**REPUBLIQUE DU NIGER**

**Surveillance Cas par Cas de Méningite**

**Aide-Mémoire pour l’Utilisation du Milieu Trans-Isolate (T-I)**

**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**



**Le Milieu Trans-Isolate (T-I)**

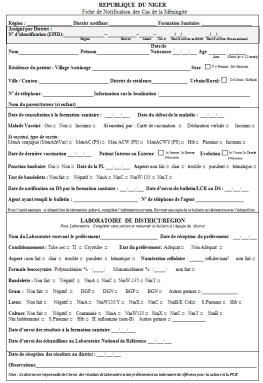
* Un milieu pour la conservation le transport, et la mise en culture du LCR pour le diagnostic bactériologique de la méningite
* Il doit être stocké au réfrigérateur (4ºC) avant l’utilisation

**Inoculation du Milieu T-I**

1. Retirer le flacon de T-I du réfrigérateur au moins **30 minutes (pour permettre à la phase liquide qui était gélatineux de redevenir liquide) avant utilisation.** Ceci permet de réchauffer le flacon à la température ambiante et de favoriser la prolifération des micro-organismes.
2. Avant inoculation, vérifier la stérilité du flacon TI . En cas de prolifération visible ou de turbidité, jeter le flacon (car déjà contaminé).
3. Etiqueter le flacon de T-I en portant les informations suivantes: l’identité du malade, service ou la formation sanitaire ayant effectué le prélèvement, la date et l’heure du prélèvement, le numéro de l’échantillon si nécessaire.

****

1. Soulever l’opercule situé au milieu de la capsule métallique fermant le flacon de T-I. (N’enlever pas complètement le couvercle d’aluminium).
2. Désinfecter le bouchon du flacon de T-I à l’alcool à 70%. Laisser sécher (30 à 60 secondes). **N’utilisez pas le povidone-iode** comme elle peut être introduite dans le milieu au passage de l’aiguille, ce qui inhiberai la croissance bactérienne .
3. Aspirer 0,5 à 1 ml du tube contenant le LCR, à l’aide d’une seringue et d’une aiguille stériles (21G, 0.8mm de préférence).
4. Injecter le LCR dans le flacon de T-I à travers le bouchon désinfecté et sec. Après l’inoculation, désinfecter le bouchon à l’alcool à 70% et retourné la bouteille de T-I plusieurs fois de suite pour mélanger.

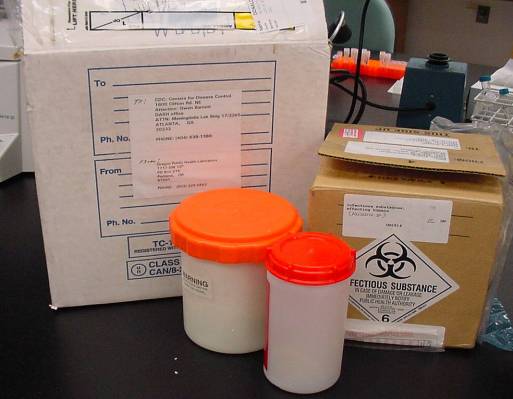


**Transport et Incubation du Milieu T-I Ensemencé**

***Si les flacons de T-I peuvent arriver au Laboratoire de Référence en moins de 24 heures***

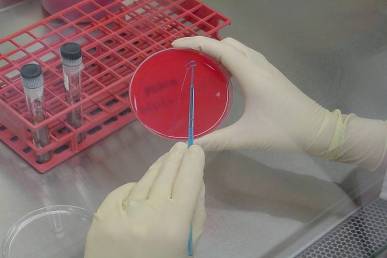
* Transporter les flacons T-I au laboratoire sans ventilation à la température ambiante en triple emballage pour minimiser le risque de contamination et **joindre la Fiche de Notification.**

***Si les flacons de T-I ne peuvent pas arriver au Laboratoire de Référence en moins de 24 heures***

1. Ventiler le flacon de T-I au moyen d’une grosse aiguille cotonnée stérile. L’aiguille ne doit toucher ni le milieu de culture ni le bouillon.
2. Conserver le flacon debout à la température ambiante. **Eviter la lumière directe, la chaleur excessive et la poussière.**
3. Avant de transporter le flacon, retirer l’aiguille cotonnée. (Ceci évitera les fuites et la contamination pendant le transport). Désinfecter le haut du bouchon du flacon de T-I à l’alcool à 70% et replacer le couvercle métallique.

* Assurer le transport à la température ambiante dans un emballage clos réduisant au maximum les risques de contamination. **Ne pas oublier de joindre la fiche de notification.**

**Mise en Culture (au niveau du laboratoire de bactériologie )**

1. À l'arrivée au laboratoire de référence, repiquer directement les T-I ayant poussés sur gélose au sang frais et chocolat polyvitex puis incuber comme indiqué ci-dessous. Les flacons ne présentants pas de pousse sont réincubés à l’étuve à 37°C dans une position verticale et observé journalièrement pendant jusqu'à 7 jours.
2. Avant la mise en culture , retirer l’aiguille cotonnée et désinfecter le bouchon du flacon de T-I à l’alcool à 70%.
3. Utiliser une aiguille stérile et une seringue pour transférer 50-100 µl de la partie liquide du milieu T-I sur le milieu gélose au sang frais et de chocolat polyvitex pour la primo- culture. Faire des ensemencements en stries pour l’isolement des germes et incuber une nuit à 35-37 ° C avec ~5% à CO2.

**Recommandations Supplémentaires**

* Le milieu T-I peut être utilisé pendant au moins 1 an après la date de production à condition d’etre conservés au réfrigérateur (4 °C).
* Congélation des flacons de T-I détruit le milieu.
* Idéalement, les flacons de T-I non-inoculé devraient être prédisposés aux sites périphériques emballés avec des compresses froides.
* La contamination est le plus grand risque. Les mesures d'asepsie et la connaissance des risques sont nécessaires pour obtenir une bonne récupération des isolats.