

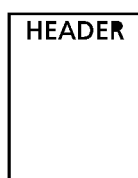
Revisions

SO 0191-5

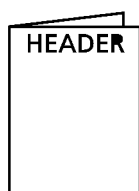
Rev from	Rev to	ECO #
F	G	3528-05

Notes:

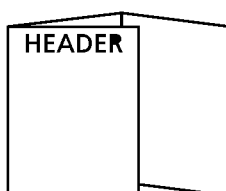
- BD Cat. Number 442003, 442288
- Blank (Sheet) Size : Length: 24" Width: 27.5"
 Number of Pages: 30 Number of Sheets: 1
 Page Size: Length 8" Width 5.5" Final Folded Size: 5.5" x 8"
- Style (see illustrations below): # 7



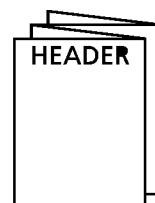
#1



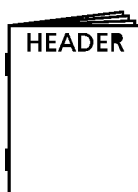
#2



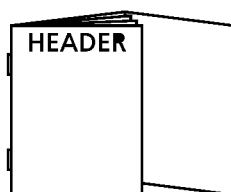
#3



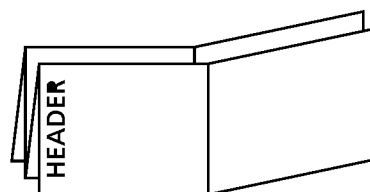
#4



#5



#6



#7

- See Specification Control Number N/A for Material Information
- Ink Colors: Printed two sides ☒ Yes ☐ No
 No. of Colors: 1 PMS# Black
- Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level.

VS Controlled by BD Caribe, Ltd.

Label Design	Date	COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION	 Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA	
Proofer	Date			
Checked By	Date			
Part Number: PP124JAA		Category and Description Package Insert, BACTEC Myco/F Lytic	Sheet: 1 of 31	A
			Scale: N/A	



BACTEC™ Myco/F Lytic Culture Vials

Supplemented Middlebrook 7H9 and Brain Heart Infusion Broth

FOR USE WITH BACTEC 9000MB

English:	pages	1 – 4	Español:	páginas	15 – 18
Français :	pages	4 – 7	Dansk:	side	18 – 21
Deutsch:	Seiten	8 – 11	Português:	páginas	21 – 25
Italiano:	pagine	11 – 14	Svenska:	sidan	25 – 28



PP124JAA(G)
2005/05

See symbol glossary at end of insert. / Viz popis symbolů na konci příbalového letáku. / Se symbolglossaret i slutningen af indlægssedlen. / Zie lijst met symbolen aan het einde van de bijsluiter. / Vaadake sümbolite seletust infolehe lõpus. / Katso pakkauselosteen lopussa olevaa kuvamerkkien sanastoa. / Voir le glossaire des symboles à la fin de la notice. / Siehe Symbol-Erklärungen am Ende der Packungsbeilage. / Δείτε το γλωσσάριο των συμβόλων στο τέλος του ένθετου. / A jelmagyarazát a használati utasítás végén találhatja. / Vedere il glossario dei simboli alla fine del foglio illustrativo. / Ζητουμε informacijo lapelo pabalgoje pateikiamą simbolių glosarijų. / Se i symbolforklaringen på slutten av produktvedlegget. / Zobacz objaśnienie symboli na końcu ulotki. / Consulte o glossário de símbolos no fim do folheto informativo. / Pozri slovník symbolov na konci letáka. / Consulte el glosario de símbolos al final del prospecto. / Se symbolförteckningen vid slutet av bipacksedeln.

Pokyny vám poskytne miestni zástupce spoločnosti BD. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Instrukcie ziskate u miestneho zástupcu spoločnosti BD.

NAME

BACTEC™ culture vials type Myco/F Lytic (a modified Middlebrook 7H9 broth) support the growth and detection of mycobacteria.

INTENDED USE

BACTEC Myco/F Lytic when used with the BACTEC 9000MB instrument is a non-selective culture medium for the qualitative culture and recovery of mycobacteria from blood specimens.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Since the mid-1980s and spread of the AIDS epidemic, the incidence of septicemia caused by opportunistic mycobacteria has risen. *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and mycobacteria other than tuberculosis (MOTT), especially *Mycobacterium avium* complex (MAC), have become resurgent. From 1985 to 1992, the number of MTB cases reported increased 18%. Between 1981 and 1987, AIDS case surveillances indicated that 5.5% of the patients with AIDS had disseminated nontuberculous mycobacterial infections, e.g., MAC. By 1990, the increased cases of disseminated nontuberculous mycobacterial infections had resulted in a cumulative incidence of 7.6%.

The Centers for Disease Control and Prevention (CDC) have recommended that every effort must be made for laboratories to use the most rapid methods available for diagnostic mycobacteria testing. These recommendations include the use of a liquid medium for mycobacterial culture.^{1,2,3}

The BACTEC 9000MB System is designed for the rapid detection of mycobacteria in clinical specimens. BACTEC Myco/F Lytic Culture medium is a Middlebrook 7H9 and Brain Heart Infusion broth formulation for the recovery of mycobacteria from blood specimens. Specific modifications were made to enhance the growth and recovery of mycobacteria. These modifications include ferric ammonium citrate to provide an iron source for specific strains of mycobacteria, the addition of saponin as a blood lysing agent and the addition of specific proteins and sugars to provide nutritional supplements. Each vial contains a sensor which can detect decreases in oxygen concentration in the vial resulting from microorganism metabolism and growth. The sensor is monitored by the BACTEC 9000MB System for increasing fluorescence which is proportional to the decrease in oxygen. A positive determination indicates the presumptive presence of viable microorganisms in the vial.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The BACTEC Myco/F Lytic culture vial is designed for the rapid detection of mycobacteria in blood. Blood specimens are inoculated into the BACTEC Myco/F Lytic vial either with a syringe or direct draw with a needle and tubing. The vial is placed into the BACTEC 9000MB System and is continuously incubated at 37°C, with agitation once every ten minutes for maximum recovery. Each vial contains a sensor which can detect decreases in oxygen concentration in the vial resulting from microorganism metabolism and growth. The sensor is monitored by the BACTEC 9000MB System every ten minutes. Analysis of the rate of oxygen decrease as measured by increasing fluorescence enables the BACTEC fluorescent series instrument to determine if the vial is instrument positive. A positive determination indicates the presumptive presence of viable microorganisms in the vial. Detection is limited to microorganisms that will grow in the medium at 37°C. The medium is not selective and will support the growth of other aerobic organisms including yeast, fungi and bacteria which may interfere, if present, with the recovery of mycobacteria. Culture vials which remain negative for 42 days and which show no visible sign of positivity are removed from the instrument and sterilized prior to discarding.

REAGENTS

Each BACTEC Myco/F Lytic culture vial contains the following active ingredients prior to processing:

List of Ingredients

Processed Water	40 mL qs
7H9 Middlebrook Broth Base without phosphate salts	0.12% w/v
Brain Heart Infusion	0.5% w/v
Casein Hydrolysate	0.10% w/v
Supplement H	0.10% w/v
Inositol	0.05% w/v
Glycerol	0.10% w/v
Sodium Polyanetholsulfonate	0.025% w/v
Tween 80	0.0025% w/v
Pyridoxal HCl	0.0001% w/v
Ferric Ammonium Citrate	0.006% w/v
Potassium Phosphate	0.024% w/v
Saponin	0.24% w/v
Antifoam	0.01% w/v

This BACTEC media is dispensed with added CO₂ and O₂.

Composition may have been adjusted to meet specific performance requirements.

BACTEC Myco/F Lytic medium requires no supplement addition. Each 40 mL vial of BACTEC Myco/F Lytic is ready for use when received. The appearance of the media upon receipt shall be clear and light amber in color.

WARNINGS

Precautions: *in vitro* diagnostic.

This Product Contains Dry Natural Rubber.

POTENTIAL INFECTIOUS TEST SPECIMEN. Observe "Universal Precautions"^{4,5} and institutional guidelines when handling and disposing of infectious materials.

BACTEC Myco/F Lytic vials will accept more than the recommended maximum of 5 mL of specimen volume, monitoring of fill volume should be conducted.

