

Speed[®] BIOGRAM

Françaisp. 3

Englishp. 10

USAGE IN VITRO UNIQUEMENT

BREVET Bio Vétro Test

INTERET CLINIQUE

Speed® Biogram est un test diagnostic :

- pour l'identification des bactéries pathogènes (et levures) responsables des infections bactériennes (et fongiques) dermatologiques, urinaires ou auriculaires, chez le chien et le chat,
- pour l'obtention d'un antibiogramme rapide parmi l'arsenal thérapeutique vétérinaire disponible.

Ce test réalisable dans une structure vétérinaire à partir d'un simple prélèvement liquide ou cellulaire, vous propose l'antibiogramme spécifique de l'agent pathogène bactérien en 24h et l'identification bactérienne en 48 h (fongique en plusieurs jours).

Cette technologie rapide brevetée prend en compte les effets synergiques ou antagonistes des différents agents pathogènes, des facteurs du milieu infecté (antibiogramme direct) ainsi que la concentration des germes du site infecté (effet inoculum).

PRINCIPE

Speed® BIOGRAM est une minigalerie de culture composée de :

- 13 puits pour les sensibilités et résistances bactériennes sur 13 molécules antibiotiques vétérinaires.
- 6 puits pour l'identification de la (ou les) bactérie(s) pathogène(s).
- 2 puits pour l'identification des levures (Candida/Malassezia).
- 3 puits (Brevet BVT) qui vous signalent le délai de lecture pour considérer uniquement l'antibiogramme de l'agent pathogène et non celui d'un éventuel contaminant.

L'un de ces 3 puits se nomme puits IL (Incubation Limite), il est le seul puits à ne pas recevoir le prélèvement. Ce puits contrôle est utilisé comme un signal limitant le temps de lecture de l'antibiogramme. La lecture du puits IL se fait parallèlement à un second puits +/- qui reçoit le prélèvement. Le puits +/- est un puits témoin de croissance des germes dont le virage de couleur correspond à des concentrations bactériennes $\geq 10^3$ UFC / ml donc à une infection.

Les résultats obtenus par Speed® BIOGRAM se lisent puits par puits. Le dévelop-

pement bactérien est révélé par un virage de couleur. Il vous indique alors une résistance de l'agent pathogène aux antibiotiques des puits correspondants (pour les 13 puits antibiotiques) et indique le type d'agent pathogène présent (pour les 8 puits d'identification bactérienne).

PRESENTATION

Kit de 5 tests Réf. SB 5

- 5 étuis galeries Speed® BIOGRAM avec étiquette adhésive individuelle
- 5 flacons de milieu de conservation
- 5 flacons de milieu de culture
- 1 flacon de Supplément Staph
- 1 flacon d'huile de paraffine
- 5 pipettes stériles
- 5 supports de galerie pour la BVTuve
- 5 feuilles de résultat pour les clients
- 1 protocole

1 étuve adaptée (BVTuve) vendue par BVT sur demande.

MODE D'EMPLOI

■ PRELEVEMENT

Tout prélèvement cutané, urinaire ou auriculaire peut être utilisé à la condition qu'il soit obtenu dans des conditions strictes d'asepsie et qu'il ne contient pas d'antiseptiques (Iode, Alcool, Phénol...) ou d'antibiotiques locaux.

Sans attendre, déposer le prélèvement délicatement dans le milieu de conservation du kit. Bien homogénéiser le mélange.

Vous pouvez conserver ce flacon à T° ambiante (ou pendant 48h entre 4 et 8° C) jusqu'à l'utilisation différée du kit Speed® BIOGRAM.

■ MANIPULATION

1 - Ouvrir le sachet d'une galerie, inscrire le nom de l'animal et la date sur l'étiquette adhésive puis retirer cette étiquette et la coller sur un bord de la galerie pour conserver l'identification des puits.

