ELI ATB BOVINE
ELI ATB PETS

Antibiogramme rapide vétérinaire

2 tests
REF : 22804 ELI ATB BOVINE
REF : 22805 ELI ATB PETS

CPB 0415_FR-2022-10
Pour diagnostic *in vitro* vétérinaire uniquement, pour usage professionnel seulement

I. BUT

Les tests ELI ATB PETS et ELI ATB BOVINE permettent de réaliser l'antibiogramme rapide en 6 heures de nombreux germes fréquemment isolés dans les infections des canins et bovins en testant les principaux antibiotiques utilisés dans le traitement des infections d'origine bactérienne.

II. INTRODUCTION

L'analyse bactériologique en clinique vétérinaire est très limitée car elle nécessite des moyens matériels importants et couteux.
La solution adoptée est généralement d'envoyer le prélèvement dans un laboratoire spécialisé, ce qui entraine un coût et ne permet d'obtenir les résultats que plusieurs jours après.
La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) en milieu gélosé reste la méthode de référence pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.
Néanmoins cette méthode est longue et s'avère inadaptée à un diagnostic de routine ou à des situations d'urgence.
L'utilisation des gammes ELI ATB permet de réaliser un diagnostic rapide (en 6 heures d'incubation pour la majorité des germes rencontrés) et de donner une réponse de traitement adapté dans la journée et réalisable par tous grâce à une manipulation simplifiée pour l'utilisateur.

III. PRINCIPE

La méthode ELI ATB consiste à étudier en milieu liquide la sensibilité des germes à 12 antibiotiques pour la galerie ELI ATB BOVINE et 11 antibiotiques pour la galerie ELI ATB PETS.
Le test est réalisé à partir d'une colonie bactérienne isolée sur gélose (ELI COLOREX VET ID ou autres), et mise en suspension de façon standardisée dans le milieu ELI ES contenant un indicateur coloré, le rouge de phénol. La suspension bactérienne obtenue est ensuite uniformément répartie dans les puits d'une galerie ELI ATB contenant les antibiotiques à tester.
Après 6h d'incubation à 37°C ± 1°C, l'absence de virage coloré dans les puits indique une inhibition de la croissance, et donc la sensibilité du germe vis-à-vis de la concentration de l'antibiotique testé.
Les molécules incluses dans la galerie ELI ATB PETS sont adaptées plus particulièrement au traitement des bactéries pathogènes responsables des infections bactériennes chez le chat et chien.
Les molécules incluses dans la galerie ELI ATB BOVINE sont adaptées plus particulièrement au traitement des bactéries pathogènes responsables des infections bactériennes chez le bovin. En fonction du profil de sensibilité/résistance obtenu pour chaque antibiotique, une orientation de traitement est proposée selon le référentiel analysé CLSI ou CA-SFM EUCAST.
Les tableaux d'interprétation fournis permettent, selon certains antibiotiques et certaines bactéries d'orienter sur le traitement d'autres animaux.

IV. REACTIFS NECESSAIRES POUR LA REALISATION DE DEUX TESTS

Réactifs	ELI ATB PETS	KITVIATB Bovin
Galerie ELI ATB PETS	2	-
Galerie ELI ATB BOVINE	-	2
Milieu ELI ES	2	2
PRESTO ABG®	2	2
CLOSING SYSTEM	2	2
Pipette de transfert	2	2

Description :

ELI ATB PETS : Galerie de 20 puits contenant 11 antibiotiques à une, deux ou trois concentrations destinés à la sphère canine et emballée individuellement en sachet aluminium avec un déshydratant intégré.
Chaque galerie permet de réaliser 1 test.

ELI ATB BOVINE : Galerie de 20 puits contenant 12 antibiotiques à une, deux ou trois concentrations destiné à la sphère bovine et emballée individuellement en sachet aluminium avec un déshydratant intégré.
Chaque galerie permet de réaliser 1 test.

ELI ES : Flacon de 5mL de milieu de culture contenant du rouge de phénol.

