

rapid ID 32 A

IVD

Système d'identification des bactéries anaérobies

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

rapid ID 32 A est un système standardisé pour l'identification des bactéries anaérobies en 4 heures, comprenant 29 tests enzymatiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'identification en fin de notice.

La lecture et l'interprétation sont automatiques ou manuelles.

PRINCIPE

La galerie rapid ID 32 A comporte 32 cupules, dont 29 sont utilisées comme cupules tests et contiennent un milieu réactionnel déshydraté.

Après 4 heures d'incubation en **aérobiose**, les réactions sont lues soit avec les instruments ATB® Expression® ou **mini API**®, soit visuellement.

L'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification.

PRESENTATION (coffret de 25 tests) :

- 25 galeries rapid ID 32 A
- 25 couvercles d'incubation
- 25 fiches de résultats
- 1 notice

COMPOSITION DE LA GALERIE

La composition de la galerie rapid ID 32 A est reportée dans le Tableau de Lecture de cette notice.

REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Réactifs et instruments :

- API® Suspension Medium, 2 ml (Réf. 70 700) ou 3 ml (Réf. 70 640) si utilisation de l'Inoculateur ATB®
- Réactifs : JAMES (Réf. 70 542)
NIT 1 + NIT 2 (Réf. 70 442)
FB (Réf. 70 562)
- Huile de paraffine (Réf. 70 100)
- DENSIMAT (Réf. 99 234) ou Densitomètre ATB® ou McFarland Standard (Réf. 70 900), point 4
- Instruments ATB® Expression® ou **mini API**® et/ou logiciel d'identification (consulter bioMérieux)
- Pipette Electronique ATB® (consulter bioMérieux) ou Inoculateur ATB® et Embouts (Réf. 15 710)

Matériel :

- Ecouvillons
- Pipettes ou PSipettes
- Portoir pour ampoules
- Protège-ampoules
- Jarre anaérobie + générateur d'anaérobiose
- Géloses au sang fraîchement préparées (géloses à base Columbia de sang de cheval ou mouton, additionnées éventuellement de vitamine K3, en particulier si une bactérie du groupe des bactéries anaérobies pigmentées en noir est suspectée).
- Equipement général de laboratoire de bactériologie

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- **Pour diagnostic *in vitro* et pour contrôle microbiologique.**
- **Pour usage professionnel uniquement.**
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer; ne pas inhaler).
- Les prélèvements et cultures bactériennes doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée par un personnel compétent et averti. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation ; se référer à "NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline* - December 1997". Pour informations complémentaires sur les précautions de manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, HHS Publication No. (CDC) 93-8395, 3rd Edition (May 1993)," ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Avant utilisation, s'assurer de l'intégrité de l'emballage des différents composants.
- Ne pas utiliser de galeries ayant subi une altération physique : cupule déformée, sachet déshydratant ouvert, ...
- Les performances présentées sont obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut altérer les résultats.
- L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique ou autre, de l'origine du prélèvement, des aspects macro et microscopiques de la souche et éventuellement des résultats d'autres tests, en particulier de l'antibiogramme.

CONDITIONS DE STOCKAGE

Les galeries se conservent à 2-8°C jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage.

ECHANTILLONS (PRELEVEMENT ET PREPARATION)

rapid ID 32 A ne doit pas être utilisé directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autres.

Les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de bactériologie.

MODE OPERATOIRE

Sélection des colonies

- A partir d'une colonie bien isolée, faire une subculture sur gélose au sang fraîchement coulée (gélose à base Columbia + 5 % de sang de cheval ou de mouton, additionnée éventuellement de vitamine K3, en particulier si une bactérie du groupe des bactéries anaérobies pigmentées en noir est suspectée).
- Incuber de préférence 24 heures à 36°C ± 2°C en **anaérobiose**.

Préparation de la galerie

- Sortir la galerie de son emballage.
- Jeter le sachet de déshydratant.
- Mettre le couvercle.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la galerie. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).

Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API® Suspension Medium, 2 ml (3 ml si utilisation de l'Inoculateur ATB®) comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation" de la notice du produit ou utiliser un tube contenant de l'eau distillée stérile sans additif.
 - A l'aide d'un écouvillon, prélever la culture sur gélose au sang. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).
 - Préparer une suspension d'opacité égale à 4 de McFarland : mesurer avec le Densitomètre ATB® (diode n° 30) ou avec le DENSIMAT ou évaluer par comparaison à un témoin d'opacité (McFarland Standard). Cette suspension doit être utilisée extemporanément.
- NOTE :** En cas de lecture AUTOMATIQUE de la galerie, utiliser IMPERATIVEMENT le Densitomètre ATB® ou le DENSIMAT pour ajuster l'opacité de la suspension bactérienne.

