

MAST REDIPREP® LÖWENSTEIN JENSEN MEDIA

Série EM100 & EM102

Utilisation

Isolément et culture des mycobactéries.

USAGE IN VITRO UNIQUEMENT

Présentation

MAST REDIPREP-Löwenstein Jensen Media est conditionné en boîte de 50 flacons. Le milieu au glycérol (EM100) a une étiquette rouge sur le bouchon. Le milieu contenant du pyruvate (EM102) a une étiquette verte sur le bouchon.

Formule*

Gélose en pente Löwenstein Jensen (LJ) contenant du glycérol ou du pyruvate de sodium.

Conservation

Toutes les boîtes doivent impérativement être bien fermées et stockées jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette dans un endroit sec à 2 à 8°C.

Précautions

Usage In Vitro uniquement. Respecter les précautions d'usage contre les risques biologiques et les conditions d'asepsie. Ne doit être utilisé que par un personnel de laboratoire correctement formé et qualifié. Stériliser tous les déchets biologiquement contaminés avant de les jeter. Se référer à la fiche de sécurité du produit. Tous les échantillons et les isolats suspectés d'appartenir à l'espèce *Mycobacterium* doivent être manipulés et traités dans un sas microbiologique d'un laboratoire de niveau 3.

Matériels nécessaires non fournis

Réactifs et équipements microbiologiques standards (anses, suppléments sélectifs MAST®, écouvillons, ensemenceurs, autoclaves et incubateurs, etc...) ainsi que des réactifs sérologiques et biochimiques et des additifs tels que le sang.

Procédure

Méthode N-acétyl L-cystéine

1. Préparer extemporanément une solution de décontamination en mélangeant à volume égal une solution de soude (NaOH) à 4%(p/v) et une solution de N-acétyl-L-cystéine (NALC) à 5 % (p/v). Si l'échantillon de crachat a été prétraité avec le réactif Sputagest Selectavial (SV40) ou un autre liquéfiant ne pas ajouter de solution NALC.
2. Ajouter un volume égal de solution NaOH-NALC à l'échantillon dans un flacon stérile et agiter.
3. Incuber à température ambiante pendant 15 à 30 minutes au maximum (en fonction du degré de liquéfaction de l'échantillon) agiter au moins toutes les 10 minutes.
4. Ajouter 15 mL de tampon phosphate pH 6,8 pour neutraliser et mélanger.
5. Centrifuger à 3000 g pendant 15 minutes.
6. Décanter le surnageant dans un récipient jetable en prenant soin de ne pas contaminer l'extérieur du récipient ou de ne pas perdre une partie du dépôt.

7. Ensemencer le dépôt à la surface des géloses en pente de MAST REDIPREP LJ Media (EM100 - avec glycérol et EM102 - avec pyruvate). Le dépôt doit être remis en suspension dans 1 à 2 mL d'eau distillée stérile ou de tampon pour faciliter l'ensemencement.
8. Incuber les géloses en pente à 35 à 37°C pendant 8 semaines avant élimination (ou à d'autres températures selon la méthode choisie). Les géloses doivent être examinées après 48 à 72 heures pour détecter une contamination et effectuer un examen de la gélose contaminée toutes les semaines.
9. D'autres protocoles de décontamination peuvent être utilisés selon la pratique courante du laboratoire.

Interprétation des résultats

Après incubation, noter la croissance des germes. Les caractères typiques à noter incluent: la taille des colonies, la morphologie et la pigmentation. Les colonies typiques de *M. tuberculosis* sont rugueuses, crénelées, cireuses, non pigmentées (colorées marron) avec une croissance lente apparaissant en général au bout de 2 semaines minimum. La morphologie des colonies des autres mycobactéries dépend des espèces isolées. Le diagnostic d'une infection à mycobactéries doit être confirmé par au minimum la confirmation du genre *Mycobacterium* par la technique de coloration de Ziehl-Nielsen sur un frottis à partir d'une culture. L'isolement d'un bacille alcool-acido résistant (B.A.A.R.) doit être déclaré au laboratoire du Centre National de Référence.

Contrôle de qualité

Le laboratoire doit être accrédité pour la culture des mycobactéries et avoir une procédure de contrôle de qualité interne et des résultats contrôles de qualité externes corrects pour l'observation au microscope, la culture, l'identification et l'antibiogramme.

La liste ci-dessous présente les performances attendues de souches de contrôle pouvant être obtenues facilement.

Souche test	
<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC® 14468	Croissance

Evaluation des performances

Les milieux MAST REDIPREP-Löwenstein Jensen ont montré leur capacité à assurer la croissance de *M. tuberculosis*, *M. kansasii* et *M. avium intracellulaire* à partir d'isolement cliniques récents.

Limites

MAST REDIPREP-Löwenstein Jensen Media peut varier en couleur à cause de sa photosensibilité sans que cela n'affecte les performances du test.

Références

Bibliographie disponible sur demande.