Biosafety Level 2 practice, containment equipment and facilities are recommended for preparing acid-fast stains and for culturing clinical specimens. For activities involving the propagation and manipulation of *Mycobacterium tuberculosis* or *Mycobacterium bovis* grown in culture, Biosafety Level 3 practice, containment equipment and facilities are recommended.^{5,6,7}

Prior to use, each vial should be examined for evidence of contamination such as cloudiness, bulging or depressed septum, or leakage. **DO NOT USE** any vial showing evidence of contamination, leakage or damage. Vial contamination may not be readily apparent. A contaminated vial could contain positive pressure. If a contaminated vial is used for direct draw, gas or contaminated culture media could be refluxed into the patient's vein. On rare occasions, the glass bottle neck may be cracked and the neck may break during removal of the flip-off cap or in handling. Also, on rare occasions, a vial may not be sealed sufficiently. In both cases the contents of the vials may leak or spill, especially if the vial is inverted.

To minimize the potential of leakage during inoculation by syringe of specimen into culture vials, use syringes with **LUER-LOK™** brand tips. A one-handed inoculation technique and a suitable vial holder should be employed to prevent accidental needle stick injury.

Before discarding, sterilize all inoculated **BACTEC Myco/F Lytic** vials by autoclaving.

Before sampling **positive culture vials for subculturing or staining, etc.:** It is necessary to release gas which often builds up due to microbial metabolism. Sampling must be performed in a biological safety cabinet, and appropriate protective clothing, including gloves and masks, should be worn. See Procedure Section for more information on subculturing.

LEAKING OR BROKEN VIALS

CAUTION: Because an inoculated leaking or broken vial may produce an aerosol of mycobacteria, including *M. tuberculosis* or other bacteria, appropriate handling should be observed.

If an inoculated vial is found to be leaking or is accidentally broken during collection or transport, use the established procedure in your facility for dealing with mycobacterial spills. As a minimum, "Universal Precautions" should be employed. Vials should be discarded in an appropriate manner.

In the rare instance where a vial is found to have leaked contents into the instrument proper, or if a vial is accidentally broken, turn off the instrument immediately. Vacate the affected area. Contact your facility's Safety or Infection Control Officer(s). Determine the necessity of turning off or modifying the settings of the air handling units serving the affected area. Do not return to the area until any potential aerosols have settled or have been removed by appropriate ventilation. Becton Dickinson and Company should be notified by calling 1-800-544-7434 in the USA or the appropriate Becton Dickinson representative in your area. Guidelines for proper handling of accidental mycobacterial contamination due to breakage of culture tubes or broth suspensions have been issued by the CDC.^{5,6,7}

STORAGE INSTRUCTIONS

Store at 2° – 25°C in a dry location out of direct sunlight.

SPECIMEN COLLECTION

NOTE: It is recommended that this procedure be reviewed with appropriate personnel prior to use of medium to insure proper specimen collection techniques as described in this section.

The specimen must be collected using sterile technique to reduce the chance of contamination. The range of blood volume which can be cultured is 1.0 mL to 5.0 mL. It is recommended that the specimen be inoculated at bedside. Most commonly, a syringe with a **LUER-LOK™** brand tip is used to draw the specimen. If appropriate, a **VACUTAINER™** brand Needle Holder and a **VACUTAINER™** brand Blood Collection Set, **VACUTAINER™ SAFETY-LOK™** Blood collection Set or other tubing "butterfly" set may be used. If using a needle and tubing (direct draw), carefully observe the direction of the blood flow when starting sample collection. Prior to inoculation, the medium fill volume should be noted on the label with a pen or marker to indicate the starting point of specimen collection. The vacuum in the bottle will usually exceed 5 mL, so the user should monitor the volume collected by means of the 5 mL graduation marks on the vial label. When the desired 1 – 5 mL of blood has been drawn, the flow should be stopped by crimping the tubing and removing the needle from the **BACTEC** vial. The **BACTEC** vial should be transported as quickly as possible to the laboratory and placed in the **BACTEC** instrument. A yellow-top **VACUTAINER** Brand Tube containing SPS may also be used to collect the blood sample from the patient. The tube should be transported to the laboratory as quickly as possible for transfer into the **BACTEC** culture vial.

PROCEDURE

Materials Provided: **BACTEC Myco/F Lytic Culture Vials.**

Materials Required But Not Provided: Biological Safety Cabinet, Autoclave, venting unit, mycobacterial disinfectant, 70% isopropyl alcohol, Quality Control Organisms (*Mycobacterium intracellulare*, ATCC 13950; *Mycobacterium kansasii*, ATCC 12478; and *Mycobacterium fortuitum*, ATCC 6841), microscope and materials for staining slides and subculturing vials.

CAUTION: **BACTEC Myco/F Lytic vials must be used with instrument software version 3.6 or higher.**

Inoculation of **BACTEC Myco/F Lytic Culture Vials**

1. Remove the flip-off cap from the **BACTEC** vial top and inspect the vial for cracks, leaks, contamination, excessive cloudiness, and bulging or indented septum. **DO NOT USE** if any defect is noted.
2. Label culture vial with specimen identification and mark medium fill graduation line on vial label.
3. Before inoculating, swab the septum with alcohol. Aseptically inject with a syringe or draw directly with the aid of the graduation lines on the vial label 1 – 5 mL of specimen per vial (see the section on Limitations of the Procedure). **Inoculated vials should be placed into the BACTEC 9000MB instrument as soon as possible** for incubation and monitoring.
4. Vials entered into the instruments will be automatically tested for the duration of the testing protocol. Positive vials will be identified by the **BACTEC** Fluorescent System (see the **BACTEC** User's Manual, MA-0092). The sensor inside the vial may not appear visibly different in positive or negative vials; however, the **BACTEC** Fluorescent System can determine a difference in sensor fluorescence.
5. Positive vials should be subcultured and an appropriate smear prepared. All positive vials should be handled using BSL III practices and containment facilities.

Processing an instrument-positive vial

- a) Remove the vial from the instrument and transport to an area using BSL III practices and containment facilities.
- b) Invert vial to mix contents.
- c) In biological safety cabinet, vent the vial to equilibrate vial pressure with atmosphere.
- d) Remove aliquot from vial (approx. 0.1 mL) for stain preparations (AFB and Gram).
- e) Inspect smear and report preliminary results only after smear evaluation.

If at the end of six weeks incubation an instrument negative vial appears to be positive (i.e., bulging septum, or very darkened blood), it should be subcultured, AFB stained and treated as a presumptive positive, providing the stain result is positive.

Subculturing of Vial: Subculturing should be performed in a biological safety cabinet, and appropriate clothing, including gloves and masks, should be worn. Prior to subculturing, place the vial in an upright position, and place an alcohol wipe over the septum. To release any positive pressure in the vial which could be caused by growth of possible contaminants, insert a sterile 25-gauge (or smaller) needle equipped with an appropriate filter or pledget through the alcohol wipe and septum. The needle should be removed after any pressure is released and before sampling the vial for subculture. The insertion and withdrawal of the needle should be done in a straight-line motion, avoiding any side-to-side motions which could permanently damage the septum. **Do not re-cap the needle. Discard needles and syringes in a puncture-resistant biohazard container.**

QUALITY CONTROL

Quality Control Certificates are provided with each carton of media.

It is recommended that each new shipment or lot of **BACTEC Myco/F Lytic** media be tested with the ATCC control organisms identified in the chart below as a positive control, and an uninoculated vial as a negative control.

Organism	Range of Time-to-detection (days)
<i>Mycobacterium intracellulare</i> , ATCC 13950	8 to 16
<i>Mycobacterium kansasii</i> , ATCC 12478	3 to 13
<i>Mycobacterium fortuitum</i> , ATCC 6841	1 to 3

The positive vials should be inoculated using a 1:100 dilution of a McFarland #1 suspension grown on solid medium. Inoculate the vial with 0.1 mL of the diluted culture. The vials and an uninoculated control vial should be scanned into the instrument and tested. The inoculated vial should be detected as positive by the instrument within the test protocol. The negative control should remain negative. If expected results for Quality Control are not obtained, do not use the medium and contact Becton Dickinson Technical Services (in the U.S. only: 1-800-638-8663) or your local Becton Dickinson Representative for further assistance.

