

MASTDISCS® *Combi* AmpC and ESβL-Detection Set

D68C

Utilisation

Détection de la production d'enzymes AmpC et / ou β-lactamases à spectre élargi. (βLSE) chez les Entérobactéries.

USAGE IN VITRO UNIQUEMENT

Composition et Formule*

4 cartouches, chaque cartouche contient 50 disques.

Cartouche A	Cefpodoxime 10μg
Cartouche B	Cefpodoxime 10μg + inhibiteur βLSE
Cartouche C	Cefpodoxime 10μg + inhibiteur AmpC
Cartouche D	Cefpodoxime 10μg + inhibiteurs βLSE et inhibiteur AmpC

Conservation

Conservé entre 2°C et 8°C dans la boîte d'origine jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Porter la boîte à température ambiante avant ouverture.

Précautions

Pour usage *in vitro* uniquement. Observer les techniques d'asepsie et les précautions d'usage pour les produits biologiques dangereux. A n'utiliser que par du personnel de laboratoire formé et qualifié. Stériliser tous les déchets dangereux avant de les jeter. Se référer à la fiche de sécurité.

Matériels nécessaires non fournis

Fournitures et équipements standard de microbiologie : anses, milieu de culture MAST®, écouvillons, applicateurs, incubateurs, etc., réactifs sérologiques, biochimiques et additifs tels que du sang.

Procédure

1. Préparer une suspension de densité 0,5 McFarland à partir d'une culture pure et fraîche du germe à tester.
2. dans une solution saline physiologique.
3. À l'aide d'un écouvillon stérile, étaler la suspension à la surface d'une gélose Mueller Hinton conformément à la procédure du Comité européen sur les tests de sensibilité aux antimicrobiens (EUCAST).
4. À l'aide du distributeur MAST® DISCMaster, ou d'une aiguille ou d'une pince stérile, placer chaque type de disques sur un milieu ensemencé en s'assurant qu'ils sont bien espacés pour permettre la formation de zones d'inhibition clairement définies.
5. Incuber à 35°C ± 1°C pendant 18 heures ± 2 heures.
6. Mesurer et noter le diamètre de toutes les zones d'inhibition, au millimètre près. Les disques ne montrant aucune zone d'inhibition doivent être enregistrés à 6 mm.

Interprétation des résultats

Pour interpréter les résultats en fonction des zones d'inhibition observées, utiliser le calculateur D68C. Le calculateur est disponible en téléchargement et peut être consulté via www.mast-group.com. Les résultats peuvent être interprétés manuellement en comparant les diamètres des zones d'inhibition dans la séquence décrite ci-dessous :

Etape 1 Comparer le diamètre d'inhibition du disque Céfopodoxime (**A**) par rapport aux diamètres d'inhibition des disques Céfopodoxime + inhibiteur (**B, C et D**). Si les zones d'inhibition sont toutes identiques à 2 mm près, la souche n'a ni activité βLSE ni activité AmpC.

Etape 2 Calculer les différences de diamètres **B-A, D-C, D-B et C-A**. Si les différences **B-A** et **D-C** sont supérieures ou égales à 5 mm et les différences de diamètres entre **B** et **D** et entre **A** et **C** sont inférieures ou égales à 4 mm alors la souche possède uniquement une activité βLSE.

Etape 3 Calculer les différences de diamètres **D-B** et **C-A**. Si chacune des différences **D-B** et **C-A** sont supérieures à 5 mm et les différences de diamètres entre les disques **A** et **B** et entre les disques **C** et **D** sont inférieures ou égales à 4 mm alors la souche possède uniquement une activité AmpC.

Etape 4 Calculer la différence de diamètre **D-C**. Si la différence **D-C** est supérieure ou égale à 5 mm et la différence de diamètres entre les disques **A** et **B** est inférieure ou égale à 4 mm la souche a une activité combinée βLSE et AmpC.

Contrôle de qualité

Vérifier les signes de détérioration. Le contrôle de qualité doit être effectué avec au moins une souche de contrôle positive et une souche de contrôle négative. Les zones d'inhibition obtenues par rapport à la souche de contrôle *E. coli* (e.g. ATCC® 25922) doivent être égales ou ne pas présenter une différence de diamètre supérieure à ± 2 mm. Toute différence supérieure implique un mauvais fonctionnement ou une détérioration. Ne pas utiliser le produit si les réactions avec les souches de contrôle sont incorrectes. La liste ci-dessous donne les résultats de souches de contrôle courantes.

Souche de contrôle	Résultat
<i>Escherichia coli</i> NCTC 13351	βLSE Positive
<i>Escherichia coli</i> NCTC 13352	βLSE Positive
<i>Escherichia coli</i> NCTC 13353	βLSE Positive
<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 13406	AmpC Positive
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Négative

Limites

Le 68C ne convient pas pour tester *Pseudomonas* spp. ou *Acinetobacter* spp. Pour éviter un résultat erroné, ne pas mélanger les cartouches de lots D68C différents et s'assurer que les deux disques sont testés sur la même gélose. Les organismes présentant un profil de résistance totale, c'est-à-dire aucune zone d'inhibition sur tous les disques, pourraient indiquer la démonstration d'une production de carbapénémase MβL ou KPC, qui pourrait également masquer une expression simultanée d'βLSE ou d'AmpC. Les utilisateurs sont tenus de toujours utiliser la dernière version du calculateur D68C.

Bibliographie

Bibliographie disponible sur demande.