2 - Prendre un flacon de milieu de culture, déposer à l'aide d'une pipette 3 gouttes de ce flacon dans le puits II (puits ne recevant pas le prélèvement).

3 - Décharger le prélèvement cellulaire ou 2 gouttes de liquide biologique avec la pipette, dans le milieu de conservation, puis homogénéiser le mélange.

4 - Transférer 4 gouttes du milieu de conservation obtenu après mélange dans le milieu de culture ouvert et homogénéiser.

5 - Inoculer les puits de la galerie un par un en déposant 3 gouttes de ce milieu de culture mélangé dans chaque puits, sauf dans le puits IL, à l'aide de la même pipette.

6 - Rajouter dans le puits Staph., 2 gouttes du flacon " Supp. Staph. ".

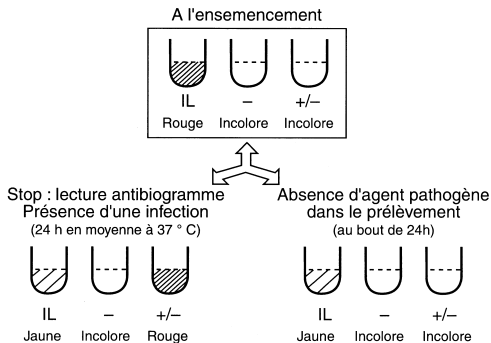
7 - Rajouter 2 gouttes d'huile de paraffine dans chaque puits sauf 2, les puits E. coli et pseudo.

8 - Repositionner l'étiquette adhésive sur la galerie et installer la galerie sur le support en carton prévu. Déposer cet ensemble au centre de la BVTuve branchée, dans le sens transversal pour harmoniser les conditions de T° sur toute la galerie (préférez ce sens au sens longitudinal, parallèle aux 2 bords de la BVTuve).

9 - Utiliser la BVTuve dans une pièce où la T° est contrôlée et homogène (idéal entre 20 et 25 ° C).

■ LECTURE

1 - Lecture antibiogramme : commencer la lecture du profil antibiotique dans les 18 à 24 heures, au moment du virage de couleur du rouge au jaune du puits IL. Le puits IL vire au jaune et le puits témoin de pousse +/- vire de l'incolore au rouge. Ce virage du puits +/- est caractéristique d'une infection pour une concentration de bactéries pathogènes $\geq 10^3$ UFC/ml, dans ce cas la lecture du profil antibiogramme peut être effectuée.



Puits par puits, identifier les sensibilités et les résistances pour chacun des antibiotiques de la manière suivante :

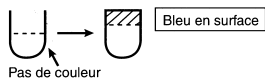


Grille antibiotiques de Speed® BIOGRAM

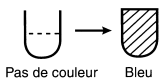
Molécules Antibiotiques	
Amoxicilline	Clindamycine
Amoxicilline + Ac. clavulanique	Fluméquine
Céfalexine	Spiramycine
Enrofloxacin	Gentamicine
Marbofloxacin	Néomycine
Difloxacin	Polymixine B
Doxycycline	

2- Lecture de l'identification bactérienne et fongique : entre 24 et 48h, lire les puits individuellement pour identifier les virages de couleur et la pousse bactérienne. Seul le puits Malassezia ne peut se lire qu'au delà de 3-5 jours d'incubation.

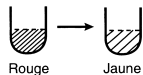
Streptocoque : virage bleu en surface



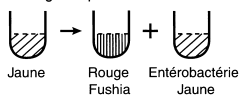
Pseudomonas : virage au bleu



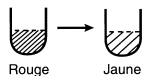
Staphylocoque : virage au jaune
(lecture en 48 h minimum)



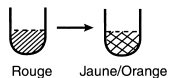
Proteus : virage au rouge fushia
+ virage du puits Entérobactérie



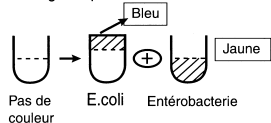
Entérobactérie : virage au jaune



Candida : virage au jaune



Escherichia coli : virage bleu en surface
+ virage du puits Entérobactérie



Malassezia : virage au noir
(entre 3 à 5 jours)



Les lectures d'associations sont possibles.