For information on quality control for the **BACTEC** System, refer to the User's Manual (MA- 0092).

Reporting of RESULTS

An instrument positive vial may be confirmed by acid-fast smear or Gram stain. A positive result indicates the presumptive presence of viable microorganisms in the vial.

If AFB smear positive, subculture to solid media and report as: instrument-positive, AFB smear positive, ID pending.

If microorganisms other than acid-fast bacilli are present, subculture to solid media and report as: instrument positive, AFB smear negative, ID pending.

If no microorganisms are present on the smears, subculture to solid media, re-enter the vial into the instrument as an ongoing negative vial within 5 hours of removal and allow to complete test protocol. No reportable result.

Perform subcultures from the **BACTEC Myco/F Lytic** vial for identification and susceptibility testing.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Detection of mycobacterial species in blood specimens is dependent on the number of organisms present in the specimen, specimen collection methods, and patient factors such as presence of symptoms and prior treatment.

Mycobacteria may vary in acid-fastness depending on strain, age of culture and other variables.

Care must be taken to prevent contamination of the sample during collection and inoculation into the **BACTEC** vial. A contaminated vial will give a positive instrument reading, but will not indicate a relevant clinical result. Such a determination must be made by the user, based on such factors as, stain results, type of organism recovered, occurrence of the same organism in multiple cultures, patient history, etc.

BACTEC Myco/F Lytic vials are not selective and will support the growth of other aerobic organisms besides mycobacteria. Positive vials may contain one or more species of mycobacteria and/or other non-mycobacterial species. If present, fast growing organisms may mask the detection of slower growing mycobacteria. Subculture and additional procedures are required. The consistency of microscopic morphology in **BACTEC Myco/F Lytic** has not been established.

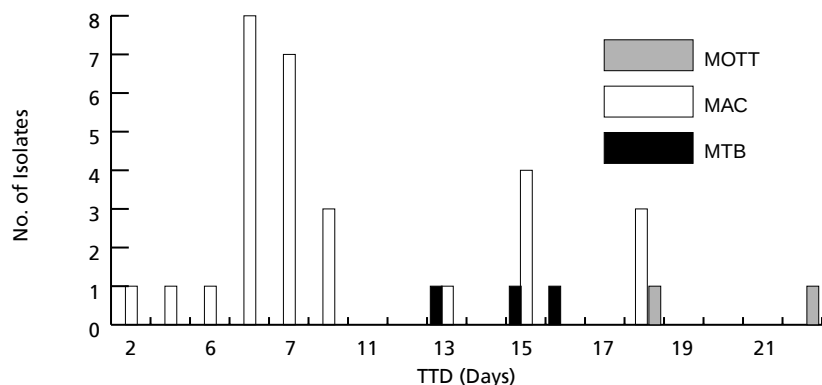
Optimum recovery of isolates will be achieved by adding 1 – 5 mL of blood to each vial. Use of lower or higher volumes may adversely affect recovery, detection times and/or specificity. False positivity most likely will increase when the blood volume is above 5 mL.

Blood may contain antimicrobials or other inhibitors which may slow or prevent the growth of microorganisms.

BACTEC Myco/F Lytic vials are incubated at 37°C potentially precluding the recovery of mycobacteria requiring other incubation temperatures (e.g., *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). Recovery of such organisms requires additional culture methods. The following isolates were detected as positive in the **BACTEC 9000MB** instrument using **BACTEC Myco/F Lytic** medium during internal studies and/or clinical trials: *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. bovis*, *M. terrae*, *M. simiae*, *M. goodii*, *M. celatum*, *M. abscessus*, *M. malmoense*. During internal studies, *M. xenopi* and *M. szulgai* exhibited unsatisfactory recovery with **BACTEC Myco/F Lytic** culture medium.

EXPECTED RESULTS

Frequency distribution of recovery times (TTD) for clinical trial blood specimens positive with the **BACTEC Myco/F Lytic** Culture medium is illustrated in the following figure.



PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The BACTEC Myco/F Lytic culture medium was evaluated with the BACTEC 9000MB instrument at two clinical sites considered large tertiary care teaching hospitals in geographically diverse areas. The site populations included patients suspected of a mycobacterial infection, immunocompromised patients and transplant patients. The BACTEC Myco/F Lytic culture medium was compared to the BACTEC 13A culture medium for the recovery and detection of mycobacteria from blood specimens. A total of 284 compliant blood specimens were tested during the study. The total number of pathogenic mycobacterial isolates recovered in the study was 39 (See TABLE 1). Of these positives, five (13%) were recovered in the BACTEC Myco/F Lytic culture medium only and two (5%) were recovered by BACTEC 13A culture medium only. A total of 28 BACTEC Myco/F Lytic vials were over filled with specimen (between 6 to 20 mL) during the clinical evaluation and were not included in this study since they were above the maximum fill volume (not compliant). Of these 28 BACTEC Myco/F Lytic vials, 16 (57%) were identified as false positive.

Of the 284 blood specimens tested in the clinical study, one BACTEC Myco/F Lytic vial (0.4%) was determined to be false positive (instrument-positive, smear and/or subculture-negative). Of the 38 instrument positive Myco/F Lytic vials, 1 (2.6%) was determined to be false positive. The false negative rate (instrument-negative, smear and/or subculture-positive) was determined to be 0% based on terminal subcultures of $\geq 50\%$ of negative vials. The contamination rate during this evaluation was determined to be 0.9%.

TABLE 1: SUMMARY OF MYCO/F LYTIC CULTURE MEDIUM ISOLATE RECOVERY DURING CLINICAL TRIALS

Organism	Total Isolates	Myco/F Lytic Medium Only	13A Medium Only	Both
All Pathogenic Mycobacteria:				
<i>Mycobacterium avium</i>	30	3	1	26
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6	0	0	6
<i>Mycobacterium kansasii</i>	3	2	1	0
Total	39	5	2	32

REFERENCES

- Horsburg Jr., C.R. 1991. *Mycobacterium Avium* Complex Infection in the acquired immunodeficiency syndrome. New England Journal of Medicine 324:1332-1338.
- Tenover, F.C., et al, 1993. The resurgence of Tuberculosis: Is Your Laboratory Ready? Journal of Clinical Microbiology 31:767-770
- Isolation and Identification of *Mycobacterium tuberculosis*: A Guide for the Level II Laboratory. U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA, 1981.
- Kent, P.T., and G.P. Kubica. 1985. Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA.
- Recommendations for preventing transmission of Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis B Virus to patients during exposure-prone invasive procedures. MMWR 1991, Vol. 40, No. RR-8.
- Bloodborne pathogens. Code of Federal Regulations, Title 29, Part 1910.1030, Federal Register 1991, 56:64175-64182.
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service/ Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, May, 1993.



BD Flacons de culture BACTEC Myco/F Lytic

Bouillon Middlebrook 7H9 enrichi et bouillon coeur-cerveille

Pour utilisation avec BACTEC 9000MB

Français

APPELLATION

Les flacons de culture du type BACTEC Myco/F Lytic (bouillon Middlebrook 7H9 modifié) supportent la croissance et la détection des mycobactéries.

APPLICATION

Le milieu de culture BACTEC Myco/F Lytic lorsqu'il est utilisé avec l'appareil BACTEC 9000MB constitue un milieu de culture non sélectif pour la culture et la mise en évidence qualitative des mycobactéries à partir d'échantillons sanguins.

DESCRIPTION SOMMAIRE DU TEST

Depuis le milieu des années 1980 et depuis la propagation de l'épidémie du SIDA, la fréquence des cas de septicémie causée par des mycobactéries opportunistes a augmenté. On assiste à une recrudescence de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) ainsi que d'autres mycobactéries non tuberculeuses (MOTT), en particulier le complexe *Mycobacterium avium* (MAC). De 1985 à 1992, le nombre de cas de tuberculose confirmés a augmenté de 18 %. Entre 1981 et 1987, le suivi des cas de SIDA révélait que 5,5 % des malades du SIDA avaient contracté des infections mycobactériennes non tuberculeuses comme MAC. Dès 1990 l'augmentation des cas d'infections mycobactériennes non tuberculeuses se traduisait par une incidence cumulée de 7,6 %.

