

INDEX, ÍNDICE, ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ, INDEKSAS	
1- 9	ENGLISH
10-19	FRANÇAIS
20- 21	SYMBOLS SIMBOLOS SIMBOLI SYMBOL SYMBOLES ΣΥΜΒΟΛΟ SIMBOLIS SYMBOLY SYMBOLE



Instructions for Use

Thermo Scientific™ Sensititre™ Susceptibility Plates for
Anaerobes (*B. fragilis* group)

007- Anaerobe ROW Only –CID9248
Revision Date: 4 th December 2018

Sensititre Susceptibility Plates for Anaerobes (B.fragilis group)

Sensititre 46-48 hours

For *in vitro* diagnostic use

For full plate information, including plate layout, QC information, interpretative criteria, performance data and references, please refer to www.trekds.com/techinfo. The plate code and batch number will be required.

INTENDED USE

The Sensititre Anaerobe Susceptibility Plate is designed for *in vitro* diagnostic use in determining antimicrobial susceptibility of *B. fragilis* isolates.

SUMMARY AND PRINCIPLES OF USE

The Sensititre susceptibility plate is a micro broth dilution method in a dried format and provides qualitative (susceptible, intermediate, resistant) and semi- quantitative (minimum inhibitory concentration, MIC) results. Each susceptibility plate is dosed with antimicrobics at appropriate dilutions and dried to extend plate storage periods. Plates are inoculated with organisms suspended in Thermo Scientific Sensititre broth and incubated at 34-36°C in an anaerobic atmosphere for 46 – 48 hours. Results are determined by visually observing the lowest antimicrobial concentration showing inhibition of growth.

PRECAUTIONS

Results should be used as an aid in selecting the drug of choice for treatment. This product is for *in vitro* diagnostic use and should be used by properly trained personnel. Precautions should be taken against the dangers of microbiological hazards by properly sterilizing specimens, containers, media, and test plates after use. Directions should be read and followed carefully.

STORAGE AND SHELF LIFE

Store Sensititre susceptibility plates in original containers at 15 – 25°C and away from direct sunlight and heat until used. Each plate is packaged in foil with a desiccant. Plates should not be used beyond their expiration date, if the foil pouch is damaged, or the desiccant color is not orange. Plates should be inoculated within 5 hours of removing from pouch.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Specimens should be collected and handled following recommended guidelines.

PROCEDURE

Materials supplied

- 10 Sensititre™ anaerobe susceptibility plates
- 10 Perforated adhesive seals

Materials required but not supplied [Product code]:

Broth:

- Sensititre™ Cation Adjusted Mueller-Hinton Broth with TES (CAMHBT) [T3462-05]
- Sensititre Supplemented Brucella Broth for Anaerobes [YT3450]

Turbidity:

- Thermo Scientific 0.5 McFarland Standard [E1041]
- Sensititre Nephelometer™ [V3011]

Plate inoculation:

For manual plate inoculation

- 100µL pipettor and disposable tips

For automated plate inoculation

- Sensititre AIM™ Automated Inoculation Delivery System [V3020]
- Doseheads for Sensititre AIM for plate inoculation [E3010]

Plate reading:

For manual plate reading

- Sensititre Manual Viewbox [V4007]

For optimized manual plate reading

- Sensititre Vizion Digital MIC Viewing System™ [V2021]

Other supplies:

- Sterile inoculum reservoir
- Quality control strains (see Table 1)
- Incubator 34-36°C, anaerobic jar or chamber
- Vortex mixer
- Current CLSI, EUCAST, or local guideline documents

SELECTION OF SUSCEPTIBILITY TEST BROTH

Thermo Scientific Sensititre broth is validated for use with Sensititre susceptibility plates. Sensititre susceptibility plates for testing anaerobic organisms have been validated for use with Sensititre Supplemented Brucella broth.

INOCULATION PROCEDURE

Allow broth to equilibrate to room temperature before use.

1. Test organisms must be grown anaerobically in pure culture and examined by Gram stain prior to use in the system.
2. Test organisms may be removed from Brucella agar with sheep's blood. Cultures used for inoculum preparation should be less than 72 hours old. The agar plate should not remain in an aerobic atmosphere for more than 30 minutes prior to making the suspension.
3. Using a cotton swab or inoculating loop, suspend 3 – 5 colonies from the agar plate in 5mL Sensititre Mueller-Hinton Broth and adjust to achieve a turbidity equivalent to 0.5 McFarland turbidity standard. Mix well.
4. Invert the tube 8-10 times
5. Using a calibrated pipette transfer 100µL of the suspension into a tube of Sensititre Supplemented Brucella broth to achieve an inoculum of 1×10^6 cfu/mL. The final inoculum should be inoculated into the plate within 15 minutes of preparation.
6. Transfer 100µl to each well of the plate by either:
 - a. **Sensititre AIM.** Replace the tube cap with a Sensititre single-use dosehead and inoculate the plate according to the AutoInoculator/AIM instructions.

