

---

---

# **BD BACTEC Plus Aerobic/F Culture Vials et BACTEC Plus Anaerobic/F Culture Vials (Flacons de culture)**

## **Bouillon digéré de soja-caséine**

Français

### **APPLICATION**

Les milieux **BD BACTEC Plus Aerobic/F** et **Plus Anaerobic/F** servent à une procédure qualitative de culture aérobie ou anaérobie et de mise en évidence des microorganismes (bactéries et levures) du sang. Ces milieux sont essentiellement utilisés avec les appareils **BD BACTEC** de la série à fluorescence.

### **RESUME ET EXPLICATION**

L'échantillon à analyser est ensemencé dans un ou plusieurs flacons qui sont ensuite placés dans un appareil **BACTEC** de la série à fluorescence pour être incubés et lus périodiquement. Chaque flacon contient un détecteur chimique qui détecte toute augmentation en  $\text{CO}_2$  résultant de la croissance des microorganismes. L'appareil contrôle ce détecteur toutes les dix minutes en recherchant une augmentation de la fluorescence qui est proportionnelle à la quantité de  $\text{CO}_2$  présent. Une lecture positive indique la présence présumée de microorganismes viables dans le flacon. La détection se limite aux microorganismes pouvant se développer dans un type particulier de milieu de culture.

Des résines ont été décrites pour préparer les échantillons de sang avant et après leur ensemencement sur les milieux de culture. De telles résines ont été incorporées dans les milieux de culture **BACTEC** afin d'améliorer la mise en évidence des microorganismes sans avoir à recourir à des préparations spéciales.<sup>1-3</sup>

### **PRINCIPES DE LA METHODE**

Si des microorganismes sont présents dans l'échantillon inoculé dans le flacon **BACTEC**, ils métabolisent les substrats contenus dans le flacon et produisent du  $\text{CO}_2$ . L'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence surveille à la recherche de toute augmentation de la fluorescence du détecteur du flacon due à un accroissement de la quantité de  $\text{CO}_2$ . L'analyse de l'accroissement, taux et quantité, du  $\text{CO}_2$  permet à l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence de déterminer si le flacon est positif, c'est-à-dire si l'échantillon contient des organismes viables.

## REACTIFS

Avant traitement, les flacons de culture **BACTEC** contiennent les réactifs suivants :

Liste des composants	BACTEC Plus Aerobic/F	BACTEC Plus Anaerobic/F
Eau traitée	30 mL*	25 mL
	poids/vol	poids/vol
Bouillon digéré de soja-caséine	3,0%	3,0%
Extrait de levure	0,25%	0,4%
Digestion de tissus animaux	—	0,05%
Acides aminés	0,05%	0,25%
Sucre	—	0,25%
Citrate de sodium	—	0,02%
Polyanétholsulfonate de sodium (PSS)	0,05%	0,05%
Vitamines	0,025%	0,0006%
Antioxydants/réducteurs	0,005%	0,16%
Résine adsorbante non ionique	13,4%	16,0%
Résine échangeuse de cations	0,9%	1,0%

Tous les milieux **BACTEC** sont fournis avec CO<sub>2</sub>. Les milieux anaérobies sont pré-réduits et fournis avec CO<sub>2</sub> et N<sub>2</sub>.

\*Le volume du milieu dans le flacon **BACTEC** Plus Aerobic/F a été augmenté de 25 mL à 30 mL.

### Avertissements et précautions :

Les flacons de culture fournis sont destinés au diagnostic *in vitro*.

Ce produit contient du caoutchouc naturel sec.

**Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les "Précautions standard"<sup>4-7</sup> et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques.**

Avant utilisation, il convient d'examiner les flacons pour vérifier l'absence de toute contamination, à savoir turbidité, bouchon protubérant ou enfoncé, ou de fuite. **NE PAS UTILISER** les flacons présentant des signes de contamination. Les flacons contaminés peuvent être sous pression. Si un flacon contaminé est utilisé pour un prélèvement direct, des gaz ou du milieu contaminé pourraient être refoulés dans la veine du patient. La contamination du flacon peut ne pas être visible. Si une procédure de prélèvement direct est utilisée, surveillez de près la procédure pour éviter tout reflux de matériaux dans le patient.

