

GÉLOSE MUELLER HINTON + CLOXACILLINE

NOTICE D'UTILISATION POUR LES MILIEUX PRECOULES PRÊT À L'EMPLOI

1. Utilisation

La gélose Mueller Hinton avec cloxacilline est utilisée pour augmenter la sensibilité lors de la confirmation de la présence d'*Entérobactéries* productrices de BLSE dans des isolats présentant des niveaux élevés d'expression de la β -lactamase AmpC. La fonction du substrat est d'aider le processus de diagnostic en déterminant le profil de sensibilité aux médicaments antimicrobiens des micro-organismes isolés à partir d'échantillons cliniques humains ou d'autres matériaux. Les informations relatives au profil de sensibilité aux médicaments et aux mécanismes de résistance de l'agent pathogène détecté dans les échantillons cliniques permettent au médecin de prendre la bonne décision quant au choix de l'antibiothérapie appropriée.

Les BLSE sont des enzymes qui hydrolysent la plupart des pénicillines et des céphalosporines et sont inhibées par les inhibiteurs de la β -lactamase tels que l'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam. Les enzymes de type AmpC hydrolysent les pénicillines, les céphalosporines et le monobactam et sont faiblement inhibées par les inhibiteurs classiques de BLSE, en particulier l'acide clavulanique. Les méthodes phénotypiques de confirmation des BLSE, telles que le Combined Disc Test (CDT), le Dual Disc Synergy Test (DDST) et le Gradient Test, reposent sur l'inhibition de l'activité des BLSE par l'acide clavulanique. Toutefois, la présence d'une BLSE peut être masquée par une surproduction de l'enzyme AmpC.

Référence :	Type de milieu :	Emballage :
1216PD90	Boîte de gélose précoulée	2x10 pièces (90 mm)

2 Principe de fonctionnement

L'extrait de bœuf et l'hydrolysate de caséine acide sont des sources d'azote, de vitamines, de carbone et d'acides aminés. L'amidon de maïs absorbe les produits métaboliques toxiques. L'agar est un agent de solidification. La cloxacilline est un bon inhibiteur de l'enzyme AmpC.

2 Composition du milieu :

En g/l d'eau distillée :		Suppléments/litre :	
Hydrolysate de caséine acide	17,5 g	Cloxacilline	0,25 g
Fécule de maïs	1,5 g		
Extrait de bœuf	2,0 g		
Agar	17,0 g		

pH : 7,3 \pm 0,2 à 25°C.

Aspect du milieu : Clair, de couleur paille claire

4. préparation du milieu

Le milieu est prêt à l'emploi. Laisser le milieu revenir à température ambiante immédiatement avant de l'utiliser.

5. Matériel nécessaire, non fourni

Matériel et réactifs nécessaires au test (par exemple, sérum physiologique, écouvillons, disques imbibés d'antibiotiques) et matériel microbiologique général de laboratoire, y compris un densitomètre bactériologique ou un étalon de densité et un thermomètre de laboratoire.

6. Précautions

- Le produit est destiné à un usage professionnel uniquement.
- Produit non automatisé
- Le milieu contient des composants d'origine animale, qui peuvent être associés à la présence d'agents biologiques pathogènes. Le milieu doit donc être manipulé conformément aux règles relatives au travail avec du matériel biologique potentiellement infectieux.

- Ne pas utiliser le milieu si celui-ci présente des signes de contamination microbienne, de décoloration, de séchage, de fissuration ou d'autres signes de détérioration.
- Ne pas utiliser de boîtes endommagées
- Ne pas utiliser de boîtes après la date de péremption
- La réincubation de boîtes déjà ensemencées n'est pas autorisée.
- Si la manipulation du milieu diffère de celle décrite dans ce manuel, le laboratoire est tenu de valider la procédure adoptée.

7. Stockage

Conserver les boîtes entre 2 et 12 °C jusqu'à la date de péremption. Conserver les boîtes dans leur emballage d'origine, en position inversée (côté gélose vers le haut), à l'abri des sources de lumière directe. Pour éviter la congélation de la gélose, ne pas conserver les boîtes près des parois du réfrigérateur. Pour éviter l'apparition de condensation d'eau sur le couvercle de la boîte, ne pas ouvrir le réfrigérateur plus souvent que nécessaire et ne pas stocker les boîtes dans un réfrigérateur trop rempli.