Remove the test tube/dosehead combination from the AutoInoculator /AIM and store inverted in a rack, or discard.

- b. **Manual pipette.** Pour the broth into a sterile seed trough and inoculate the plate using an appropriate pipette (e.g. 8-channel pipette). Carefully inoculate 100µL into

each well of the Sensititre® plate. Avoid drawing up any air bubbles as they will interfere with the accurate delivery of the inoculum. Since the tips are used to inoculate a series of wells, avoid touching the tip to the bottom of any well.

7. A periodic check of the colony count of the positive control well is recommended. (See Appendix 1). Isolates should have an inoculum of approximately 1×10^6 cfu/mL.
8. Cover all wells with the perforated adhesive seal. Avoid creases as these can lead to skips.
9. Plates should be inoculated within 5 hours of removal from their pouch

INCUBATION

Incubate inoculated plates at 34-36°C in an anaerobic atmosphere for 46-48 hours. No more than three plates should be stacked while incubating.

READING TEST RESULTS

After incubation, results can be manually read using the Sensititre Manual Viewbox or the Vizion for computer assisted reading. Refer to the Sensititre Vizion User Manual for instructions on operating the Vizion. Plate adhesive seals do not need to be removed prior to reading results. Growth appears as turbidity or as a deposit of cells at the bottom of a well. The MIC is usually recorded as the lowest concentration of the antimicrobial that inhibits visible growth. The positive growth control wells should be read first. If there is no growth in any of the positive growth control wells, the results are invalid.

The following points should be noted:

a. **Trailing End Points**

Most organism / antimicrobial combinations give distinct end points. With some combinations there may be a gradual fading of growth over 2 to 3 wells. End points should be determined as the first well that inhibits visible growth with the exception of Sulphonamides where the end point is determined as an 80% decrease in growth compared to the positive control well.

Examples for reading and determining endpoints are shown in the CLSI, M11-A8 document (2).

b. **Contamination**

Single well contamination appears as growth in one well that is bordered by wells showing no growth. Single well contamination can be ignored, however, if multiple well contaminants are suspected, the test should be repeated.

c. **Skips**

Occasionally a “skip” may be seen - a well showing no growth bordered by wells showing growth. There are a variety of explanations for skips including contamination, mutation, creased seal and misaligned dosing. A single skip can be ignored. However, in order to ensure effective antimicrobial therapy, **never** read the skip well as the MIC; always read the lowest well concentration above which there is consistently no growth.

d. **Mixed Cultures**

With the exception of trailing end points as described in section (a) above, if two end points are seen as a distinct “button” of cells followed by several wells of diffuse growth with the “button” no longer visible (or seen as smaller buttons), there may be a mixed

bacterial population. Purity can be checked by sub-culturing the growth onto a suitable agar plate. Test results are invalid if a mixed culture is detected.

INTERPRETATION OF RESULTS

For interpretation of results, refer to the MIC interpretive guidelines provided by CLSI, EUCAST, or local standard guidelines.

MIC Results

The MIC is recorded as the lowest concentration of antimicrobial that inhibits visible growth or shows a significant reduction in growth. If no growth occurs in any well containing the dilutions of antimicrobial, other than the positive control well, the MIC should be recorded as less than or equal to the lowest concentration of antimicrobial on the plate.

QUALITY CONTROL – Refer to www.trekds.com/techinfo

Frequency of quality control testing should be conducted in accordance to local guidelines. Inoculum should be cultured onto a suitable medium to check for purity. Test results are invalid if a mixed culture is detected.

a. Sensititre Plates

The inoculum suspension should be cultured onto a suitable medium to check for purity, and incubated both aerobically and anaerobically. Test results are invalid if a mixed culture is detected.

All Sensititre® plates include positive control wells. Tests are invalid unless there is distinct growth in all positive control wells.

A number of factors influence MICs including organism state, inoculum density, temperature, and broth. In practice replicate MICs form a normal distribution with the majority of results lying within one dilution of the modal value. The test procedure can be considered satisfactory if control organism MICs are within range. Results should **not** be reported if QC results are not in range.

b. Selection of Broth

Each lot of Sensititre® supplemented Brucella broth is performance tested for use in Sensititre anaerobe susceptibility products.

Contact Thermo Fisher Scientific Microbiology Technical Support for assistance in the event that quality control discrepancies cannot be resolved.