PRESTO ABG® : Inoculateur avec une tige en acier inoxydable.

Les galeries sont fournies avec un CLOSING SYSTEM permettant de recouvrir la galerie lors de son incubation, permettant ainsi de protéger de toute contamination le manipulateur et le produit.

La pipette de transfert fournie permet de remplir la galerie simplement à partir du milieu ELI ES ensemencé.

Composition de la galerie ELI ATB PETS :

Puit 1 (C+) : Contrôle de croissance
Puit 2 (PEN 0.06) : Pénicilline 0.06µg/mL
Puit 3 (PEN 0.12) : Pénicilline 0.12µg/mL
Puit 4 (PEN 0.25) : Pénicilline 0.25µg/mL
Puit 5 (AMC 4/2) : Amoxicilline/Acide clavulanique 4/2µg/mL
Puit 6 (AMP 0.25) : Ampicilline 0.25µg/mL
Puit 7 (OXA 2) : Oxacilline 2µg/mL
Puit 8 (OXA 4) : Oxacilline 4µg/mL
Puit 9 (ERY 0.5) : Erythromycine 0.5µg/mL
Puit 10 (ERY 4) : Erythromycine 4µg/mL
Puit 11 (CLI 0.5) : Clindamycine 0.5µg/mL
Puit 12 (TET 2) : Tétracycline 2µg/mL
Puit 13 (TET 4) : Tétracycline 4µg/mL
Puit 14 (GEN 2) : Gentamycine 2µg/mL
Puit 15 (MAR 1) : Marbofloxacine 1µg/mL
Puit 16 (MAR 2) : Marbofloxacine 2µg/mL
Puit 17 (ENO 0.5) : Enrofloxacine 0.5µg/mL
Puit 18 (ENO 1) : Enrofloxacine 1µg/mL
Puit 19 (ENO 2) : Enrofloxacine 2µg/mL
Puit 20 (SXT 2/38) : Triméthoprime/Sulfaméthoxazole 2/38µg/mL

Composition de la galerie ELI ATB BOVINE :

Puit 1 (C+) : Contrôle de croissance
Puit 2 (P/N 1/2) : Pénicilline/Novobiocin 1/2µg/mL
Puit 3 (P/N 2/4) : Pénicilline/Novobiocin 2/4µg/mL
Puit 4 (PEN 0.25) : Pénicilline 0.25µg/mL
Puit 5 (PEN 0.5) : Pénicilline 0.5µg/mL
Puit 6 (PEN 1) : Pénicilline 1µg/mL
Puit 7 (OXA 2) : Oxacilline 2µg/mL
Puit 8 (AMP 0.25) : Ampicilline 0.25µg/mL
Puit 9 (AMC 4/2) : Amoxicilline/Acide clavulanique 4/2µg/mL
Puit 10 (ERY 1) : Erythromycine 1µg/mL
Puit 11 (CEF 2) : Ceftiofur 2µg/mL
Puit 12 (CEF 4) : Ceftiofur 4µg/mL
Puit 13 (CEF 4) : Ceftiofur 8µg/mL
Puit 14 (TET 2) : Tétracycline 2µg/mL
Puit 15 (TET 4) : Tétracycline 4µg/mL
Puit 16 (ENR 0.25) : Enrofloxacine 0.25µg/mL
Puit 17 (ENR 0.5) : Enrofloxacine 0.5µg/mL
Puit 18 (GEN 4) : Gentamycine 4µg/mL
Puit 19 (FFC 2) : Florfenicol 2µg/mL
Puit 20 (SXT 2/38) : Triméthoprime/Sulfaméthoxazole 2/38µg/mL

Composition du milieu ELI ES :

- Bouillon Mueller Hinton
- Extraits de levures
- Sels minéraux
- Vitamines
- Acides aminées
- Facteurs de croissances
- Indicateur coloré : rouge de phénol

pH : 7.3 +/-0.1

V. PRECAUTIONS D'EMPLOI

Les réactifs de ce coffret sont à usage *in vitro* uniquement et doivent être manipulés par des personnes habilitées.
Les prélèvements et les réactifs ensemencés sont potentiellement infectieux. Ils doivent être manipulés avec les précautions d'usage.
Les réactifs contenant des matières premières d'origine animale doivent être manipulés avec les précautions d'usage.
Ne pas utiliser les réactifs endommagés ou mal conservés.
Ne pas utiliser les réactifs de ce coffret au-delà de la date de péremption.
Ne pas utiliser le milieu s'il montre un signe évident de contamination (coloration autre que rouge).
Changer de pipette de transfert pour chaque échantillon.