8. Péremption

Le milieu stocké à 2-12°C conserve ses propriétés jusqu'à 3 mois à partir de la date de production.

9. Type d'échantillon

L'échantillon de test est constitué de cultures pures et fraîches (âgées d'environ 16 à 24 heures) de souches isolées à partir d'échantillons cliniques humains, inoculées sur des milieux solides. La suspension préparée de la souche à tester doit être utilisée dans les 15 minutes, mais pas plus tard que 60 minutes après la préparation.

10. Procédure du test

10.1 Amener le milieu à température ambiante avant de l'utiliser.

10.2 Préparer une suspension de la souche de test à une densité de 0,5 sur l'échelle de McFarland en suspendant des colonies de la souche dans une solution saline. Prélever les colonies à l'aide d'un écouvillon stérile sur un milieu non sélectif, après une culture de 18 à 24 heures. Sélectionner quelques colonies morphologiquement similaires. Déterminer la densité de l'inoculum à l'aide d'un densitomètre bactériologique. La densité de la suspension peut également être déterminée en comparant macroscopiquement la densité de la suspension de la souche testée à un étalon de densité McFarland de 0,5. Dans ce cas, la turbidité de la suspension de la souche testée par rapport à l'étalon de densité doit être comparée sur un fond blanc avec des bandes noires.

La suspension préparée de la souche de test doit être utilisée dans les 15 minutes, mais pas plus tard que 60 minutes après la préparation.

10.3 Tremper un écouvillon stérile dans la suspension préparée de la souche à tester. Répartir uniformément la suspension sur toute la surface de la gélose, en veillant à ce qu'il y ait une répartition égale entre chaque.

10.4 Déposer les disques d'antibiotiques sur la surface de la gélose. Les disques doivent être appliqués sur le milieu dans les 15 minutes suivant l'inoculation. Appuyer légèrement sur les disques, qui doivent adhérer complètement à la surface de la gélose. Une fois appliqués, les disques ne doivent pas être déplacés, en raison de la diffusion rapide de l'antibiotique du disque dans le milieu. Le nombre de disques sur la boîte doit être limité afin que les zones d'inhibition obtenues ne se chevauchent pas et que les antibiotiques individuels n'interagissent pas entre eux.

10.5 Incuber les boîtes striées en conditions aérobies à $35 \pm 2^\circ\text{C}$, lire le résultat après 18-24 heures. Les boîtes doivent être inversées avec le milieu vers le haut, tout en s'assurant que les disques ne sont pas tombés de la surface de la gélose. L'incubation des boîtes doit commencer dans les 15 minutes suivant l'application des disques. Les boîtes ne doivent pas être incubées plus longtemps que ce qui est recommandé.

11. Lecture et interprétation des résultats des tests de sensibilité aux médicaments

Test du disque combiné : le résultat est positif si la zone d'inhibition autour du disque contenant de l'acide clavulanique est ≥ 5 mm par rapport au disque sans acide clavulanique. Méthode des disques combinés : un résultat positif est obtenu lorsque la zone d'inhibition augmente en direction du disque contenant de l'acide clavulanique.

12. Contrôle qualité :

Les propriétés nutritionnelles du milieu doivent être vérifiées à l'aide de souches de référence donnant les réactions positives

attendues. Le test doit être effectué en utilisant des cultures propres et fraîches de souches de référence donnant les réactions souhaitées. Utiliser les souches de référence suivantes pour effectuer le contrôle qualité du milieu :

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	BLSE	AmpC
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	bonne croissance	non	non
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	bonne croissance	oui	non

Effectuer le contrôle qualité du milieu par l'utilisateur final à une fréquence et d'une manière compatibles avec les lignes directrices en vigueur pour le contrôle qualité de la méthode de diffusion sur disque et avec les procédures du laboratoire. Utiliser des souches de référence qui garantissent la cohérence des mesures conformément aux lignes directrices pour effectuer des tests de contrôle qualité.