EXPECTED VALUES

For expected values of quality control organisms, refer to Table 1. For expected values of clinically occurring organisms, it is recommended that each testing site generate a comprehensive antibiogram to determine the percentage of susceptibility to each antimicrobial tested. National based antibiograms are available to provide general guidelines of expected values (2). Antibiotic resistance may vary due to nosocomial infections and geographic location. It has been reported for certain antimicrobics that increased resistance may occur over the life span of the antimicrobial

Table 1: Acceptable Quality Control ranges* for QC organisms

Organism ATCC Number	<i>B. fragilis</i> ATCC® 25285™	<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC® 29741™
ANTIMICROBIC		
AMPICILLIN	<u>8->16</u>	<u>8-32</u>
AMOXICILLIN / CLAVULANIC ACID	0.25/0.12-1/0.5	0.25/0.12-1/0.5
AMPICILLIN/SULBACTAM	0.5/0.25-2/1	0.5/0.25-2/1
CEFOTETAN	1-8	16-128
CEFOXITIN	2-8	8-64
CEFTIZOXIME	-	-
CHLORAMPHENICOL	4-16	<u>4-16</u>
CLINDAMYCIN	0.5-2	2-8
DOXYCYCLINE	-	2-8
ERTAPENEM	0.06-0.5	0.5-2
GARENOXACIN	0.06-0.25	0.25-2
IMIPENEM	0.03-0.25	<u>0.12-0.5</u>
LINEZOLID	2-8	2-8
MEROPENEM	0.03-0.25	0.06-0.5
METRONIDAZOLE	0.25-2	0.5-4
MEZLOCILLIN	<u>8-32</u>	<u>8-32</u>
MOXIFLOXACIN	0.12-.5	1-8
PENICILLIN G	8-32	8-32
PIPERACILLIN	4-16	8-64
PIPERACILLIN/TAZOBACTAM	0.03/4-0.25/4	2/4-16/4
TETRACYCLINE	<u><0.25-1</u>	<u>8-32</u>
TICARCILLIAN/CLAVULANIC ACID	0.06/2-0.5/2	0.5/2-2/2

Note: *Ranges different or additional to Table 2J-1 of CLSI M100 S26E are underlined.

Contact Thermo Scientific Sensititre Technical Support in the event that quality control discrepancies cannot be resolved .

LIMITATIONS

1. This product is designed to conform to recommendations of the CLSI anaerobe reference procedure (2).
2. In common with all other methods of antimicrobial susceptibility testing, the results generated by Sensititre susceptibility plates are *in vitro* results.
3. Trained personnel are necessary to set up and interpret results.

PERFORMANCE

Plates are designed to give comparable performance to the CLSI and EUCAST reference micro broth procedure. Comparable performance is defined as >90% essential agreement with the reference MIC on a typical mix of organisms (see References).

For further information, please contact Thermo Scientific Sensititre Technical Support.

APPENDIX 1: Colony Count Procedure.

Perform immediately after inoculating a plate.

1. Transfer 10µL of the inoculated broth into 10 ml of reduced 0.85% saline or reduced broth.
2. Mix and transfer 100µL of this dilution onto an appropriate agar plate.
3. Spread the inoculum over the entire surface of the plate with the aid of a sterile loop or bent glass rod.
4. Incubate at 34-36° C for 48 hours in an anaerobic atmosphere.
5. Count the colonies, 100 colonies indicates an inoculum of 1×10^6 cfu/mL.

REFERENCES

1. Ericsson, H.M., Sherris, J. (1971) Antibiotic susceptibility testing. Report of an international collaborative study. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl.* **217**
2. Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria, Approved Standard (2012) M11-A8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova.
3. I. Phillips, A. King, C.E. Nord and B. Hoffstedt. (1992) Antibiotic Sensitivity of the *Bacteroides fragilis* Group in Europe. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* **11**: 292-304.
4. M. Teresa Durán y Francisca Molina (1996). Susceptibilidad antimicrobiana de bacterias anaerobias aisladas en un año. *Enferm. Infect. Microbiol. Clin.* **14**: 370-376
5. A. Guerra, F. Mesa and A. Garcia Perea. (1996) Susceptibilidad in vitro de los Microorganismos Anaerobios en el Hospital La Paz. Congreso S.E.I.M.C.
6. C. Betriu, M. Gomez, M.L.Palau, A. Sanchez and J.J.Picazo. (1996) Situación Actual de la Resistencia Antibiótica de *Clostridium difficile*. Congreso S.E.I.M.C.
7. E. T. Huang and S. Tabaqchali. (1978) Evaluation of Sensititre for the Susceptibility testing of Anaerobic Bacteria. *Inter. Soc. Of Chemotherapy.* 475-477
8. K. Dornbusch, A. Lindmark and C.E. Nord (1978) Evaluation of Microdilution Trays (Sensititre) for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Bacteroides fragilis*. *Medical Microbiology and Immunology* **165**: 147-151.
9. M.T. Pelaéz *etal.* (1992) Sensibilidad de microorganismos anaerobios: evaluación de un Nuevo método por Microdilución en placa (Sensititre). *Enf. Infect. Y Microbiol. Clin.* **10**: Supl.2. p119.