Inoculation de la galerie

- Inoculation AUTOMATIQUE :
 - Déposer sur un portoir de l'Inoculateur ATB®, la galerie, l'ampoule d'API® Suspension Mediumensemencée et l'Embout.
 - L'inoculateur va réaliser automatiquement l'homogénéisation de l'ampoule et le remplissage des cupules (55 µl / cupule).
- Inoculation MANUELLE :
 - Homogénéiser l'ampoule d'API® Suspension Mediumensemencée et inoculer la galerie en distribuant 55 µl de suspension par cupule avec la Pipette Electronique ATB®.
- Recouvrir le test URE avec 2 gouttes d'huile de paraffine (cupule 1.0).
- Mettre le couvercle sur la galerie.
- Incuber à 36°C ± 2°C pendant 4 H - 4 H 30 en **aérobiose**.

LECTURE ET INTERPRETATION

Lecture de la galerie

Révéler toutes les réactions de la rangée 0 en ajoutant 1 goutte des réactifs suivants :

- Test NIT (cupule 0.0) : réactifs NIT 1 et NIT 2.
- Test IND (cupule 0.1) : réactif JAMES.
- Tests PAL à SerA (cupules 0.2 à 0.E) : réactif FB.

Lire après 5 minutes (sans excéder 10 minutes) :

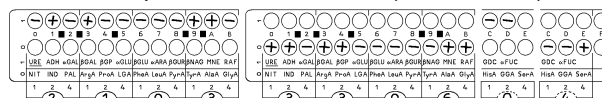
- Lecture AUTOMATIQUE : avec les instruments ATB® Expression® ou *mini API*®. Le lecteur enregistre la couleur pour chaque cupule et transmet les données à l'ordinateur.
- Lecture VISUELLE : se reporter au Tableau de Lecture. Noter les résultats sur la fiche de résultats.

NOTE : Selon les lots, il peut être observé pour certaines espèces bactériennes une légère variation dans la nuance et l'intensité de la coloration de la réaction.

Interprétation

L'identification est obtenue à partir de la base de données (V3.1) :

- APRES LECTURE AUTOMATIQUE : les résultats transmis à l'ordinateur sont interprétés par le logiciel d'identification.
- APRES LECTURE VISUELLE : les réactions obtenues sont codées en un **profil numérique** : Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun : on additionne à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives. L'identification est obtenue avec le logiciel d'identification, en entrant manuellement au clavier le profil numérique à 10 chiffres : les 4 chiffres de la rangée supérieure gauche (1.0 à 1.B), suivis des 4 chiffres de la rangée inférieure gauche (0.0 à 0.B), suivis enfin des 2 chiffres des tests complémentaires :
 - 9° chiffre pour le codage des tests GDC, αFUC (1.C, 1.D)
 - 10° chiffre pour HisA, GGA, SerA (0.C, 0.D, 0.E).



2103 3306 04 *Propionibacterium acnes*

CONTROLE DE QUALITE

Les galeries font l'objet de contrôles de qualité systématiques aux différentes étapes de leur fabrication. Un contrôle bactériologique des tests de la galerie est de plus réalisable par l'utilisateur avec la souche **1. *Capnocytophaga sputigena* ATCC 33612 (*)** de préférence ou l'une des souches suivantes :

- | | | | |
|----------------------------------|------------|--------------------------------|------------|
| 2. <i>Clostridium sordellii</i> | ATCC 9714 | 4. <i>Actinomyces viscosus</i> | ATCC 15987 |
| 3. <i>Clostridium sporogenes</i> | ATCC 19404 | 5. <i>Bacteroides fragilis</i> | ATCC 23745 |

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	URE	ADH	α.GAL	β.GAL	β.GP	α.GLU	β.GLU	α.ARA	β.GUR	β.NAG	MNE	RAF	GDC	α.FUC	NIT	IND	PAL	ArgA	ProA	LGA	PheA	LeuA	PyrA	TyrA	AlaA	GlyA	HisA	GGA	SerA	
1.	-	V	V	+	+	+	+	-	-	+	V	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
2.	+	-	-	V	-	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.	-	+	-	-	-	V	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
4.	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	V	-	-	-	-	-
5.	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	V	-	+	V	+	-	V	+	-	-	-	+	-

Profils obtenus après culture des souches sur gélose Columbia au sang de mouton, en lecture automatique.

(*) *Capnocytophaga sputigena* identifié à *Capnocytophaga* spp sur rapid ID 32 A.

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en oeuvre conformément à la législation locale en vigueur.

RECOMMANDATIONS

Pour obtenir les meilleurs résultats avec la galerie rapid ID 32 A, respecter scrupuleusement les points suivants de la méthodologie :

- Vérifier que la bactérie à identifier possède les caractéristiques générales des germes anaérobies (tests morphologiques, catalase, absence de croissance en aérobiose...).
- Utiliser le milieu d'isolement recommandé dans la présente notice (gélose Columbia au sang).
- Ajuster précisément l'inoculum à 4 de McFarland et utiliser impérativement le Densitomètre ATB® ou le DENSIMAT lorsque la galerie est lue et interprétée avec les instruments ATB® Expression® ou *mini API*®.
- Délivrer exactement 55 µl par cupule avec la Pipette Electronique ATB® ou l'Inoculateur ATB® (impératif si la galerie est lue et interprétée avec les instruments ATB® Expression® ou *mini API*®).
- Respecter le temps d'incubation et le temps de lecture.
- Veiller à la qualité des réactifs : surveiller la date de péremption, les conditions de conservation et ne pas dépasser 1 mois après ouverture des ampoules.