VI. RECUEIL ET TRAITEMENT DES PRELEVEMENTS

L'étude de la sensibilité doit être réalisée à partir d'une colonie isolée sur milieu gélosé (ELI COLOREX VET ID ou autres géloses classiques) après 18 à 24 heures d'incubation.

VII. CONSERVATION DES REACTIFS

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.
Le milieu ELI ES et les galeries, conservées à 2-8 °C dans leur conditionnement d'origine, sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage.
Ne pas congeler les réactifs du coffret.

VIII. MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Etuve à 37 °C ± 1°C
- Récipient pour déchets contaminés
- Optionnelle : pipette calibrée et cônes de 100µL

IX. MODE OPERATOIRE

Amener les réactifs à température ambiante et les ensemencer **en atmosphère stérile.**

IX.1. Préparation de l'inoculum à partir de l'inoculateur PRESTO ABG

L'inoculateur PRESTO ABG® permet d'obtenir en une seule manipulation un inoculum standardisé et adapté à la réalisation du test.
Choisir une colonie bien identifiée et de taille moyenne (diamètre minimum 1 mm).
A l'aide de l'inoculateur PRESTO ABG®, piquer verticalement au centre de la colonie dans toute la profondeur de la gélose, jusqu'à toucher légèrement le fond de la boîte, et en veillant à toujours maintenir l'inoculateur perpendiculaire au plan de la gélose.
Retirer l'inoculateur en une fois et sans mouvement brusque.
Décharger immédiatement l'inoculum dans un flacon de milieu ELI ES en agitant énergiquement l'inoculateur PRESTO ABG® pendant 15 à 20 secondes jusqu'à obtenir une mise en suspension complète.
Boucher le flacon ELI ES et l'agiter vigoureusement pendant 3 à 5 secondes.
Jeter l'inoculateur PRESTO ABG® dans un récipient réservé aux déchets contaminés.

Remarque :
Les inoculateurs ne doivent pas être passés à la flamme avant utilisation. Ils ne doivent pas être mouillés. La partie de l'inoculateur PRESTO ABG® qui va être en contact avec la colonie ne doit en aucun cas être touché avec les doigts avant et après prélèvement (risque de contamination de l'inoculum et du manipulateur).
Les inoculateurs PRESTO ABG® sont à usage unique. En aucune façon, une deuxième prise d'inoculum ne doit être effectuée avec un inoculateur ayant déjà servi.

IX.2. Inoculation de la galerie

Chaque galerie est recouverte d'un feuillet adhésif devant être retiré avant inoculation.
Enlever complètement les bandes prédécoupées en tirant sur les languettes.
Faire attention par la suite de ne pas renverser le contenu des puits.

Procéder ensuite aux étapes suivantes suivant deux mode d'ensemencement, la pipette de transfert à usage unique ou la pipette calibrée :

- Identifier la galerie

Pour les pipettes de transfert à usage unique :

- Ensemencer chacun des 20 puits de la galerie avec 3 gouttes de milieu ELI ES. La pipette de transfert doit être tenue avec un angle d'environ 45°C lors du dépôt des gouttes pour chacun des puits.

Une pipette de transfert tenue à la verticale ou à l'horizontale risque de ne pas délivrer le bon volume et peut entrainer de faux résultats.

Pour les pipettes calibrées :

- Ensemencer chacun des 20 puits de la galerie avec 100µL de milieu ELI ES ensemencé.

- Recouvrir la galerie avec un CLOSING SYSTEM.