Les U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ont recommandé que tous les efforts soient faits pour que les laboratoires utilisent les méthodes les plus rapides actuellement disponibles pour établir un diagnostic des mycobactéries. Ces recommandations mentionnent l'utilisation d'un milieu liquide pour la culture des mycobactéries.^{1,2,3}

Le système BACTEC 9000MB a été conçu de façon à assurer une détection rapide des mycobactéries dans des échantillons cliniques. Le milieu de culture BACTEC Myco/F Lytic correspond à une combinaison bouillon Middlebrook 7H9 et bouillon coeur-cerveille pour la mise en évidence des mycobactéries à partir d'échantillons sanguins. Des modifications spécifiques ont été effectuées afin d'améliorer la croissance et la mise en évidence des mycobactéries. Ces modifications comprennent l'addition de citrate d'ammonium ferrique comme source de fer pour des mycobactéries particulières, l'addition de saponine comme agent de lyse sanguine et l'addition de certaines protéines et de certains sucres à titre de suppléments nutritionnels. Chaque flacon contient un senseur qui peut détecter une réduction de la concentration en oxygène dans le flacon résultant de l'activité métabolique des microorganismes et de leur croissance. Le senseur est lu par l'appareil BACTEC 9000MB en vue de détecter une augmentation de la fluorescence laquelle est proportionnelle à la diminution de la teneur en oxygène. Une lecture positive indique la présence possible de microorganismes viables dans le flacon.

PRINCIPES DE LA METHODE

Le flacon de culture BACTEC Myco/F Lytic a été conçu de façon à assurer une détection rapide des mycobactéries dans le sang. Les échantillons de sang sont inoculés dans le flacon BACTEC Myco/F Lytic ou au moyen d'une seringue ou directement avec une aiguille et un tube. Le flacon est placé dans le système BACTEC 9000MB et est incubé en continu à 37 °C et agité toutes les 10 minutes pour maximiser la mise en évidence. Chaque flacon contient un senseur qui peut détecter une réduction de la concentration en oxygène dans le flacon résultant de l'activité métabolique des microorganismes et de leur croissance. Le senseur est lu par le système BACTEC 9000MB toutes les dix minutes. L'analyse du taux de réduction de l'oxygène, tel qu'il a été mesuré par l'augmentation de la fluorescence, permet à l'appareil BACTEC de la série à fluorescence de déterminer si le flacon est selon lui positif. Une lecture positive indique la présence possible de microorganismes viables dans le flacon. La détection se limite aux microorganismes pouvant se développer dans le

milieu à 37 °C. Le milieu n'est pas sélectif et permet la croissance d'autres organismes aérobies y compris les levures, les champignons et les bactéries lesquels peuvent, s'ils sont présents, affecter la mise en évidence des mycobactéries. Les flacons de culture qui restent négatifs pendant 42 jours et qui ne présentent aucun signe visible de positivité sont retirés de l'appareil et stérilisés avant d'être jetés.

REACTIFS

Avant analyse, chaque flacon de culture **BACTEC** Myco/F Lytic contient les réactifs suivants :
(Les pourcentages correspondent au poids rapporté au volume)

Liste des composants

Eau traitée	40 mL q.s.
Bouillon Middlebrook 7H9 (sans sel de phosphate)	0,12 %
Bouillon coeur-cervelle	0,5 %
Hydrolysate de caséine	0,10 %
Supplément H	0,10 %
Inositol	0,05 %
Glycérol	0,10 %
Polyanétholsulfonate de sodium	0,025 %
Tween 80	0,0025 %
Pyridoxal HCl	0,0001 %
Citrate d'ammonium ferrique	0,006 %
Phosphate de potassium	0,024 %
Saponine	0,24 %
Agent anti-mousse	0,01 %

Ce milieu **BACTEC** est fourni enrichi en CO₂ et O₂.

Il est possible que la composition ait été modifiée pour s'adapter aux besoins particuliers du laboratoire.

Le milieu **BACTEC** Myco/F Lytic ne requiert aucune addition de supplément. Chaque flacon de 40 mL de milieu **BACTEC** Myco/F Lytic est livré prêt à l'emploi. Le milieu à la réception doit apparaître clair et être d'une couleur légèrement ambrée.

AVERTISSEMENTS

Précautions: diagnostic *in vitro*.

Ce produit contient du caoutchouc naturel séché.

ECHANTILLONS POTENTIELLEMENT INFECTIEUX. Observer toutes les "Précautions Universelles"^{4,5} et les directives de votre institution lors de la manipulation et l'élimination des matériaux infectieux.

Les flacons **BACTEC** Myco/F Lytic peuvent accepter plus que les 5 mL de volume maximum recommandés pour l'échantillon, par conséquent il faut surveiller le volume de remplissage.

On recommande l'utilisation des pratiques de sécurité biologique de niveau 2, et des équipements et des installations de contention pour préparer les colorations acido-résistantes et pour la culture des échantillons cliniques. Pour les activités comprenant la manipulation et la propagation de cultures de *Mycobacterium tuberculosis* ou de *Mycobacterium bovis*, les pratiques de sécurité biologique de niveau 3 ainsi que des équipements et des installations de contention sont nécessaires.^{5,6,7}

Avant utilisation, il convient d'examiner les flacons pour vérifier l'absence de contamination, de turbidité, de septum protubérant ou en dépression ou de fuite. **NE PAS UTILISER** un flacon présentant des signes de contamination, de fuite ou de détérioration. La contamination du flacon peut ne pas apparaître clairement. Les flacons devenus contaminés peuvent être sous pression. Si un flacon contaminé est utilisé pour le prélèvement direct, le gaz ou les milieux contaminés peuvent refluer dans la veine du patient. Occasionnellement, le goulot du flacon de verre peut être fêlé et il peut se rompre quand la capsule de protection est enlevée ou pendant les manipulations. De plus, un flacon peut de temps à autre ne pas avoir été convenablement bouché. Dans les deux cas, le contenu du flacon risque de fuir ou de se répandre, en particulier si le flacon est retourné.

Afin de minimiser les risques de fuite pendant l'inoculation de l'échantillon dans les flacons de culture avec une seringue, utiliser une seringue munie d'un embout **LUER-LOK**. Une technique d'inoculation utilisant une seule main et un support à flacons adéquat devrait être employée afin de réduire les risques de piqûre accidentelle.

Avant de les jeter, stériliser à l'autoclave tous les flacons **BACTEC** Myco/F Lytic inoculés.

Avant d'effectuer un prélèvement sur les flacons de culture positifs pour les repiquages ou les colorations, etc. : il est nécessaire de relâcher les gaz qui se sont accumulés du fait du métabolisme microbien. Les prélèvements doivent être effectués dans une hotte biologique de sécurité biologique et il convient de porter des vêtements protecteurs appropriés y compris masque et gants. Voir la rubrique Méthode pour les détails de la méthode de repiquage.

FLACONS BRISES OU AYANT UNE FUITE

ATTENTION : Parce qu'un flacon inoculé cassé ou présentant une fuite peut produire un aérosol de mycobactéries contenant *M. tuberculosis* ou d'autres bactéries, il est nécessaire d'appliquer les règles de manipulation en vigueur.

Si un flacon inoculé est reconnu présenter une fuite ou est accidentellement brisé pendant le prélèvement ou le transport, suivre les protocoles en vigueur dans votre laboratoire pour traiter tout liquide répandu contenant des mycobactéries. Au minimum, les « Précautions Universelles » doivent être observées. Les flacons doivent être jetés de la manière appropriée.