DISCLAIMER

The information provided in this technical insert is current at the time of printing and may change without notice.

The latest information can be downloaded from the www.TREKDS.com/techinfo or by contacting Thermo Fisher Scientific Microbiology Technical Support



Legal Manufacturer:
TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19 Willard Way, Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex.
RH19 1XZ,
United Kingdom
Tel: +44-1342-318777



The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark, and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC cultures.

© 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.



Technical Support email addresses

Austria	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgium	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Czech Republic	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Denmark	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
France	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finland	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Germany	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Italy	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Netherlands	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norway	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Spain	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Sweden	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
UK	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com



Mode d'emploi

SENSITITRE
PLAQUES DE SENSIBILITÉ POUR
ORGANISMES ANAÉROBES CLINIQUES (groupe *B. fragilis*)

007-Anaerobe ROW only - CID9833
Date de révision : Mai 2019

PLAQUES DE SENSIBILITÉ POUR ORGANISMES ANAÉROBES CLINIQUES (groupe *B. fragilis*)

Pour diagnostic *in vitro*

Pour des informations complètes sur la plaque, y compris la disposition de la plaque et les informations de contrôle qualité, rendez-vous sur www.trekds.com/techinfo. Vous devez connaître le code de plaque et son numéro de lot.

Utilisation prévue

Le système de sensibilité de CMI anaérobie Sensititre™ est un produit de diagnostic *in vitro* conçu pour les tests de sensibilité d'isolats de *B. fragilis*.

Résumé et Principes d'utilisation

Le système de sensibilité Sensititre est une méthode en microbouillon qui fournit des résultats qualitatifs (sensible ou résistant) et quantitatifs (concentration minimale inhibitrice ou CMI) dans un format séché. Chaque plaque de microdilution comporte des agents antimicrobiens à des dilutions appropriées. Les plaques sont inoculées avec des organismes en suspension dans le bouillon Thermo Scientific Sensititre et incubées à une température comprise entre 34 et 36 °C dans une atmosphère anaérobie pendant 46 à 48 heures. Les résultats sont déterminés en observant visuellement la plus faible concentration en antimicrobiens montrant une inhibition de la croissance. Les résultats peuvent être lus manuellement, par observation visuelle de la croissance.

Précautions

Les résultats doivent être considérés comme une aide pour optimiser le choix du médicament utilisé pour traiter le patient. Ce produit est destiné à un usage diagnostique *in vitro* et doit être utilisé par un personnel correctement formé. Des précautions doivent être prises pour se prémunir contre les risques microbiologiques en stérilisant correctement les échantillons, les récipients, les milieux et les plaques de test après utilisation. Ces instructions doivent être lues attentivement et appliquées avec soin.

Stockage et durée de conservation

Les plaques doivent être conservées à température de 15 - 25 °C et à l'abri des rayons directs du soleil et de toute source de chaleur directe. Chaque plaque est emballée dans un sachet en aluminium avec un agent déshydratant (gel de silice). N'utilisez pas les plaques ou bouillons si la date d'expiration est dépassée, si l'agent déshydratant n'est pas de couleur orange, ou si le sachet en aluminium est abîmé. Inoculez la plaque dans les 5 heures suivant son déballage.

Collecte et préparation des échantillons

Les échantillons devront être recueillis, transportés, conservés puis mis en culture dans le milieu d'isolement primaire conformément aux procédures établies par les laboratoires microbiologiques pour obtenir des colonies isolées.

Procédure

Matériel inclus :

10 Plaques de sensibilité pour anaérobies Sensititre™
10 Films adhésif perforés

Éléments non inclus [code produit] :

Bouillon :

Bouillon Mueller-Hinton à teneur en cations contrôlée Sensititre™ avec tampon TES (CAMHBT) [T3462-05]

Bouillon Brucella supplémenté Sensititre™

Turbidité

Standard de turbidité de 0,5 sur l'échelle de McFarland [E1041]

Inoculation de plaque :

Pour l'inoculation manuelle de plaques :

Pipette de 100µL et embouts jetables

Pour l'inoculation automatisée de plaques :

Sensititre™ AIM™ [V3020]

Têtes de dosage Sensititre™ (à utiliser avec AIM™) [E3010]

Lecture de la plaque :

Pour la lecture manuelle des plaques :

Lecteur manuel [V4007]

Pour une lecture manuelle optimisée des plaques :

Sensititre™ Vizion™ [V2021]

Autres matériels:

Réservoir d'inoculum stérile

Souches de contrôle qualité (voir tableau 1)

Incubateur à 34 – 36 °C, sans CO₂

Bocal ou chambre anaérobie

Agitateur Vortex

Documents CLSI, EUCAST, ou directives locales actuels

Sélection du bouillon pour le test de sensibilité

Les bouillons approuvés pour le système Sensititre ont été testés et leurs performances vérifiées avec les produits de test de sensibilité Sensititre. Les plaques de sensibilité Sensititre pour tester les organismes anaérobies ont été testées et leurs performances vérifiées avec le bouillon Brucella supplémenté Sensititre, fabriqué par TREK.

