. (1957)** : Hyg. **144** : 218-228.