Avant utilisation, il convient d'examiner les flacons pour vérifier l'absence d'endommagement ou de détérioration. Ne pas utiliser un flacon dont le milieu est trouble, contaminé ou décoloré (foncé). Occasionnellement, il peut arriver que le goulot d'un flacon en verre soit fêlé et se rompe lors du retrait de la capsule de protection ou pendant les manipulations. Il peut aussi arriver qu'un flacon ne soit pas hermétiquement bouché. Dans les deux cas, le contenu du flacon risque de fuir ou de se répandre, surtout si le flacon est inversé. Si le flacon a été ensemencé, traiter la fuite ou le liquide répandu avec précaution en raison de la présence éventuelle de microorganismes ou d'agents pathogènes. Stériliser à l'autoclave les flacons ensemencés avant de les jeter.

Flacons contenant une culture positive destinée au repiquage ou à la coloration, etc. : avant de faire un prélèvement, il est nécessaire de libérer tout gaz accumulé résultant du métabolisme bactérien. Les prélèvements doivent être effectués dans une hotte biologique de sécurité, si possible, et il convient de porter des vêtements de protection appropriés, dont gants et masque. Pour plus d'informations sur le repiquage, voir la rubrique Méthode.

Afin de minimiser les risques de fuite pendant l'ensemencement des échantillons dans les flacons de culture, utiliser des seringues munies d'aiguilles ou d'embouts **Luer-Lok** inamovibles.

### Instructions pour la conservation

Les flacons **BACTEC** sont reçus prêt à l'emploi et ne demandent aucune reconstitution ou dilution. Les conserver dans un endroit frais et sec (2 à 25 °C), à l'abri de la lumière directe.

### PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

Les échantillons doivent être recueillis de façon aseptique afin de réduire les risques de contamination. Le volume d'échantillon conseillé est de 8 à 10 mL. Il est conseillé d'ensemencer les flacons **BACTEC** au chevet du malade. On peut utiliser une seringue de 10cc ou 20cc avec un embout **Luer-Lok** pour prélever l'échantillon, ou encore un porte-aiguille **Vacutainer** et un système de prélèvement sanguin **Vacutainer**, un système de prélèvement sanguin **Vacutainer Safety-Lok** ou autre système à ailettes. Si on utilise une aiguille et un système de tubes (prélèvement direct), il faut observer soigneusement la direction du flot sanguin au moment où le prélèvement de l'échantillon est démarré. Le vide dans le flacon en général dépasse 10 mL, de sorte que l'utilisateur doit surveiller le volume prélevé au moyen des graduations de 5 mL sur l'étiquette du flacon. Des petits volumes d'échantillons de l'ordre de 3 mL peuvent être utilisés, toutefois la mise en évidence ne sera pas aussi bonne qu'avec les plus grands volumes. **Le flacon BACTEC inoculé doit être envoyé le plus rapidement possible au laboratoire.**

### METHODE

Retirer la capsule de protection du flacon **BACTEC** et vérifier l'absence de fissure, de contamination, de turbidité excessive, de bouchon protubérant ou en dépression. **NE PAS UTILISER** le flacon si on note un tel défaut. Avant d'ensemencer, tamponner le bouchon avec de l'alcool (l'utilisation d'iode n'est **PAS** recommandée). Injecter aseptiquement ou extraire directement 8 à 10 mL d'échantillon par flacon. Si des volumes d'échantillon de l'ordre de 3 à 7 mL sont utilisés, la mise en évidence ne sera pas aussi importante qu'avec les plus grands volumes (voir Limites de la méthode). **Les flacons aérobies et anaérobies ensemencés doivent être placés dans l'appareil BACTEC de la série à fluorescence dès que possible** pour être incubés et suivis. Si le placement dans l'appareil d'un flacon ensemencé a été retardé et qu'une croissance est visible, il ne doit pas être testé dans l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence, mais plutôt il doit être repiqué, soumis à une coloration de Gram et traité comme un flacon présumé positif.