LIMITES DU TEST

- Le système rapid ID 32 A est destiné à l'identification des espèces mentionnées dans la base de données (voir Tableau d'Identification en fin de notice), et à elles seules. Il ne peut être utilisé pour identifier d'autres microorganismes ou exclure leur présence.
- Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées.

RESULTATS ATTENDUS

Se référer au Tableau d'Identification en fin de cette notice pour les résultats attendus des différentes réactions biochimiques.

PERFORMANCES

3013 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :

- 93,96 % des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
- 4,22 % des souches n'ont pas été identifiées.
- 1,83 % des souches ont été mal identifiées.

ELIMINATION DES DECHETS

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

TABLEAU DE LECTURE

CUPULE	TEST	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTAT	
					NEGATIF	POSITIF
1.0	URE	urée	0,96	UREase	jaune	rouge
1.1	ADH	L-arginine	0,77	Arginine DiHydrolase		
1.2	α GAL	4-nitrophényl- α D-galactopyranoside	0,026	α -GALactosidase	incolore	jaune
1.3	β GAL	4-nitrophényl- β D-galactopyranoside	0,052	β -GALactosidase		
1.4	β GP	4-nitrophényl- β D-galactopyranoside-6-phosphate-2CHA	0,034	β -Galactosidase 6 Phosphate		
1.5	α GLU	4-nitrophényl- α D-glucopyranoside	0,026	α -GLUcosidase		
1.6	β GLU	4-nitrophényl- β D-glucopyranoside	0,026	β -GLUcosidase		
1.7	α ARA	4-nitrophényl- α L-arabinofuropyranoside	0,024	α -ARAbinosidase		
1.8	β GUR	4-nitrophényl- β D-glucuronide	0,026	β -GlucURonidase		
1.9	β NAG	4-nitrophényl-N-acétyl- β D-glucosaminide	0,028	N-Acétyl- β -Glucosaminidase		
1.A	MNE	D-mannose	0,56	Fermentation de MaNnose		
1.B	RAF	D-raffinose	0,56	Fermentation de RAFfinose		
1.C	GDC	acide glutamique	0,056	Ac. Glutamique DéCarboxylase	jaune-vert	bleu
1.D	α FUC	4-nitrophényl- α L-fucopyranoside	0,024	α -FUCosidase	incolore	jaune
1.E	-	cupule vide	-	cupule vide	-	-
1.F	-	cupule vide	-	cupule vide	-	-
0.0	NIT	potassium nitrate	0,14	Réduction des NITrates	<u>NIT 1 + NIT 2 / 5 min < 10 min</u> incolore rouge	
0.1	IND	L-tryptophane	0,056	Production d'INDole	<u>JAMES / 5 min < 10 min</u> incolore rose	
0.2	PAL	2-naphtyl-phosphate	0,04	Phosphatase ALcaline	<u>FB / 5 min < 10 min</u> incolore pourpre	
0.3	ArgA	L-arginine- β -naphtylamide	0,056	Arginine Arylamidase	<u>FB / 5 min < 10 min</u> <u>(ArgA \rightarrow SerA)</u> incolore orange pâle orange	
0.4	ProA	L-proline- β -naphtylamide	0,048	Proline Arylamidase		
0.5	LGA	L-leucyl-L-glycine- β -naphtylamide	0,052	Leucyl Glycine Arylamidase		
0.6	PheA	L-phenylalanine- β -naphtylamide	0,048	Phenylalanine Arylamidase		
0.7	LeuA	L-leucine- β -naphtylamide	0,052	Leucine Arylamidase		
0.8	PyrA	acide pyroglutamique β -naphtylamide	0,044	Ac. Pyroglutamique Arylamidase		
0.9	TyrA	L-tyrosine- β -naphtylamide	0,052	Tyrosine Arylamidase		
0.A	AlaA	L-alanyl-L-alanine- β -naphtylamide	0,048	Alanine Arylamidase		
0.B	GlyA	L-glycine- β -naphtylamide	0,04	Glycine Arylamidase		
0.C	HisA	L-histidine- β -naphtylamide	0,048	Histidine Arylamidase		
0.D	GGA	acide L-glutamyl-L-glutamique β naphtylamide	0,068	Glutamyl ac. Glutamique Arylamidase		
0.E	SerA	L-serine- β -naphtylamide	0,04	Serine Arylamidase		
0.F	-	cupule vide	-	cupule vide	-	-

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

METHODOLOGIE	p. I
TABLEAU D'IDENTIFICATION	p. II
BIBLIOGRAPHIE	p. IV
TABLE DES SYMBOLES	p. V



bioMérieux® sa
 au capital de 11 879 045 €
 673 620 399 RCS LYON
 69280 Marcy-l'Etoile / France
 Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
 Fax 33 (0)4 78 87 20 90
<http://www.biomerieux.com>

bioMérieux, Inc
 Box 15969,
 Durham, NC 27704-0969 / USA
 Tél. (1) 919 620 20 00
 Fax (1) 919 620 22 11



Imprimé en France