- Incuber à 37 °C ± 1°C pendant 6h (poursuivre à 18-24h si la pousse est insuffisante en 6h, ou pour certaines espèces, voir § X.1).

Dans le cas du test d'une souche du genre *Enterococcus spp*, ou *Pseudomonas spp*, la galerie doit être incubée 18-24 h.

X. LECTURE ET INTERPRETATION

Après incubation, 3 couleurs principales, ainsi que leurs intermédiaires, peuvent être obtenues dans les puits :
- le rouge : couleur d'origine du milieu ELI ES, indique une absence de croissance bactérienne
- l'orange/jaune et le jaune indiquent une croissance bactérienne.
- le fuchsia indique une croissance de pousse pour le genre *Pseudomonas spp* en 24heures

Puits rouge : négatif

Puits orange/jaune : Positif

Puits jaune : Positif

Puits fuschia : Positif

X.1. Validation (puit contrôle)

Vérifier que le milieu correspondant au contrôle de croissance a viré **au jaune ou à l'orange/jaune**. Ce virage coloré atteste du bon fonctionnement des réactifs utilisés ainsi que d'une exécution correcte et d'une croissance suffisante de la souche testée. Si le milieu est resté rouge ou légèrement orangé, poursuivre l'incubation à 18-24h.
Le test ne doit pas être lu si le puits C+ n'a pas viré même si d'autres puits présentent un changement de coloration.
De même, le test ne doit pas être interprété si des puits présentent un changement de coloration plus important que le puits contrôle.

Dans le cas du test d'une souche du genre *Enterococcus spp*, l'antibiogramme n'est interprétable qu'en 24h même si le contrôle positif a viré au jaune en 6h.
Dans le cas du test d'une souche de *Pseudomonas sp*, l'antibiogramme n'est interprétable qu'en 24h après virage franc du contrôle positif au fuschia en 24h.

X.2 Lecture et Interprétation (puits avec antibiotiques)

Toute croissance bactérienne se traduit par un virage coloré du milieu : le milieu a viré à l'orange/jaune, jaune ou fuchsia.
Le milieu reste rouge en cas d'inhibition de croissance.
Remplir la fiche de résultats avec «-» lorsque le puits n'a pas changé de couleur et avec «+» lorsqu'il y a eu un changement de coloration du puits au jaune ou orange/jaune ou fuschia.
Une fois la fiche de résultats complétée, se référer aux tableaux d'interprétation ELI ATB BOVINE et PETS selon le CLSI VET-S2 2013 et CASFM-EUCAST_2014 vétérinaire, pour classer le germe selon la possibilité de traitement par l'antibiotique.

Ces tableaux permettent d'établir une correspondance entre la catégorisation de la souche vis-à-vis de l'antibiotique et la possibilité de traitement.
La classification prend compte le genre ou l'espèce du germe rencontré, l'animal concerné par l'infection ainsi que le type de maladie pour certains cas.

Trois niveaux de traitement sont proposés :

Traitement de l'infection selon la posologie recommandée
Traitement de l'infection avec adaptation du dosage antibiotique
Forte probabilité d'échec thérapeutique quelque soit la dose d'antibiotique (ou analyse complémentaires nécessaires)

Le laboratoire doit consulter les agences de régulations dans le pays concerné pour évaluer la réglementation relative à l''administration légale de l'antibiotique aux espèces correspondantes.
Par exemple, l'emploi du Ceftiofur n'est pas approuvé aux USA et CANADA.

XI. CONTROLE QUALITE

Afin de vérifier la standardisation de la méthode, il est recommandé de réaliser un contrôle de qualité de façon périodique en utilisant la souche de référence, *Escherichia coli* ATCC 25922, et *Streptococcus uberis* ATCC 19436.