Les levures Candida et Malassezia ne montrent pas de profil antibiotique sur la galerie.

■ INTERPRETATION

A chaque lecture du profil de sensibilité et de résistance de la bactérie recherchée, une feuille de résultats vous permet de les recenser pour transmettre l'ensemble de l'antibiogramme au propriétaire de l'animal, associé à votre choix de traitement. Les antibiotiques sont adaptés à des indications précises, dermatologiques, urinaires ou topiques auriculaires, qu'il faudra choisir selon les résultats de l'antibiogramme et le type de prélèvement.

RECOMMANDATIONS

Pendant la lecture des puits, il est préférable de laisser la galerie sur la BVTuve. Si le puits témoin de pousse +/- ne vire pas au rouge en 18-24 heures d'incubation, laisser incuber 18 à 24h de plus pour confirmation de l'absence totale de germes pathogènes dans le prélèvement.

STABILITE - CONSERVATION

Le kit est stable à 4-8 ° C pendant 14 mois à partir de la date de fabrication (voir date de péremption sur l'étiquette du kit). Il est conseillé de laisser l'ensemble des réactifs et la galerie au moins 15 min à T° ambiante avant utilisation et de vérifier le fonctionnement de la BVTuve au préalable. Il est déconseillé d'utiliser les flacons de réactifs de lots différents.

Tous les lots sont libérés après contrôle qualité, ils sont conformes aux spécifications requises pour ce test in vitro.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) PAPIEROK G., LESAINE C., "L'antibiogramme directement à partir d'un prélèvement, intérêts et limites", La RICAI (23^e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-infectieuse), 4-5 déc. 2003, Paris.
- (2) MADIN F., "Nouvelles techniques d'analyses microbiologiques rapides utilisables par et pour le praticien", congrès CNVSPA Nov. 1995
- (3) MADIN F., "A propos d'une otite érythématocérumineuse", Action vétérinaire N° 1377, 15-18, 11 Oct. 1996.
- (4) PAPIEROK G. et coll., "The first standardized test for the determination of antibiotic activity against bacteria in private veterinarian clinic", 2nd Congress of the Federation of European Companion Animal Veterinary Associations (FECAVA), 27-29 Oct. 1995, Bruxelles, Belgique.

USE IN VITRO ONLY

Bio Veto Test Patent

CLINICAL INTEREST

Speed® Biogram is a diagnostic tool for the identification of pathogenic bacteria (and yeasts) responsible of dogs and cats dermatological and bacterial (and fungus) infections, and urine or auricular infections.

It allows obtaining a quick antibiotic susceptibility testing among the veterinarian therapeutic antibiotics available.

This test, realizable in a veterinarian structure, is obtained directly from a liquid or a cellular sample. Within 24 hours, it suggests you the specific antibiotics to use for the pathogen bacterial agent, and identifies the bacteria within 48 h (fungus in several days).

This rapid patented technology takes into account the synergistic or antagonist effects of the different pathogen agents, of the infected environment factors (direct antibiogram) and the concentration of the infected site germs (inoculum effect)

PRINCIPLE

Speed® BIOGRAM is a micro-tray culture containing:

- 13 wells for sensitivities and bacterial resistance for 13 veterinarian antibiotic molecules.
- 6 wells for the identification of the pathogen(s) bacteria.
- 2 wells for the identification of yeasts (malassezia / candida)
- 3 wells (BVT Patent) which points out the reading delay to consider the pathogen agents' antibiogram (and not the antibiogram of an eventual non pathogen agent)

One of these 3 wells is called I.L well (Incubation Limit), it is the only well that doesn't receive the sample. This control well is considered as a signal, which limits the reading time of the antibiogram. I.L well reading is made concurrently to a second +/- well, which receive the sample. +/- Well is a reference solution for the growth of the germs, which color change corresponds to a bacterial concentration 10^3 UFC/ml, that is to say an infection.

