

DISQUES POUR TESTER LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

APPLICATION VETERINAIRE UNIQUEMENT

CARTOUCHE DE 50 DISQUES

Etude de la sensibilité aux agents antimicrobiens.



2020/05

1. USAGE PREVU

Les disques antibiotiques servent à réaliser des tests de sensibilité antimicrobienne semi-quantitatifs selon la méthode de diffusion en milieu gélosé.

2. RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

L'utilisation de ces disques consiste à évaluer semi-quantitativement la sensibilité *in vitro* aux agents antimicrobiens des bactéries à croissance rapide et de quelques espèces exigeantes, par une méthode de diffusion en milieu gélosé.

Cette méthode s'appuie sur une procédure standardisée publiée par l'OMS^(1,2) et est adoptée comme norme consensuelle par le CLSI⁽⁵⁾ CA-SFM⁽³⁾ et EUCAST⁽⁷⁾ (elle est régulièrement révisée).

Consultez les documents les plus récents du CLSI^(5,6) CA-SFM^(3,4) et EUCAST⁽⁷⁾ pour prendre connaissance des recommandations relatives aux tests de sensibilité aux antibiotiques et à l'interprétation de leurs résultats.

3. PRINCIPE DU TEST

Des disques en papier imprégnés d'une concentration définie d'agent antimicrobien sont déposés à la surface d'un milieu approprié^(A)ensemencé au préalable à l'aide d'un inoculum^(A) calibré de culture pure et fraîche de la souche bactérienne à tester. Après incubation^(A), les boîtes de Petri sont examinées et les zones d'inhibition situées autour des disques sont mesurées et comparées à des valeurs critiques^(B) pour les différents agents antimicrobiens testés, en vue de déterminer la catégorie clinique de sensibilité (résistante, intermédiaire, sensible, etc.). Le diamètre de la zone d'inhibition est proportionnel à la sensibilité de la souche bactérienne testée.

^(A) Conformément aux recommandations actuelles du CLSI⁽⁵⁾ CA-SFM⁽³⁾ and EUCAST⁽⁷⁾.

^(B) Conformément aux recommandations actuelles du CLSI⁽⁶⁾ and CA-SFM⁽⁴⁾.

4. RÉACTIFS

4.1 Description

Les disques Bio-Rad mesurent 6,5 mm et sont fabriqués à partir de papier absorbant de qualité supérieure puis imprégnés avec une concentration précise d'agent antimicrobien. Les disques sont clairement identifiés via un sigle composé de 3 lettres et imprimé sur les deux faces du disque (voir Tableau 1). Les disques Bio-Rad sont présentés dans des cartouches de 50 disques conditionnées dans des containers étanches avec un dessicant.

Tableau 1 : Disques Bio-Rad pour tester la sensibilité aux antibiotiques

	CHARGE DU DISQUE	SYMBOLE	CONDITIONNEMENT	CODE PRODUIT
Ceftiofur	30 µg	XNL	4 x 50 Disques	3566658
Enrofloxacin	5 µg	ENR	4 x 50 Disques	3567508
Marbofloxacin	5 µg	MAR	4 x 50 Disques	3567628
Tilmicosin	15 µg	TMS15	4 x 50 Disques	66092
Tylosin	30 µg	TYL30	4 x 50 Disques	66316

4.2 Conditions de conservation et de manipulation

Les cartouches de disques doivent être conservées dans leurs containers, à une température comprise entre +2 °C et +8 °C, dans un endroit sec.

La date d'expiration s'applique exclusivement aux disques contenus dans des cartouches intactes conservées conformément aux instructions du fabricant. La date d'expiration et le numéro de lot figurent sur chaque emballage (container et/ou cartouche). La stabilité des disques des cartouches ouvertes placées dans des distributeurs (conservés avec des dessiccants conformément aux recommandations) a été validée dans des conditions de routine pendant 6 semaines, à l'exception des disques antibiotiques arborant le symbole  pour lesquels la stabilité est indiquée en semaines à l'intérieur de ce symbole.