Procédure d'inoculation

Laissez tous les bouillons s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.

1. Les organismes d'essai doivent être cultivés de manière anaérobie en culture pure et examinés par coloration de Gram avant leur utilisation dans le système.

1. Choisissez 3 à 5 colonies de la plaque de gélose primaire fraîche, telle que la plaque de gélose au sang Brucella, émulsionnez dans 5 mL de bouillon Mueller-Hinton Sensititre, puis ajustez à un standard de 0,5 sur l'échelle de McFarland. Mélangez soigneusement.

2. Les organismes d'essai peuvent être retirés de la gélose Brucella avec du sang de mouton. Les colonies ne doivent pas être âgées de plus de 72 heures et la plaque de gélose ne doit pas rester dans une atmosphère aérobie plus de 30 minutes avant la préparation de la suspension.

3. À l'aide d'un coton-tige ou d'une boucle d'inoculation, suspendre 3 à 5 colonies de la plaque d'agar dans 5 ml de bouillon Sensititre Mueller-Hinton et ajuster de manière à obtenir une turbidité équivalente à un standard de turbidité de 0,5 McFarland.

4. Inverser le tube 8 – 10 fois

5. Transférez 100µL de la suspension dans un tube de bouillon Brucella supplémenté Sensititre pour obtenir un inoculum de 1×10^6 cfu/mL. L'inoculum final doit être inoculé dans la plaque dans les 15 minutes suivant sa préparation.

6. Transférez 100µL par (au choix) :

a. **Sensititre AIM.** Remplacez le capuchon du tube par une tête de dosage Sensititre à usage unique et inoculez la plaque en suivant les instructions du système AIM.

Retirez l'ensemble tube à essai-tête de dosage du système AIM dans les 30 secondes suivant l'inoculation d'une plaque, puis stockez-le à l'envers dans un portoir ou mettez-le au rebut.

b. **Pipette manuelle:** versez le bouillon dans un réservoir de pipetage stérile et inoculez la plaque à l'aide d'une pipette appropriée (par exemple une pipette à 8 canaux). Inoculez soigneusement 100 µL dans chaque puits de la plaque Sensititre. Évitez la création de bulles d'air car elles gêneraient la distribution précise de l'inoculum. Comme les pointes sont utilisées pour inoculer une série de puits, évitez de toucher la pointe au fond des puits.

7. Vérifiez périodiquement le nombre de colonies dans le puit du contrôle positif. (Voir l'Annexe 1). Les isolats doivent avoir un inoculum d'environ 1×10^6 cfu/mL.

8. Couvrez tous les puits avec le film adhésif perforé. Évitez les plis, car ils peuvent être à l'origine de sauts de puits.

9. Les plaques doivent être inoculées dans les 5 heures suivant leur déballage.

Incubation

Incubez à 34 – 36 °C de manière anaérobie pendant 46 à 48 heures.
Il est possible d'empiler jusqu'à trois plaques.

Lecture des résultats de test

Après incubation, les résultats peuvent être lus avec le lecteur manuel Sensititre ou le système Vizion. Reportez-vous au guide de l'utilisateur du système Vizion. Il n'est pas nécessaire de retirer le film adhésif. La croissance prend la forme d'une turbidité ou d'un dépôt de cellules au fond du puits. La CMI enregistrée représente la concentration minimale d'agent antimicrobien permettant d'inhiber la croissance visible. Il convient de lire d'abord les puits correspondant aux contrôles positifs de croissance. Si l'un des contrôles positifs ne présente aucune croissance, les résultats ne sont pas valides.

Les points suivants sont à garder à l'esprit :

a. Atténuation progressive de la croissance

Pour la plupart des combinaisons organisme-agent antimicrobien, la croissance est nettement inhibée à une concentration donnée. Toutefois, dans certains cas, il est possible d'observer une atténuation progressive de la croissance sur 2 ou 3 puits. Dans ces cas, la CMI est la concentration correspondante au premier puits où la croissance est visiblement inhibée, à l'exception des sulfamides pour lesquels la CMI doit correspondre à une diminution de 80 à 90 % de la croissance par rapport au puits de contrôle.