Dans les cas rares où on s'aperçoit que le flacon a fuit et répandu son contenu dans l'instrument lui-même, ou si un flacon est accidentellement brisé, éteindre l'appareil immédiatement. Quitter les lieux. Contacter le responsable de la sécurité ou du contrôle des infections de votre établissement. Décider s'il y a lieu ou non d'arrêter ou de modifier le fonctionnement des unités de ventilation desservant les lieux affectés. Ne pas retourner sur les lieux avant que tout aérosol potentiel ne se soit déposé ou n'ait été éliminé suite à une ventilation appropriée. Il faut informer la société Becton Dickinson and Company en téléphonant à votre représentant local de Becton Dickinson. Des directives pour le traitement adéquat d'une contamination accidentelle avec des mycobactéries suite au bris d'un tube de culture ou de bouillon ont été émises par les CDC.^{5,6,7}

CONSEILS DE STOCKAGE

Conserver à 2 – 25 °C dans un endroit sec et à l'abri de la lumière solaire directe.

PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

NOTA : il est conseillé de répéter cette procédure avec le personnel compétent avant de l'utiliser sur le milieu afin d'assurer que les techniques de prélèvement des échantillons appropriées décrites dans cette section sont correctement appliquées.

Les échantillons doivent être prélevés de façon aseptique afin de réduire les risques de contamination. Le volume de sang convenant à une hémoculture varie de 1,0 mL à 5,0 mL. Il est conseillé d'inoculer l'échantillon au chevet du malade. Le plus souvent, une seringue munie d'un embout **LUER-LOK** est utilisée pour prélever l'échantillon. Si approprié, un ensemble porte-aiguille **VACUTAINER** et une trousse de prélèvement sanguin **VACUTAINER**, une trousse de prélèvement sanguin **VACUTAINER SAFETY-LOK** ou une autre tubulure du type "butterfly" peuvent être utilisés. Si on utilise une aiguille et une tubulure (prélèvement direct), il faut observer soigneusement la direction de l'écoulement du sang au début du prélèvement. Avant l'inoculation le volume occupé par le milieu doit être noté sur l'étiquette avec un stylo ou un marqueur afin d'indiquer le point de départ du prélèvement de l'échantillon. L'espace vide dans le flacon dépasse généralement 5 mL, si bien que l'utilisateur doit vérifier le volume recueilli au moyen des graduations à 5 mL présentes sur l'étiquette du flacon. Après le prélèvement des 1 à 5 mL de sang requis, il faut arrêter l'écoulement en pinçant le tube et en retirant l'aiguille du flacon.

BACTEC. Le flacon **BACTEC** doit être amené au laboratoire le plus rapidement possible et placé dans l'appareil **BACTEC**. Un tube **VACUTAINER** à capuchon jaune contenant SPS peut aussi servir à prélever le sang du patient. Le tube doit être amené au laboratoire le plus rapidement possible pour être transféré dans le flacon de culture **BACTEC**.

METHODE

Matériel fourni : Flacons de culture **BACTEC Myco/F Lytic**.

Matériels requis mais non fournis : hotte de sécurité biologique, autoclave, unité de ventilation, désinfectant mycobactéricide, alcool isopropylique à 70 %, organismes de contrôle de la qualité (*Mycobacterium intracellulare*, ATCC 13950 ; *Mycobacterium kansasii*, ATCC 12478 ; et *Mycobacterium fortuitum*, ATCC 6841), un microscope et les matériels nécessaires pour la coloration des lames et le repiquage des flacons.

ATTENTION : Les flacons **BACTEC Myco/F Lytic** doivent être utilisés avec la version 3.6 ou plus du logiciel.

Inoculation des flacons de culture **BACTEC Myco/F Lytic**

- Retirer la capsule de protection du flacon **BACTEC** et vérifier l'absence de fissure, de fuite, de contamination, de turbidité excessive, de septum protubérant ou en dépression. NE PAS UTILISER si un défaut quelconque est observé.
- Etiqueter le flacon de culture avec le numéro d'identification de l'échantillon et marquer la ligne graduée de remplissage du milieu sur l'étiquette du flacon.
- Avant l'injection, tamponner le septum avec de l'alcool. De façon aseptique, injecter 1 – 5 mL d'échantillon par flacon au moyen de la seringue ou les prélever directement en se servant des lignes graduées sur l'étiquette du flacon (voir Limites de la Méthode). **Les flacons inoculés doivent être placés dans l'appareil BACTEC 9000MB aussitôt que possible** pour l'incubation et la lecture.
- Les flacons introduits dans l'appareil seront automatiquement analysés sur toute la durée du protocole d'analyse. Les flacons positifs seront identifiés par le système à fluorescence **BACTEC** (voir le manuel d'utilisation **BACTEC**, MA-0092). Le senseur à l'intérieur du flacon peut ne pas présenter un aspect visiblement différent dans un flacon négatif par rapport à un flacon positif, mais le système à fluorescence **BACTEC** peut lui détecter une différence dans la fluorescence du senseur.
- Il est nécessaire de repiquer toute culture positive et de préparer un frottis pour la coloration de Gram/acido-résistante. Tous les flacons positifs doivent être manipulés conformément aux pratiques de sécurité biologique de niveau III et dans des installations de contention.
Analyser un flacon positif selon l'appareil
 - Retirer le flacon de l'appareil et l'amener à l'endroit approprié en observant les pratiques de sécurité biologique de niveau III et en utilisant des récipients de contention.
 - Inverser le flacon pour mélanger le contenu.
 - Dans la hotte de sécurité biologique, aérer le flacon pour le remettre à la pression atmosphérique.
 - Prélever une fraction aliquote (environ 0,1 mL) pour les colorations (AFB et Gram).
 - Inspecter le frottis et noter les résultats préliminaires seulement après avoir évalué le frottis.

Si au bout de six semaines un flacon considéré négatif par l'appareil présente un aspect visuel positif (par exemple septum protubérant ou sang chocolat), il doit être repiqué et soumis à la coloration acido-résistante puis traité comme un flacon présumé positif si la coloration donne un résultat positif.

Repiquage d'un flacon : les repiquages doivent être effectués à l'intérieur d'une hotte de sécurité biologique et il convient de porter des vêtements appropriés, dont des gants et un masque. Avant le repiquage, poser le flacon debout et placer un coton imbibé d'alcool sur le septum. Pour relâcher toute pression à l'intérieur du flacon qui pourrait résulter de la croissance de contaminants, insérer une aiguille stérile de calibre 25 (ou plus petit), munie d'un filtre adéquat, à travers le coton imbibé d'alcool et le septum. L'aiguille doit être retirée après relâchement de la pression et avant de prélever pour faire un repiquage. L'insertion et le retrait de l'aiguille doivent être faits suivant un mouvement rectiligne en évitant tout mouvement latéral qui pourrait endommager le septum de façon permanente. **Ne pas recapuchonner l'aiguille. Jeter les aiguilles et les seringues dans un récipient résistant aux perforations et pour matériel présentant un risque biologique.**

CONTROLE DE QUALITE

Des Certificats de Contrôle de Qualité sont fournis dans chaque carton de milieux.

Il est recommandé de tester chaque nouvelle livraison ou lot de milieu **BACTEC Myco/F Lytic** en utilisant les organismes de contrôle ATCC donnés dans le tableau ci-dessous comme contrôle positif et un flacon non inoculé comme contrôle négatif.

Organisme	Temps nécessaire pour la détection (jours)
<i>Mycobacterium intracellulare</i> , ATCC 13950	8 à 16
<i>Mycobacterium kansasii</i> , ATCC 12478	3 à 13
<i>Mycobacterium fortuitum</i> , ATCC 6841	1 à 3

Il convient d'inoculer le flacon positif avec une dilution au 1:100 d'une suspension McFarland N° 1 cultivée sur un milieu solide. Inoculer le flacon avec 0,1 mL de la culture diluée. Ce flacon et un flacon non inoculé doivent être scannés par l'appareil et analysés. Le flacon inoculé doit être reconnu positif par l'appareil dans le délai du protocole d'analyse. Le flacon de contrôle négatif doit rester négatif. Si les résultats escomptés pour le contrôle de qualité ne sont pas obtenus, ne pas utiliser le milieu et contacter votre représentant local Becton Dickinson pour une assistance supplémentaire.

Pour toute information relative au contrôle de qualité pour le système **BACTEC**, se reporter au manuel d'utilisation (MA-0092).

RAPPORTER LES RESULTATS

Le statut positif établi par l'appareil peut être confirmé par un frottis pour bactéries acido-résistantes ou une coloration de Gram. Un résultat positif indique la présence possible de microorganismes viables dans le flacon.