Si la cartouche reste dans le distributeur après la distribution, il est impératif de la conserver à +2-8 °C dans un endroit sec, avec un dessicant à l'intérieur.

5. AVERTISSEMENT ET PRÉCAUTIONS D'UTILISATION

5.1 Consignes d'hygiène et de sécurité

- La manipulation de ce coffret de test est exclusivement réservée au personnel qualifié formé aux procédures de laboratoire et familier avec les risques potentiels. Porter des vêtements de protection appropriés, des gants et une protection des yeux/du visage et manipuler de manière appropriée conformément aux bonnes pratiques de laboratoire requises.
- Éliminer tous les échantillons et le matériel utilisés pour réaliser le test comme s'ils contenaient un agent infectieux. Les déchets de laboratoire, chimiques ou biologiques doivent être manipulés et jetés selon les réglementations locales, régionales et nationales.
- Toujours respecter les techniques actuelles et précautions relatives à la protection contre les risques microbiologiques. Après utilisation, stériliser les cultures et l'ensemble du matériel contaminé.

5.2 Précautions liées à la procédure

- Suivre les instructions des recommandations actuelles (CLSI⁽⁵⁾, CA-SFM⁽³⁾, EUCAST⁽⁷⁾).
- Ne pas utiliser le produit si l'emballage est endommagé.
- Le container doit être remis à température ambiante (18-30 °C) pendant 20 minutes avant ouverture. Après utilisation des disques, remettre les cartouches inutilisées dans leur container, à une température comprise entre +2 °C et +8 °C.
- Ne pas utiliser les disques au-delà de la date d'expiration. Ne pas utiliser une cartouche de disques restée à température ambiante (18-30 °C) pendant plus de 8 heures sans vérifier son niveau acceptable de performances avant de continuer à utiliser cette cartouche⁽⁸⁾

6. ÉCHANTILLONS

Les disques ne doivent pas être utilisés pour des tests réalisés directement sur des échantillons biologiques.

Se référer aux recommandations actuelles (CLSI⁽⁵⁾, CA-SFM⁽³⁾ et EUCAST⁽⁷⁾) définissant la préparation de l'inoculum à partir d'une culture pure et fraîche.

7. PROCÉDURE

7.1 Équipement requis non fourni

- Distributeur de disques :
6-7 disques Réf. 50294
12-16 disques Réf. 50295
- Milieux de culture conformes aux recommandations actuelles (CLSI⁽⁵⁾, CA-SFM⁽³⁾ et EUCAST⁽⁷⁾). Réactifs.
- Souches bactériennes pour le contrôle qualité • contrôle d'opacité équivalent à la norme Mac Farland 0.5.
- Équipements de laboratoire requis pour les tests de sensibilité aux antibiotiques selon la méthode de diffusion sur agar.

7.2 Procédure de test

Se référer aux instructions recommandées par le CLSI^(5,6), le CA-SFM^(3,4) et l'EUCAST⁽⁷⁾ pour toutes les étapes des tests de sensibilité aux antibiotiques et l'interprétation de leurs résultats : le CLSI⁽⁵⁾, le CA-SFM⁽³⁾ ou l'EUCAST⁽⁷⁾ proposent des techniques standardisées pour la préparation de l'inoculum, l'ensemencement des boîtes de Pétri, le choix et la disposition des disques à tester, ainsi que la température et la durée d'incubation. Il convient également d'appliquer à tout moment les bonnes pratiques de laboratoire.

7.3 Interprétation des résultats

- Mesurer précisément les diamètres des zones d'inhibition observées et les comparer aux diamètres critiques indiqués dans les recommandations actuelles (CLSI⁽⁶⁾, CA-SFM⁽⁴⁾).
- Une catégorie clinique (intermédiaire, résistante, sensible ou non sensible) est donnée pour chaque micro-organisme, en fonction du diamètre observé et des diamètres critiques de l'antibiotique testé.
- Ces critères de catégorisation clinique selon les diamètres critiques sont régulièrement révisés par le CLSI⁽⁶⁾, CA-SFM⁽⁴⁾.