Des exemples de lecture et de détermination sont présentés dans le document CLSI, M11.

b. Contamination

En cas de contamination, un puits peut afficher une croissance alors que les puits avoisinants ne présentent pas de croissance. Une telle contamination, ne touchant qu'un seul puits, peut être ignorée, mais si vous suspectez la présence de contaminants dans de nombreux puits, il convient de recommencer le test.

c. Saut de puits

De temps en temps, vous pouvez observer un « saut de puits » : un puits sans croissance entouré de puits présentant une croissance. Plusieurs raisons peuvent l'expliquer : contamination, mutation, film adhésif plié ou mauvais alignement lors de l'ensemencement. Vous pouvez ignorer un saut de puits unique. Cependant, afin d'assurer une thérapie antimicrobienne efficace, ne lisez JAMAIS le puits sauté comme la CMI ; retenez toujours la concentration d'agent antimicrobien la plus basse au-dessus de laquelle il n'y a invariablement pas de croissance.

d. Cultures mixtes

Sauf dans le cas (a) ci-dessus, si vous observez deux concentrations d'inhibition différentes sous l'aspect d'un « bouton » net de cellules suivi par plusieurs puits de croissance diffuse dans lesquels le « bouton » n'est plus visible (ou plus petit), il peut s'agir d'une population mixte de différentes bactéries. Vous pouvez vérifier la pureté de l'inoculum en étalant les différents composants du mélange sur des plaques de gélose appropriées. Les résultats de test sont non valides en cas de détection d'une culture mixte.

Interprétation des résultats

Pour l'interprétation des résultats, reportez-vous aux directives CLSI, EUCAST et directives locales actuels

Résultats CMI

La CMI est la plus faible concentration d'antimicrobiens qui inhibe la croissance visible ou présente une réduction significative de la croissance. Si aucune croissance ne se produit dans un puits contenant les dilutions d'antimicrobien, à l'exception du puits de contrôle positif, la CMI doit être enregistrée comme étant inférieure à ou égale à la plus faible concentration d'antimicrobien sur la plaque.

Contrôle qualité

La fréquence des analyses de contrôle qualité doit être définie selon les directives locales. L'inoculum doit être mis en culture sur un milieu adapté pour vérifier sa pureté. Les résultats de test sont non valides en cas de détection d'une culture mixte.

a. Plaque Sensititre

La suspension d'inoculum doit être cultivée sur un milieu approprié pour en vérifier la pureté et incubée à la fois en aérobiose et en anaérobiose. Les résultats des tests ne sont pas valables si une culture mélangée est détectée.

Toutes les plaques Sensititre comportent des puits de contrôle positif. Les tests ne sont valides que si une croissance est détectée dans tous les puits des contrôles positifs

Un certain nombre de facteurs peuvent influencer sur la CMI, notamment l'état de l'organisme, la densité de l'inoculum, la température et le bouillon. En pratique, les CMI de différents réplicats d'un même inoculum sont réparties selon une distribution normale avec la majorité des résultats situés à une dilution près de la valeur modale. La procédure de test est considérée satisfaisante si les CMI des organismes-témoins sont compris dans les plages établies. Ne communiquez **pas** les résultats si les résultats de contrôle qualité sont en dehors des plages définies.

b. Sélection du bouillon

Chaque lot de bouillon Brucella additionné de Sensititre a été testé pour son utilisation dans les produits de sensibilité aux anaérobies Sensititre.

Contactez l'assistance technique de Thermo Fisher Scientific Microbiology pour obtenir de l'aide si des anomalies de contrôle qualité ne peuvent pas être résolues.

Valeurs attendues

Voir le tableau 1 pour connaître les valeurs attendues des organismes de contrôle qualité. Pour les valeurs attendues des organismes présents sur le plan clinique, il est recommandé que chaque site de test génère un antibiogramme complet permettant de déterminer le pourcentage de sensibilité pour chaque agent antimicrobien testé. Des antibiogrammes nationaux sont disponibles pour fournir des directives générales sur les valeurs attendues (2).. La résistance

aux antibiotiques peut varier en raison d'infections nosocomiales et de l'emplacement géographique. Il a été rapporté que pour certains agents antimicrobiens, une résistance accrue pourrait se produire tout au long de la vie du produit antimicrobien.