Si un frottis pour coloration acido-résistante est positif, repiquer sur milieu solide et noter pour résultat : positif selon l'appareil, frottis de la coloration acido-résistante positif, identification en cours.

Si des microorganismes autres que les bacilles acido-résistants sont présents, repiquer sur un milieu solide et noter pour résultat : positif selon l'appareil, frottis de coloration acido-résistante négatif, identification en cours.

Si aucun organisme n'est présent sur les frottis, repiquer sur milieu solide et remettre le flacon dans l'appareil en tant que flacon négatif dans les cinq heures qui suivent sa sortie de l'appareil et lui laisser terminer l'analyse. Aucun résultat ne peut être noté.

Effectuer des repiquages à partir du flacon **BACTEC Myco/F Lytic** pour les tests d'identification et de sensibilité.

LIMITES DE LA METHODE

La détection des espèces de mycobactéries dans des échantillons sanguins dépend du nombre d'organismes présents dans l'échantillon, de la méthode de prélèvement de l'échantillon, de facteurs propres au patient tels que la présence de symptômes et les traitements antérieurs.

Les mycobactéries peuvent donner des résultats variables pour la coloration acido-résistante suivant la souche, l'âge de la culture et diverses autres variables.

Il convient de veiller à ne pas contaminer l'échantillon au cours du prélèvement et de l'inoculation dans le flacon **BACTEC**. Un flacon contaminé donnera un résultat positif selon l'appareil mais ne correspondra pas un résultat clinique significatif. Une telle détermination peut être réalisée par l'utilisateur en fonction de facteurs tels que les résultats de la coloration, le type de microorganisme recueilli, la présence du même microorganisme dans plusieurs cultures, les antécédents du malade, etc.

Les flacons **BACTEC Myco/F Lytic** ne sont pas sélectifs et permettent la croissance d'autres organismes aérobies en plus des mycobactéries. Les flacons positifs peuvent contenir une ou plusieurs espèces de mycobactéries et/ou d'espèces n'appartenant pas aux mycobactéries. Si des microorganismes à croissance rapide sont présents, ils peuvent masquer les mycobactéries à croissance plus lente et empêcher leur détection. Des repiquages et des procédures supplémentaires sont nécessaires. La constance de l'aspect morphologique microscopique dans **BACTEC Myco/F Lytic** n'a pas été établie.

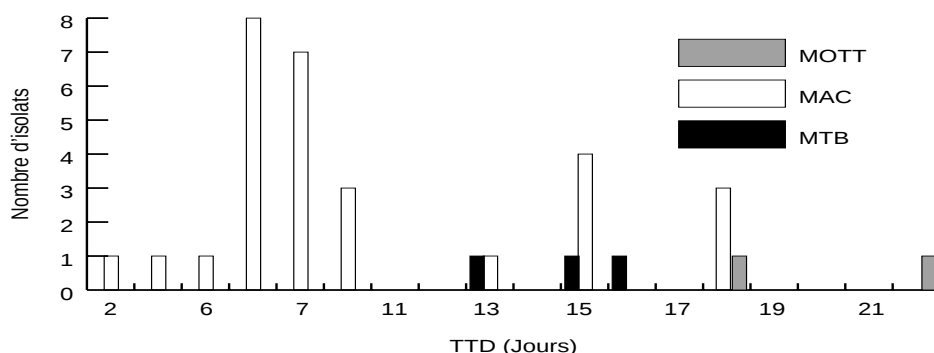
Une mise en évidence optimale des isolats sera accomplie en ajoutant 1 – 5 mL de sang dans chaque flacon. L'utilisation de volumes inférieurs ou supérieurs peut avoir une influence défavorable sur la mise en évidence, les temps de détection et/ou la spécificité. De faux positifs ont plus de chance d'être obtenus lorsque le volume de sang est supérieur à 5 mL.

Le sang peut contenir des agents antimicrobiens ou d'autres inhibiteurs qui peuvent ralentir ou empêcher la croissance des microorganismes.

Les flacons **BACTEC Myco/F Lytic** sont incubés à 37 °C ce qui exclut potentiellement la mise en évidence de mycobactéries nécessitant des températures d'incubation différentes (soit *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). La mise en évidence de ces organismes demande des méthodes de culture supplémentaires. Les isolats suivants ont été reconnus comme positifs par l'appareil **BACTEC 9000MB** sur milieu **BACTEC Myco/F Lytic** lors d'études internes et/ou d'essais cliniques : *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. bovis*, *M. terrae*, *M. simiae*, *M. gordonae*, *M. celatum*, *M. abscessus*, *M. malmoense*. Lors d'études internes, le taux de mise en évidence de *M. xenopi* et *M. szulgai* n'était pas satisfaisant sur le milieu de culture **BACTEC Myco/F Lytic**.

RESULTATS ESCOMPTEES

La distribution de la fréquence des temps de mise en évidence (TTD) pour les échantillons de sang positifs lors d'essais cliniques avec le milieu de culture **BACTEC Myco/F Lytic** est représentée graphiquement dans la figure suivante.



CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Le milieu de culture **BACTEC Myco/F Lytic** a été évalué avec l'appareil **BACTEC 9000MB** sur deux sites cliniques considérés comme deux grands hôpitaux d'enseignement de soins tertiaires dans des régions géographiques différentes. Les populations sur chaque site comprenaient des patients présumés atteints d'une infection mycobactérienne, des patients dont le système immunitaire était compromis et des patients ayant reçu une greffe. Le milieu de culture **BACTEC Myco/F Lytic** a été comparé au milieu de culture **BACTEC 13A** pour la mise en évidence et l'identification de mycobactéries à partir des échantillons sanguins. Un total de 284 échantillons sanguins conformes ont été analysés pendant cette étude. Le nombre total d'isolats de mycobactéries pathogènes mis en évidence dans cette étude était de 39 (voir TABLEAU 1). De ceux-ci, cinq (13 %) ont été isolés seulement sur le milieu de culture **BACTEC Myco/F Lytic** tandis que deux (5 %) n'ont été mis en évidence que sur le milieu de culture **BACTEC 13A**. Un total de 28 flacons **BACTEC Myco/F Lytic** contenaient un volume excessif d'échantillon (entre 6 et 20 mL) pendant l'étude clinique et ils n'ont pas été inclus dans cette étude puisqu'ils présentaient un volume supérieur au volume maximum de remplissage (et n'étaient donc pas conformes). De ces 28 flacons **BACTEC Myco/F Lytic**, 16 (57 %) ont été identifiés comme des faux positifs.

Des 284 échantillons sanguins analysés pendant l'étude clinique, un seul (0,4 %) a été déterminé comme étant un faux positif sur milieu **BACTEC Myco/F Lytic** (positif selon l'appareil, frottis et/ou repiquage négatifs). Des 38 flacons **BACTEC Myco/F Lytic** jugés positifs par l'appareil, 1 (2,6 %) s'est révélé être un faux positif. Le taux de faux négatifs (négatifs selon l'appareil, frottis et/ou repiquage positifs) a été estimé à 0 % sur la base des repiquages finaux de ≥ 50 % des flacons négatifs. Le taux de contamination pendant cette étude a été estimé à 0,9 %.

Tableau 1 : RESUME DE LA MISE EN EVIDENCE DES ISOLATS SUR MILIEU DE CULTURE MYCO/F LYTIC LORS D'ESSAIS CLINIQUES

Organisme	Isolats totaux	Sur milieu Myco/F Lytic seulement	Sur milieu 13A seulement	Sur les deux milieux
Toutes les mycobactéries pathogènes :				
<i>Mycobacterium avium</i>	30	3	1	26
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6	0	0	6
<i>Mycobacterium kansasii</i>	3	2	1	0
Total	39	5	2	32

REFERENCES: voir «References» à la page 4.



BACTEC Myco/F Lytic-Kulturfläschchen Angereicherte Middlebrook 7H9- und Hirn-Herz-Infus-Bouillon

zur Verwendung mit dem BACTEC 9000MB-Gerät

Deutsch

BEZEICHNUNG

BACTEC Myco/F Lytic-Kulturfläschchen (modifizierte Middlebrook 7H9-Bouillon) fördern das Wachstum und den Nachweis von Mykobakterien.