8. LIMITATIONS DU TEST

- Les mesures de la zone d'inhibition peuvent varier selon l'utilisateur. Cela peut influencer sur la catégorisation clinique (résistante, intermédiaire, sensible ou non sensible). Cette incertitude doit être prise en compte dès que les résultats d'interprétation sont proches d'un changement de catégorie.
- D'autres agents antimicrobiens que ceux figurant dans le Tableau 2 peuvent être utilisés. Les tests de sensibilité qui utilisent ces agents doivent être interprétés en fonction de la présence ou de l'absence d'une zone d'inhibition et doivent être considérés comme seulement qualitatifs en attendant que les zones d'interprétation aient été établies. Tous les diamètres des zones d'inhibition doivent être enregistrés.
- L'interprétation finale, comme toutes les interprétations de laboratoire, ne doit pas se baser sur les résultats d'un seul test, mais sur une vue d'ensemble des données cliniques et des résultats biochimiques, cytologiques et immunologiques.
- Les performances du test dépendent non seulement de l'activité des disques, mais également de facteurs tels que l'utilisation d'un inoculum et de souches de contrôle appropriés, de milieux de culture appropriés et testés au préalable et d'une température de stockage adéquate.

9. PERFORMANCES / CONTROLE QUALITE

Les performances des disques antibiotiques sont systématiquement contrôlées à l'aide des souches indiquées ci-dessous (conformément aux recommandations actuelles CLSI⁽⁶⁾, CA-SFM⁽⁴⁾):

<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923™
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853™

Le Tableau 2 indique pour chaque couple molécule/charge quelles recommandations sont associées, à l'aide du ✓. Il récapitule également les limites acceptables pour les diamètres d'inhibition obtenus par la méthode de diffusion en milieu gélosé pour les souches de références indiquées ci-dessous. Le ✓ mis en surbrillance indique les recommandations mentionnant les limites acceptables précisées.

Tableau 2 : Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en milieu gélosé avec les souches de référence indiquées ci-dessous.

	Charge du disque	Directives			Diamètre acceptable de la zone d'inhibition (mm) Limites du contrôle qualité		
		CLSI	CASF-M-VET	INTERNE	<i>E. coli</i> ATCC® 25922™	<i>S. aureus</i> ATCC® 25923™	<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 27853™
Ceftiofur	30 µg	✓	✓	✓	23-31	26-31	13-20
Enrofloxacin	5 µg	✓	✓		32-40	27-31	15-19
Marbofloxacin	5 µg	✓	✓	✓	31-37	24-30	17-24
Tilmicosin	15 µg	✓	✓			17-21	
Tylosin	30 µg	✓	✓			18-26	

10. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. 1977. Technical report series 610. W.H.O., Geneva. Annex 5 p. 123-138.
- World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. 1992. Technical report series 822. W.H.O., Geneva.
- CA-SFM: Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie 2013. French Society of Microbiology.
- CA-SFM: Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie RECOMMANDATIONS VÉTÉRINAIRES 2019.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018. Approved standard VET01. 5th Edition Performance Standards for Antimicrobial Disks and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals, CLSI, Wayne, Pa.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018. CLSI supplements VET08, 4th Edition. Performance Standards for Antimicrobial Disks and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals, CLSI, Wayne, Pa.
- EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing - Version 10.0 - January 2020.
- V. Loncle-Provot, E. Keller, M.O. Gourdin, M.L. Garrigues. Etude de la stabilité des disques antibiotiques dans les conditions d'utilisation en routine, 18th RICAI interdisciplinary meeting on anti-infectious chemotherapy, Paris, Dec.3/4 1998.

BIO-RAD est une marque déposée de Bio-Rad Laboratories, Inc.

Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33
www.bio-rad.com