Tableau 1: Plages de contrôle de qualité acceptables * pour les organismes de contrôle qualité

Organism ATCC Number	<i>B. fragilis</i> ATCC® 25285™	<i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC® 29741™
ANTIMICROBIC		
AMPICILLIN	<u>8->16</u>	<u>8-32</u>
AMOXICILLIN / CLAVULANIC ACID	0.25/0.12-1/0.5	0.25/0.12-1/0.5
AMPICILLIN/SULBACTAM	0.5/0.25-2/1	0.5/0.25-2/1
CEFOTETAN	1-8	16-128
CEFOXITIN	2-8	8-64
CEFTIZOXIME	-	-
CHLORAMPHENICOL	4-16	<u>4-16</u>
CLINDAMYCIN	0.5-2	2-8
DOXYCYCLINE	-	2-8
ERTAPENEM	0.06-0.5	0.5-2
GARENOXACIN	0.06-0.25	0.25-2
IMIPENEM	0.03-0.25	<u>0.12-0.5</u>
LINEZOLID	2-8	2-8
MEROPENEM	0.03-0.25	0.06-0.5
METRONIDAZOLE	0.25-2	0.5-4
MEZLOCILLIN	<u>8-32</u>	<u>8-32</u>
MOXIFLOXACIN	0.12-.5	1-8
PENICILLIN G	8-32	8-32
PIPERACILLIN	4-16	8-64
PIPERACILLIN/TAZOBACTAM	0.03/4-0.25/4	2/4-16/4
TETRACYCLINE	<u><0.25-1</u>	<u>8-32</u>
TICARCILLIAN/CLAVULANIC ACID	0.06/2-0.5/2	0.5/2-2/2

Remarque: * plages différentes ou complémentaires du tableau 2J-1 du CLSI M100 S26E sont soulignées.

Contactez le support technique Sensititre de Thermo Scientific si des anomalies de contrôle qualité ne peuvent pas être résolues.

Limites

1. Ce produit est conçu pour être conforme aux recommandations de la procédure de référence anaérobie du CLSI (2).
2. Comme pour toutes les autres méthodes de test de sensibilité aux agents antimicrobiens, les résultats générés par les plaques de sensibilité Sensititre sont des résultats in vitro.
3. Un personnel qualifié est nécessaire pour configurer et interpréter les résultats.

Performance

Les plaques sont conçues pour offrir des performances comparables à celles de la procédure de référence par microbouillon du CLSI et EUCAST. Une performance est dite comparable lorsque les résultats d'une double dilution sont concordants à ≥ 90 % avec ceux de la CMI de référence sur un mélange typique d'organismes.

Pour plus d'informations, contactez le support technique Sensititre de Thermo Scientific.

ANNEXE 1 : Procédure de dénombrement des colonies

Effectuez cette action immédiatement après l'inoculation d'une plaque.

1. Transférez 10 μ L du bouillon inoculé dans 10 mL de solution saline réduite à 0,85 % ou de bouillon réduit.
2. Mélangez et transférez 100 μ L de cette dilution sur une plaque de gélose appropriée.
3. Étalez l'inoculum sur toute la surface de la plaque à l'aide d'une tige en verre courbée ou d'une anse stérile.
4. Incubez à 34 – 36°C pendant 48 heures dans une atmosphère anaérobie.
5. Comptez les colonies : 100 colonies indiquent un inoculum de 1×10^6 cfu/mL.

BIBLIOGRAPHIE

1. Ericsson, H.M., Sherris, J. (1971) *Antibiotic susceptibility testing. Report of an international collaborative study*. Acta Pathol. Microbiol. Scand. **Suppl. 217**
2. Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria, Approved Standard - Sixth Edition (2004) M11-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova.
3. I. Phillips, A. King, C.E. Nord and B. Hoffstedt. (1992) Antibiotic Sensitivity of the *Bacteroides fragilis* Group in Europe. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. **11**: 292-304.
4. M. Teresa Durán y Francisca Molina (1996). Susceptibilidad antimicrobiana de bacterias anaerobias aisladas en un año. *Enferm. Infect. Microbiol. Clin.* **14**: 370-376
5. A. Guerra, F. Mesa and A. Garcia Perea. (1996) Susceptibilidad in vitro de los Microorganismos Anaerobios en el Hospital La Paz. Congreso S.E.I.M.C.
6. C. Betriu, M. Gomez, M.L.Palau, A. Sanchez and J.J.Picazo. (1996) Situación Actual de la Resistancia Antibiótica de *Clostridium difficile*. Congreso S.E.I.M.C.

7. E. T. Huang and S. Tabaqchali. (1978) Evaluation of Sensititre® for the Susceptibility testing of Anaerobic Bacteria. Inter. Soc. Of Chemotherapy.475-477

8. K. Dornbusch, A. Lindmark and C.E. Nord (1978) Evaluation of Microdilution Trays (Sensititre®) for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Bacteroides fragilis*. *Medical Microbiology and Immunology* **165**: 147-151.

9. M.T. Pelaéz *etal.* (1992) Sensibilidad de microorganismos anaerobios: evaluación de un Nuevo método por Microdilución en placa (Sensititre®). *Enf. Infec. Y Microbiol. Clin.* **10**: Suppl.2. p119.