13. Limites de la méthode

- Les tests de sensibilité aux antibiotiques par la méthode de diffusion des disques ne doivent être effectués qu'avec des cultures bactériennes fraîches et pures.
- Une densité d'inoculum trop élevée peut entraîner une diminution de la zone d'inhibition, et une densité trop faible peut entraîner une augmentation des zones d'inhibitions et des difficultés à les mesurer.
- Une mauvaise conservation des disques antibiotiques peut affecter la stabilité des antibiotiques qu'ils contiennent, ce qui peut réduire le diamètre des zones d'inhibition et être une source d'erreurs d'interprétation de la sensibilité aux médicaments de l'agent pathogène étudié.
- Un rétrécissement excessif du milieu dû à un stockage inadéquat peut entraîner des résultats erronés indiquant la présence de sensibilité.

14. Caractéristiques de la méthode

Disponible sur demande.

15. Elimination du matériel usagé

Les supports de test et les milieux non utilisés doivent être éliminés conformément aux réglementations en vigueur en matière de traitement des déchets médicaux et aux procédures de laboratoire relatives à l'élimination des matières infectieuses et potentiellement infectieuses.

16. Déclaration des événements indésirables

Selon la réglementation en vigueur, les événements indésirables et les incidents qui peuvent être directement liés au milieu décrit doivent être signalés au fabricant et aux autorités compétentes,

17 Références

1. Bauer et al. (1966) J. Clin. Pathol. 45:493-496.
2. Mueller J.H. et Hinton. (1941) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48:330-333.
3. Poirel L et al. (2003) J. Clin. Microbiol. 41:3542-3547.
4. Jacoby G.A. (2009) AmpC β -Lactamases. Clin. Microbiol. Rev. 22(1):161-182.
5. Thomson K.S. (2010) J. Clin. Microbiol. 48:1019-1025.
6. Garrec H. et al (2011) J. Clin. Microbiol. 49(3):1048-57.
7. Lignes directrices EUCAST pour la détection des mécanismes de résistance et des résistances spécifiques d'importance clinique et/ou épidémiologique, version 1.0, 2013.

Historique des modifications apportées au document

Date du changement	Section	Description du changement
02/03/2022	Document complet	Adaptation aux exigences du règlement (UE) 2017/746

NOTE

L'historique des révisions du document n'inclut pas les changements éditoriaux.

SYMBOLE	NOM DU SYMBOLE	DESCRIPTION	REF.
	Fabricant	Indique le fabricant du dispositif médical.	5.1.1
	Date de fabrication	Indique la date à laquelle le dispositif médical a été fabriqué.	5.1.3
	Numéro de catalogue	Indique le numéro de catalogue du fabricant afin que le dispositif médical puisse être utilisé.	5.1.6
	Lot	Indique le code de lot du fabricant afin de permettre l'identification du lot.	5.1.5
	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Indique un dispositif médical destiné à être utilisé comme dispositif médical de diagnostic in vitro.	5.5.1
	Ne pas réutiliser	Indique un dispositif médical destiné à un usage unique.	5.4.2
	Suffisantes pour <n> tests	Indique le nombre total de tests qui peuvent être effectués avec le dispositif médical.	5.5.5
	Date limite d'utilisation	Indique la date après laquelle le dispositif médical ne doit pas être utilisé	5.1.4
	Limite de température	Les limites de température doivent être indiquées à côté des lignes horizontales supérieure et inférieure.	5.3.7
	Symbole de sécurité (Conformité avec les exigences de l'UE)	Le marquage CE apposé sur un produit est une déclaration du fabricant selon laquelle le produit est conforme aux exigences essentielles de la réglementation de l'Union européenne en matière de santé, de sécurité et d'environnement.	nd.
	Consultez la notice d'utilisation	Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter la notice d'utilisation	5.4.3
	Stérilisé à l'aide de techniques de traitement aseptiques	Indique un dispositif médical qui a été fabriqué en utilisant des techniques aseptiques reconnues.	5.2.2
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter la notice d'utilisation	Indique qu'un dispositif médical ne doit pas être utilisé si l'emballage a été endommagé ou ouvert et que l'utilisateur doit consulter la notice d'utilisation pour obtenir des informations sur la dépendance.	5.2.8
	Contient du matériel biologique d'origine animale	Indique un dispositif médical contenant des tissus biologiques, des cellules ou leurs dérivés d'origine animale.	5.4.8




Graso Zenon Sobiecki
Krağ 4A; 83-200 Starogard Gdański
www.grasobiotech.pl

Oddział produkcyjny
Leśna 1, Owidz
83-211 Jabłowo