Résultats attendus après 6 h d'incubation à 37°C ± 1°C:

ELI ATB PETS

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	C+	PEN			AMC	AMP	OXA		ERY		CLI	TET		GEN	MAR		ENO			SXT
		0,06	0,12	0,25	4/2	0,25	2	4	0,5	4	0,5	2	4	2	1	2	0,5	1	2	2/38
Streptococcus uberis ATCC 19436	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Escherichia coli ATCC 25922	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ELI ATB BOVINE

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	C+	P/N		PEN			OXA	AMP	AMC	ERY	CEF			TET		ENR		GEN	FFC	SXT
		1/2	2/4	0,25	0,5	1	2	0,25	4/2	1	2	4	8	2	4	0,25	0,5	4	2	2/38
Streptococcus uberis ATCC 19436	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
Escherichia coli ATCC 25922	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	+	-

XII. Limites de la méthode

Comme pour toute méthode d'antibiogramme, la qualité de l'isolement conditionne le résultat.
La méthode n'a été testée qu'à partir de colonies isolées sur gélose spécifique.
Pour certains cas particulier, selon les germes et les référentiels choisis, ELI ATB ne permet pas de différencier entre les souches sensibles, intermédiaires et résistantes.

XIII. CAUSES D'ERREUR

Lecture des résultats lorsque le virage du puits contrôle est incomplet.
Négativité du test si l'animal est sous traitement antibiotique
Mauvaise utilisation de l'inoculateur PRESTO ABG.
Souches isolées après plus de 24 heures d'incubation.

Non-respect du temps nécessaire à la remise des réactifs à température ambiante.
Température (35-37 °C) non maintenue pendant toute la durée de l'incubation**.**
Et d'une façon générale, le non-respect des recommandations de la présente notice.

XIV. PERFORMANCES

L'évaluation des performances a été réalisée sur 55 souches pour chaque galerie isolées à partir de prélèvements de mammites bovines, de diarrhées de veau, d'infections auriculaires, urinaires, cutanées et fèces de chiens et chats.
Les espèces testées dans l'étude se répartissent comme suit : 10 *Enterococcus spp*, 9 *Staphylococcus spp*, 4 *Staphylococcus aureus* 6 *Streptococcus spp*, 6 bacteries du groupe KESC, 8 *Escherichia coli*, 4 *Pseudomonas spp*, 2 *Proteus spp*, 1 *Aerococcus urinae*, 2 Acinetobacter baumanii, 1 *Hafnia alvei, 1 Pasteurella sp.*

La concordance clinique des tests ELI ATB a été évaluée vis à vis de la méthode des disques antibiotiques sur gélose et suivant les recommandations du CLSI et du CA-SFM. Les discordances ont été vérifiées en méthode de microdilution liquide ou avec bandelettes Etest.

Les performances globales des deux tests sont présentées ci-dessous :

	CLSI		**CASFM**	
	% de concordance globale	détail des fausses sensibilités	% de concordance globale	détail des fausses sensibilités
ELI ATB BOVINE	**95%**	sur **ERY**, *1 Streptococcus infantarius* isolé de fécès de veau, faussement sensible	**85%**	sur **ERY**, un *Streptoccus infantarius* faussement sensible, isolé d'une oreille de chien. Sur **ENR**, un *Proteus mirabilis* , faussement sensible
ELI ATB PETS	**96%**	sur **CLI** , 1 *Staphylococcus intermedius* et 2 *Staphylococcus aureus* isolés de pus et peau de chien, faussement sensibles. Sur **ENO**, 1 *Proteus mirabilis* faussement sensible isolé d'une oreille de chien.	**90%**	Sur **ENR**, 1 *Proteus mirabili*s faussement sensible isolé d'une oreille de chien.

XV. ELIMINATION DES DECHETS

Les déchets doivent être éliminés en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur pour ce type de réactif.

XVI. BIBLIOGRAPHIE

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Second Informational Supplement. CLSI document VET01-S2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.

CA-SFM. Antibiogramme vétérinaire du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Communiqué 2014.

ELITech MICROBIO
Parc d'Activité du Plateau
Allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE
Tel : + 33 (0)4.94.88.55.00
Fax : +33 (0)4.94.32.82.61
http://www.elitechgroup.com