Les flacons placés dans l'appareil seront automatiquement testés toutes les 10 minutes pendant toute la durée du protocole de test. Les flacons positifs seront reconnus et identifiés comme tels par l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence (voir le manuel d'utilisation de l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence approprié). Le détecteur à l'intérieur du flacon n'apparaîtra pas visiblement différent dans les flacons positifs et les flacons négatifs, mais l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence sera lui capable de déterminer une différence dans la fluorescence.

Si à la fin de la période de test, un flacon négatif apparaît visuellement positif (par ex., sang couleur chocolat, bouchon protubérant, sang lysé et/ou très sombre dans un milieu **BACTEC** Plus Aerobic), il doit être repiqué, soumis à une coloration de Gram et traité comme un positif présumé.

Les flacons positifs doivent être repiqués et soumis à une coloration de Gram. Dans la grande majorité des cas, les organismes seront visibles et un rapport préliminaire pourra être fait au médecin. Les repiquages sur milieux solides et un test préliminaire direct de sensibilité aux antibiotiques pourront être préparés directement à partir du liquide dans les flacons **BACTEC**.

**Repiquage** : Avant d'effectuer un repiquage, poser le flacon debout et placer un coton imbibé d'alcool sur le bouchon. Pour relâcher la pression dans le tube, utiliser un évent approprié (référence BD n° 249560) ou équivalent. L'aiguille doit être retirée après le relâchement de la pression et avant de faire un prélèvement pour repiquage. L'insertion et le retrait de l'aiguille doivent être faits avec un mouvement rectiligne, en évitant tout mouvement de torsion.

#### CONTROLE DE QUALITE

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations locales, nationales et/ou internationales en vigueur, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA correspondantes pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

**NE PAS UTILISER** les flacons de culture au-delà de leur date de péremption.

**NE PAS UTILISER** de flacon de culture fêlé ou défectueux ; éliminer ces flacons conformément aux procédures en vigueur.

Des certificats de contrôle de qualité se trouvent dans chaque carton de milieux. Les certificats de contrôle de qualité dressent la liste des microorganismes de test, y compris les cultures ATCC spécifiées dans la norme CLSI M22, *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*. Le délai de détection en heures était ≤ 72 heures pour chacun des organismes figurant sur le certificat de contrôle de qualité pour ce milieu.

#### Organismes pour le milieu aérobique

<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	<i>Candida glabrata</i> ATCC 66032
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 19418	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
<i>Streptococcus pneumoniae</i> * ATCC 6305	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	<i>Alcaligenes faecalis</i> ATCC 8750
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	

#### Organismes pour le milieu anaérobique

<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305
<i>Bacteroides fragilis</i> * ATCC 25285	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC 8482	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923

\**Souche recommandée par le CLSI*

Pour une information concernant le Contrôle Qualité pour l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence, se reporter au manuel d'utilisation de l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence approprié.

#### RESULTATS

Un échantillon positif est identifié par l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence et signale la présence présumée de microorganismes viables dans le flacon.

#### LIMITES DE LA METHODE

##### Contamination

Il convient de veiller à ne pas contaminer l'échantillon au cours du prélèvement et de l'ensemencement dans le flacon **BACTEC**. Un échantillon contaminé donnera un résultat positif mais sans valeur pour le clinicien. Ceci peut être déterminé par l'utilisateur en fonction de facteurs tels que le type de microorganisme recueilli, la présence du même microorganisme dans plusieurs cultures, les antécédents du malade, etc.

##### Culture d'organismes sensibles au PSS à partir de sang

Compte tenu du fait que le sang peut neutraliser la toxicité du PSS envers les organismes sensibles au PSS, la présence de volumes maximaux de sang (de 8 à 10 mL) peut aider à l'optimisation de la mise en évidence de ces organismes. Pour augmenter la croissance d'organismes sensibles au PSS quand un volume de sang inférieur à 8 mL est ensemencé, on peut ajouter du sang humain total ou du sang de mouton défibriné.