AVIS DE NON-RESPONSABILITÉ

Les informations fournies dans cette notice technique sont à jour au moment de son impression et peuvent changer sans préavis.

Les toutes dernières informations peuvent être téléchargées à partir du site www.trekds.com\techinfo ou en contactant les services techniques de microbiologie de Thermo Fisher Scientific. .



Fabriqué par TREK Diagnostic Systems
Units 17-19 Birches Industrial Estate, East Grinstead,
West Sussex, RH19 1XZ, Royaume-Uni
Tél. : +44 1342 318777



L'emblème dérivé sous licence ATCC, la marque verbale sous licence sous licence ATCC et les marques du catalogue ATCC sont des marques commerciales de ATCC, qui sont utilisées sous licence par Thermo Fisher Scientific Inc. Marques de commerce et de vente des produits dérivés des cultures ATCC.

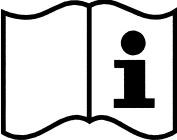
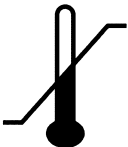
© 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. Tous droits réservés. Toutes les autres marques sont la propriété de Thermo Fisher Scientific Inc. et de ses filiales.

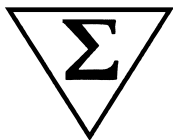


Adresses e-mail de l'assistance technique

Autriche	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgique	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
République Tchèque	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Danemark	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
France	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finlande	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Allemagne	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Italie	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Pays-Bas	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norvège	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Espagne	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Suède	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Assistance technique au Royaume-Uni	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com

Symbols/Símbolos/Simboli/Symbol/Symboles/σύμβολο/Simbolis/Symbole

	GB DE ES IT FR GR LI CZ PL RO PT	Batch code Chargenbezeichnung Código de lote Codice del lotto Code du lot Κωδικός παρτίδας serijos numerį. šarže kadex Kod Partii lot număr Código do grupo
	GB DE ES IT FR GR LI CZ PL RO PT	Catalogue number Bestellnummer Número de catálogo Numero di catalogo Référence du catalogue Αριθμός καταλόγου Reikia žinoti plokštelės kodą Katalogovho čislovka Numer Katalogu Catalog număr Número de catálogo
	GB DE ES IT FR GR LI CZ PL RO PT	Manufacturer Hersteller Fabricante Fabbricante Fabricant Κατασκευαστής Dirbti Výrobce Producent Manufacturer Fabricante
	GB DE ES IT FR GR LI CZ PL RO PT	Consult Instructions for Use- Gebrauchsanweisung beachten Consulte las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Ieškant instrukcija Projednat Instrukce Zauziti Przed użyciem zapoznaj się z instrukcją Consulate instrucțiuni pentru folos Consulte instrucções para o uso
	GB DE ES IT FR GR LI CZ PL RO PT	Temperature limitation Zulässiger Temperaturbereich Límite de temperatura Limiti di temperatura Limites de température Όριο θερμοκρασίας Temperatura reba Templota Limit Ograniczenie Temperatur Temperatură limitation Limitação de temperatura
	GB DE ES IT FR GR LI CZ PL RO PT	Use By Verwendbar bis Fecha de caducidad Utilizzare entro Date de péremption Ημερομηνία λήξης Baigtis Data Užitių Za Użyć Do Folos By Uso perto YYYYMMDD/YYYYMM (MM=end of month) JJJJMMTT/JJJJmm (MM=Monatsende) aaaammdd/aaaamm (mm=fin del mes) AAAAMMGG/AAAAMM (MM=fine mese) AAAAMMJJ/AAAAMM (MM=fin de mois) EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) KKKKMMDD RRRRMMDD RRRR/MM/DD AAAA/LL/ZZ YYYYMMDD/YYYYMM (MM= fim do mês)
	GB DE ES IT FR GR LI CZ PL RO PT	In Vitro Diagnostic Medical Device In Vitro Diagnostikum Producto sanitario para diagnóstico in vitro Dispositivo medico-diagnostico in vitro Dispositif médical de diagnostic in vitro In vitro διαγνωστικό ιατρικό βοήθημα In vitro diagnostikai In vitro diagnostic Urządzenie Diagnostyczne in vitro Pentru diagnosticare in vitro In Vitro Dispositivo Médico Diagnóstico



GB	Contains sufficient for <n> tests
DE	Ausreichend für <n> Ansätze
ES	Contenido suficiente para <n> ensayos
IT	Contenuto sufficiente per <n> saggi
FR	Contenu suffisant pour <n> tests
GR	Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις
LI	Skaičius bandymas <n>
CZ	Obsahuje vhodný <n> testy
PL	Wystarczający dla <n> próbek
RO	contact sufficient pentru <n> tests
PT	Contem suficiente para <n> testes

SYMBOLS_V2.1