Results obtained with Speed® BIOGRAM are read well by well. Bacterial growth is revealed by a color change. It shows you a resistance of the pathogen agent to the corresponding well antibiotics (concerning the 13 antibiotic wells), and indi-

cates the type of pathogen agent present (concerning the 8 bacterial identification wells).

PACKAGING

5 tests kit ref. SB 5 T

- 5 packed Speed® BIOGRAM trays with individual adhesive labels.
- 5 vial preservative mediums
- 5 growth medium vials
- 1 "Supp Staph" vial
- 1 paraffin oil vial
- 5 sterile pipettes
- 5 reading carriers for BVTuve (incubator)
- 5 color trays for customers
- 1 operating procedure

1 BVTuve warning plate (ref: BVU) to incubate Speed® BIOGRAM at 37 ° can be provided upon request.

OPERATING PROCEDURE

■ SAMPLING

Every cutaneous, urinary or auricular sample can be used, only if it is obtained from sanitized environment and if it doesn't contain antiseptics (Iodine, Alcohol, Phenol...) or local antibiotics.

Discharge immediately and delicately the sample in the kit's preservative medium. Homogenize the medium.

You can store this vial at ambient temperature (or keep it 48h between 4 and 8 °C) until the deferred use of the Speed® BIOGRAM kit.

■ PROCESSING

1 - With a new tray just taken out from its pouch, identify the animal with its name and date, then take off the adhesive strip and paste it on one side of the tray in order to conserve the wells identification.

2 - Take a medium culture vial, add 3 drops of this vial in the I.L well with a pipette (which well does not receive the sample)

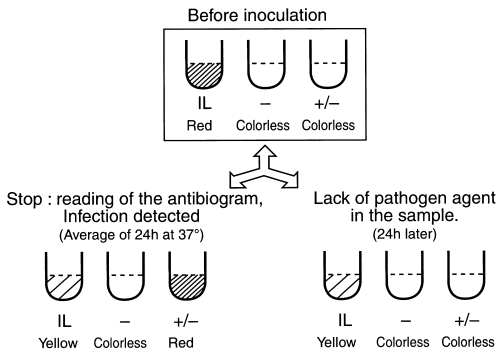
3 - Discharge the cell sample or 2 drops of biological liquid with the pipette in the preservative medium, and then homogenize the mix.

4 - Transfer 4 drops from the preservative medium to the opened medium culture and homogenize

- 5 - Inoculate the tray's wells one by one, adding with the same pipette 3 drops of this medium culture, mixed in each well, except the I.L well.
- 6 - Add in the Staph well 2 drops of the " Supp. Staph. ".
- 7 - Add 2 drops of paraffin oil in each well, except in E. coli and pseudo wells
- 8 - Stick adhesive label back on the tray, and put the tray on its reading carrier. Put the reading carrier at the center of the plugged BVTuve, in a transversal sense in order to harmonize temperature conditions in the whole tray. (This sense is better than the longitudinal one, parallel to both sides of the BVTuve.)
- 9 - Use BVTuve in a room where the temperature is controlled and homogeneous. (The ideal is between 20 and 25°C)

■ **READING**

1 - Antibiogram reading: begin the reading of the antibiotic profile 18 to 24 hours later, when the color of the I.L well is turning from red to yellow. The I.L. well turns to yellow and the growth reference +/- well turns from colorless to red. This color change of the +/- well is typical of an infection, for a pathogen bacteria concentration \geq to 10^3 UFC/ml. In this case, an antibiogram profile reading can be made.