Certains organismes fastidieux, telles que certains espèces d'*Haemophilus*, demandent des facteurs de croissance, tels que du NAD ou du facteur V ; ces facteurs sont fournis par l'échantillon de sang. Advenant que le volume de l'échantillon sanguin soit 3,0 mL ou moins, un supplément nutritionnel approprié peut être nécessaire afin de permettre la mise en évidence de ces organismes.

Le Supplément **FOS BACTEC** pour organismes difficiles, du sang humain complet ou du sang de mouton défibriné peuvent être utilisés comme supplément nutritionnel.

#### **Organismes non-viables**

Il arrive qu'un frottis à coloration de Gram fait à partir d'un milieu de culture contienne un petit nombre de microorganismes non-viables dérivés des composants du milieu, des réactifs de coloration, de l'huile d'immersion, des lames de verre et/ou des échantillons utilisés pour l'ensemencement. De plus, l'échantillon du patient peut contenir des organismes qui ne se développent pas dans le milieu de culture ou dans les milieux de repiquage. Dans ce cas, il convient de repiquer les échantillons dans des milieux spéciaux selon les besoins.

#### **Activité antimicrobienne**

La neutralisation de l'activité antimicrobienne par les résines varie selon le niveau de dosage et le moment du prélèvement de l'échantillon. L'utilisation d'additifs supplémentaires devra être considérée dans des situations appropriées; par exemple, l'addition de pénicillinase lorsqu'un traitement à base de  $\beta$ -lactame est utilisé.

Pour tout renseignement concernant les agents antimicrobiens neutralisés par les résines **BACTEC**, contacter les Services Techniques de Becton Dickinson.

#### **Mise en évidence de *Streptococcus pneumoniae***

Dans les milieux aérobies, *S. pneumoniae* donne généralement un résultat positif, visuellement et par l'appareil, mais il peut arriver qu'aucun organisme ne soit détecté sur la coloration de Gram ou mis en évidence dans les repiquages de routine. Si l'on a aussi ensemencé un flacon anaérobie, cet organisme peut en général être mis en évidence par un repiquage aérobie du flacon anaérobie puisqu'il a été rapporté que cet organisme se développe généralement bien en conditions anaérobies.<sup>11</sup>

#### **Considérations générales**

Une mise en évidence optimale des isolats peut être accomplie en ajoutant des quantités maximales de sang. L'utilisation de volumes inférieurs peut avoir une influence défavorable sur les temps de mise en évidence et/ou de détection d'organismes tels que *Peptostreptococcus*, *Peptococcus*, *Bacteroides asaccharolyticus*. Le sang peut contenir des agents antimicrobiens ou d'autres inhibiteurs qui peuvent ralentir ou empêcher la croissance des microorganismes. Des cultures faussement négatives peuvent être observées en présence de certains microorganismes qui produisent du CO<sub>2</sub> en quantité insuffisante pour être détecté par le système ou si une croissance considérable s'est produite avant l'introduction du flacon dans le système. Une fausse positivité peut survenir quand le nombre de globules blancs est élevé.

En raison de la nature des matériaux biologiques présents dans les milieux et de la variabilité inhérente aux organismes, l'utilisateur doit savoir qu'une variation des résultats est possible lors de la mise en évidence de certains microorganismes.

#### **VALEURS ATTENDUES ET CARACTERISTIQUES SPECIFIQUES DE PERFORMANCES**

La performance des milieux **BD BACTEC Plus Aerobic/F** et **Plus Anaerobic/F** a été établie par un certain nombre d'études cliniques externes.<sup>1-3,8,9</sup> Des études de laboratoire sur échantillons ensemencés effectuées par BD ont montré que la performance des milieux **BD BACTEC Plus Aerobic/F** et **Plus Anaerobic/F** était équivalente à celle des appareils non radiométriques **BACTEC Plus 26** et **Plus 27**.<sup>10</sup>

#### **CONDITIONNEMENT**

##### **N° réf. Description**

442192 **BD BACTEC Plus Aerobic/F Medium**

442193 **BD BACTEC Plus Anaerobic/F Medium**

**REFERENCES:** voir la rubrique "References" du texte anglais

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site [www.bd.com/ds](http://www.bd.com/ds).

---

---