VERWENDUNGSZWECK

BACTEC Myco/F Lytic ist ein nicht-selektives Kulturmedium, das in Verbindung mit dem **BACTEC 9000MB-Gerät** zur qualitativen Kultivierung und Isolierung von Mykobakterien aus Blutproben verwendet wird.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Seit Mitte der achtziger Jahre und der Ausbreitung der AIDS-Epidemie ist das Auftreten von Septikämie aufgrund von opportunistischen Mykobakterien angestiegen. Es ist zu einem Wiederanstieg des Bakteriums *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) und der nichttuberkulösen Mykobakterien (MOTT), insbesondere des *Mycobacterium avium*-Komplexes (MAC), gekommen. Zwischen 1985 und 1992 stieg die Zahl der gemeldeten MTB-Fälle um 18 %. Die zwischen 1981 und 1987 durchgeführten Untersuchungen von AIDS-Fällen zeigten, daß 5,5 % der Patienten mit AIDS disseminierte, nichttuberkulöse mykobakterielle Infektionen aufwiesen, wie z.B. MAC. Im Jahre 1990 war das kumulative Vorkommen durch die gestiegene Zahl der Fälle disseminierter nicht-tuberkulöser Infektionen mit Mykobakterien bereits auf 7,6 % angestiegen.

Die U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) empfehlen, daß Labors alle Anstrengungen unternehmen, um die schnellsten verfügbaren Methoden zum diagnostischen Testen auf Mykobakterien einzusetzen. Diese Empfehlungen umfassen die Verwendung eines flüssigen Mediums zur Kultivierung der Mykobakterien.^{1,2,3}

Das **BACTEC 9000MB-System** dient zum schnellen Nachweis von Mykobakterien in klinischen Proben. **BACTEC Myco/F Lytic** ist ein Kulturmedium aus Middlebrook 7H9- und Hirn-Herz-Infus-Bouillon zur Isolierung von Mykobakterien aus Blutproben. Zur Verbesserung des Wachstums und der Isolierung von Mykobakterien wurde das Kulturmedium mit verschiedenen Zusätzen modifiziert. Diese Zusätze umfassen Ammoniumeisen(III)-citrat als Eisenquelle für spezifische Stämme von Mykobakterien, Saponin als Blutlysiemittel sowie spezifische Proteine und Zucker als Nährstoffe. Jedes Fläschchen enthält einen Sensor, der die durch Metabolismus und Wachstum von Mikroorganismen hervorgerufene Abnahme der Sauerstoffkonzentration im Fläschchen nachweist. Das **BACTEC 9000MB-Gerät** überprüft den Sensor auf eine Zunahme der Fluoreszenz, die in einem proportionalen Verhältnis zur Sauerstoffabnahme steht. Eine positive Messung deutet auf das vermutliche Vorhandensein lebensfähiger Mikroorganismen im betreffenden Fläschchen hin.

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Das **Myco/F Lytic-Kulturfläschchen** dient zum schnellen Nachweis von Mykobakterien in Blut. Blutproben werden entweder mit Hilfe einer Spritze oder durch Direktentnahme mit einem Kanülen-Schlauchset in das **BACTEC Myco/F Lytic-Fläschchen** inokuliert. Das Fläschchen wird in das **BACTEC 9000MB-System** gestellt, bei 37 °C kontinuierlich inkubiert und zur Verbesserung der Ausbeute dabei alle zehn Minuten geschüttelt. Jedes Fläschchen enthält einen Sensor, der die durch Metabolismus und Wachstum von Mikroorganismen hervorgerufene Abnahme der Sauerstoffkonzentration im Fläschchen nachweist. Der Sensor wird vom **BACTEC 9000MB-System** alle zehn Minuten abgelesen. Mit der Analyse der Sauerstoffabnahme, die durch zunehmende Fluoreszenz gemessen wird, kann das **BACTEC-Gerät** der Fluoreszenz-Serie feststellen, ob das Fläschchen Geräte-positiv ist. Eine positive Messung deutet auf das vermutliche Vorhandensein lebensfähiger Mikroorganismen im betreffenden Fläschchen hin. Der Test ist auf Mikroorganismen beschränkt, die in diesem Medium bei 37 °C zum Wachstum fähig sind. Das Medium ist nicht selektiv und unterstützt das Wachstum anderer aerober Organismen, wie z.B. Hefen, Pilzen und Bakterien, die bei Vorhandensein die Isolierung von Mykobakterien beeinträchtigen können. Kulturfläschchen, die nach 42 Tagen negativ bleiben und die keine sichtbare Zeichen von Positivität aufweisen, werden von dem Gerät entfernt und vor dem Verwerfen sterilisiert.

REAGENZIEN

Jedes **BACTEC Myco/F Lytic-Kulturfläschchen** enthält vor der Verarbeitung die folgenden aktiven Bestandteile:

Liste der Bestandteile

% w/v = Gewichtsprozent (weight per volume)

Demineralisiertes Wasser	40 mL q.s.
7H9 Middlebrook Bouillonbasis ohne Phosphatsalze	0,12 % w/v
Hirn-Herz-Infus	0,5 % w/v
Casein-Hydrolysat	0,10 % w/v
Supplement H	0,10 % w/v
Inosit	0,05 % w/v
Glycerol	0,10 % w/v
Natriumpolyanetholsulfonat	0,025 % w/v
Tween 80	0,0025 % w/v
Pyridoxal-HCl	0,0001 % w/v
Ammoniumeisen(III)-citrat	0,006 % w/v
Kaliumphosphat	0,024 % w/v
Saponin	0,24 % w/v
Anti-Schaummittel	0,01 % w/v

Dieses **BACTEC-Medium** ist mit CO₂- und O₂-Zusatz abgefüllt.

Die Zusammensetzung kann gemäß speziellen Leistungsanforderungen abgeändert worden sein.

BACTEC Myco/F Lytic-Medium erfordert kein Supplement. Jedes 40-mL-Fläschchen **BACTEC Myco/F Lytic** ist im Lieferzustand gebrauchsfertig. Das Medium sollte beim Erhalt klar und bernsteinfarben sein.

WARNUNG

Sicherheitshinweise: zur *in-vitro* Diagnostik.

Dieses Produkt enthält trockenen Naturkautschuk.

POTENTIELL INFEKTIÖSE TESTPROBE. Infektiöses Probenmaterial sollte unter Einhaltung "Allgemeiner Vorsichtsmaßnahmen"^{4,5} und der jeweils bestehenden Laborvorschriften gehandhabt und entsorgt werden.

Da die **BACTEC Myco/F Lytic-Fläschchen** mehr als das empfohlene maximale Probenvolumen von 5 mL aufnehmen können, sollte das Füllvolumen genau überwacht werden.

Die Anfertigung von säurefesten Färbungen und die Kultivierung klinischer Proben sollten nach den Richtlinien und unter Anwendung der physikalischen Sicherheitsvorkehrungen der Biologischen Sicherheitsstufe 2 durchgeführt werden. Verfahren, die die Fortpflanzung und Handhabung von in Kultur

gezüchtetem *Mycobacterium tuberculosis* oder *Mycobacterium bovis* einschließen, müssen nach den Richtlinien und unter Anwendung der physikalischen Sicherheitsvorkehrungen der Biologischen Sicherheitsstufe 3 durchgeführt werden.^{5,6,7}

Vor Gebrauch muß jedes Fläschchen auf Anzeichen von Kontamination, wie z.B. Trübung, Wölbung oder Einbeulung des Septums, oder undichte Stellen, untersucht werden. Fläschchen, die Anzeichen von Kontamination, undichten Stellen oder Schäden aufweisen, **NICHT VERWENDEN**. Die Kontamination eines Fläschchens ist nicht in allen Fällen sichtbar. Kontaminierte Fläschchen können Überdruck erzeugen. Wird zur Direktentnahme ein kontaminiertes Fläschchen verwendet, kann Gas oder kontaminiertes Kulturmedium in die Vene des Patienten zurückfließen. In seltenen Fällen kann der gläserne Fläschchenhals einen Sprung haben und beim Entfernen des Abrißdeckels oder während der Handhabung des Fläschchens brechen. Auch kann es in seltenen Fällen vorkommen, daß ein Fläschchen nicht richtig verschlossen ist. In beiden Fällen ist es möglich, daß der Fläschcheninhalt ausläuft oder verschüttet wird, besonders wenn das Fläschchen umgedreht wird.