Identify sensitivities and resistances well by well and for each antibiotic as described:

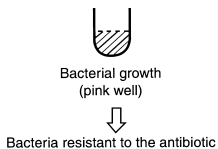
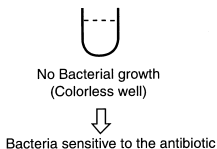
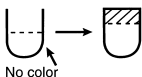


Table of Speed® BIOGRAM antibiotics

Antibiotic molecules	
Amoxicillin	Clindamycin
Amoxicillin + clavulanic Ac.	Flumequin
Cefalexin	Spiramycin
Enrofloxacin	Gentamicin
Marbofloxacin	Neomycin
Difloxacin	Polymixine B
Doxycyclin	

2 - Reading of the bacterial fungus identification: read the wells individually after 24 to 48h, in order to identify a color change or a bacterial growth. Only the *Malassezia* well can be read after 3 to 5 days of incubation.

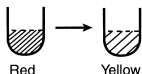
Streptococcus: surface blue color change



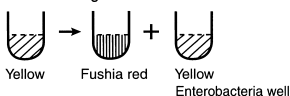
Pseudomonas: blue color change



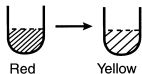
Staphylococcus: yellow color change
(read at least after 48 hours)



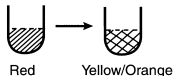
Proteus: fushia red color change
+ Color change of the enterobacteria well



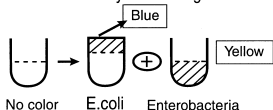
Enterobacteria: yellow color change



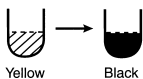
Candida: Yellow color change



Escherichia coli: surface blue color change
+ Enterobacteria yellow change of color



Malassezia: Black color change
(Between 3 to 5 days)



Reading associations are possible.

Candida and *Malassezia* yeasts do not show any antibiotic profile on the tray.

■ INTERPRETATION

For each reading of susceptibility and resistance profile of the searched bacteria, a sheet of results allows you to register them in order to transmit the whole antibiogram to the animal's owner, associated with your treatment choice. Antibiotics are adapted to precise dermatological, urinal or auricular indications, which you must choose according to antibiogram results and to the type of the sample.

RECOMMENDATION

During the well reading, we recommend to let the tray on the BVTuve. If the reference growth +/- well does not turn to red after 18 to 24 h of incubation, let incubate it more during 18 to 24h, in order to confirm the lack of pathogen germs in the sample.

SHELF LIFE - STORAGE

14 - months shelf life at 4-8°C from the manufacturing date written on the kit box. Before using, we recommend to let the whole reagents and the tray at least 15 min. to room temperature, and to check the functioning of the BVTuve. We recommend you not to use reagents vials from various batches.

All batches are QC controlled and satisfied the necessary requirements concerning in-vitro diagnostics.

BIBLIOGRAPHY

- (1) PAPIEROK G., LESAINE C., "L'antibiogramme directement à partir d'un prélèvement, intérêts et limites", La RICA (23^e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-infectieuse), 4-5 déc. 2003, Paris.
- (2) MADIN F., "Nouvelles techniques d'analyses microbiologiques rapides utilisables par et pour le praticien", congrès CNVSPA Nov. 1995
- (3) MADIN F., "A propos d'une otite érythématocérumineuse", Action vétérinaire N° 1377, 15-18, 11 Oct. 1996.
- (4) PAPIEROK G. et coll., "The first standardized test for the determination of antibiotic activity against bacteria in private veterinarian clinic", 2nd Congress of the Federation of European Companion Animal Veterinary Associations (FECAVA), 27-29 Oct. 1995, Bruxelles, Belgique.

BIO VETO TEST
285, AVENUE DE ROME
83500 LA SEYNE SUR MER - FRANCE
TEL. +33 (0)4 94 10 58 94 - FAX +33 (0)4 94 10 58 90
E-MAIL : bvt@bvt.fr - WEB : www.bvt.fr



Le Diagnostic au Service du Vétérinaire