Um potentielle Sickerverluste bei der Inokulation von Proben in die Kulturfläschchen mit Hilfe von Spritzen so weit wie möglich auszuschließen, sollten Spritzen mit **LUER-LOK**-Kegel verwendet werden. Bei der Inokulation sollte mit einer Hand gearbeitet und ein geeigneter Fläschchenhalter verwendet werden, um eine versehentliche Nadelstichverletzung zu vermeiden.

Vor der Entsorgung müssen alle inokulierten **BACTEC Myco/F Lytic**-Fläschchen im Autoklaven sterilisiert werden.

Positive Kulturfläschchen zur Anlage von Subkulturen oder für Färbungen usw.: Vor der Probenentnahme muß Gas abgelassen werden, das sich häufig als Folge mikrobiellen Stoffwechsels ansammelt. Die Probenentnahme sollte in einer biologischen Sicherheitswerkbank durchgeführt werden, und Schutzkleidung, einschließlich Handschuhen und Gesichtsmaske, sollte getragen werden. Nähere Einzelheiten zur Subkultivierung sind dem Abschnitt "Verfahren" zu entnehmen.

UNDICHTE ODER ZERBROCHENE FLÄSCHCHEN

ACHTUNG: Die Fläschchen müssen vorsichtig gehandhabt werden, da undichte oder zerbrochene inokulierte Fläschchen ein Aerosol mit Mykobakterien, einschließlich *M. tuberculosis* und anderer Bakterien, freisetzen können.

Wenn ein inokuliertes Fläschchen während der Entnahme oder des Transports ausläuft oder versehentlich zerbrochen wird, die in Ihrem Labor geltenden Verfahrensrichtlinien für den Umgang mit verschüttetem mykobakteriellen Material anwenden. Es sollten jedoch zumindest die allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen beachtet werden. Fläschchen müssen ordnungsgemäß entsorgt werden.

Sollte der seltene Fall eintreten, daß der Inhalt eines Fläschchens in das Gerät selbst ausgelaufen ist oder ein Fläschchen im Gerät zerbrochen wird, das Gerät sofort ausschalten. Den betroffenen Bereich evakuieren. Verständigen Sie den (die) für ihr Labor zuständigen Sicherheits- oder Infektionskontrollbeauftragte(n). Entscheiden Sie, ob es notwendig ist, die Einstellung der raumlufttechnischen Anlage, die diesen Bereich mit Luft versorgt, zu verändern oder diese abzuschalten. Den Bereich erst wieder betreten, wenn sich potentielle Aerosole abgesetzt haben oder durch angemessene Entlüftung entfernt wurden. Der zuständige Vertreter von Becton Dickinson and Company sollte verständigt werden. Richtlinien zur ordnungsgemäßen Handhabung von Mykobakterienkontamination durch zerbrochene Kulturfläschchen oder Bouillonsuspensionen wurden von den CDC erstellt.^{5,6,7}

HINWEISE ZUR LAGERUNG

Fläschchen trocken bei 2 ° – 25 °C und vor direkter Sonneneinstrahlung geschützt lagern.

PROBENTENTNAHME

HINWEIS: Dieses Verfahren sollte vor der Verwendung des Mediums mit dem zuständigen Personal besprochen werden, um sicherzustellen, daß die Probenentnahme ordnungsgemäß wie in diesem Abschnitt beschrieben durchgeführt wird.

Die Blutprobe muß unter Beachtung aseptischer Kautelen entnommen werden, um die Möglichkeit einer Kontamination so gering wie möglich zu halten. Zur Kultivierung können Blutvolumina zwischen 1,0 mL und 5,0 mL verwendet werden. Es wird empfohlen, die Blutprobe am Krankenbett zu inokulieren. Zur Blutentnahme wird normalerweise eine Spritze mit **LUER-LOK**-Kegel verwendet. Gegebenenfalls kann ein **VACUTAINER**-Nadelhalter und ein **VACUTAINER**-Blutentnahme-Set, ein **VACUTAINER SAFETY-LOK** Blutentnahme-Set oder ein Schlauchset mit Butterfly-Griffplatte verwendet werden. Bei Verwendung eines Kanülen-Schlauchsets (Direktentnahme) zu Beginn der Blutentnahme sorgfältig auf die Richtung des Blutflusses achten. Vor der Inokulation sollte die Füllhöhe des Mediums mit einem Kugelschreiber oder Markierungsstift auf dem Etikett vermerkt werden, um den Startpunkt der Blutentnahme anzuzeigen. Das Vakuum im Fläschchen beträgt normalerweise mehr als 5 mL. Deshalb sollte die Menge des entnommenen Blutes mit der 5-mL-Einteilung auf dem Etikett des Fläschchens kontrolliert werden. Nach Erreichen der erforderlichen 1 – 5 mL Blut den Schlauch abknicken und die Kanüle vom **BACTEC**-Fläschchen entfernen. Das **BACTEC**-Fläschchen muß so schnell wie möglich ins Labor geschickt und in das **BACTEC**-Gerät gestellt werden. Für die Blutentnahme kann ebenfalls ein **VACUTAINER**-Röhrchen mit gelber Kappe, das NPS enthält, verwendet werden. Das Röhrchen sollte sofort zum Labor geschickt und in das **BACTEC**-Kulturfläschchen umgefüllt werden.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: **BACTEC Myco/F Lytic**-Kulturfläschchen.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Biologische Sicherheitswerkbank, Autoklav, Entlüftungsvorrichtung, mykobakterielles Desinfektionsmittel, 70%iger Isopropylalkohol, Qualitätskontrollorganismen (*Mycobacterium intracellulare*, ATCC 13950; *Mycobacterium kansasii*, ATCC 12478 und *Mycobacterium fortuitum*, ATCC 6841), Mikroskop und das zur Objektträgerfärbung und Subkultivierung der Fläschchen benötigte Material.

VORSICHT: **BACTEC Myco/F Lytic**-Fläschchen ausschließlich mit **Software 3.6** oder einer neueren Version verwenden.

Inokulation der **BACTEC Myco/F Lytic**-Kulturfläschchen

1. Den Abrißdeckel auf dem **BACTEC**-Fläschchen entfernen und das Fläschchen auf Sprünge, undichte Stellen, Kontamination, starke Trübung, Wölbung oder Einbeulung des Stöpsels überprüfen. Defekte Fläschchen **NICHT VERWENDEN**.
 2. Die Probe auf dem Kulturfläschchen identifizieren und die Füllhöhe des Mediums auf dem Fläschchenetikett markieren.
 3. Vor dem Inokulieren das Septum mit Alkohol abtupfen. Mit Hilfe der Einteilungen auf dem Fläschchenetikett pro Fläschchen 1 – 5 mL der Probe aseptisch injizieren oder direkt entnehmen (siehe „Verfahrensbeschränkungen“). **Inokulierte Fläschchen sollten so schnell wie möglich zur Inkubation und Kontrolle in das BACTEC 9000MB-Gerät gestellt werden.**
 4. Im Gerät befindliche Fläschchen werden für die Gesamtdauer der Testprotokollaufnahme automatisch getestet. Positive Fläschchen werden vom **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie identifiziert (siehe **BACTEC**-Bedienungsanleitung, MA-0092). Der Sensor im Fläschchen wird sich zwar in positiven und negativen Fläschchen nicht sichtbar verändern, doch das **BACTEC**-Fluoreszenzsystem kann Sensor-Fluoreszenzveränderungen feststellen.
 5. Von allen positiven Kulturen sollte eine Subkultur angelegt und ein entsprechender Ausstrich angefertigt werden. Alle positiven Fläschchen müssen in Übereinstimmung mit den Vorschriften für Biosicherheitsstufe III gehandhabt werden.
- Verarbeitung eines Geräte-positiven Fläschchens
- a) Das Fläschchen aus dem Gerät nehmen und in Übereinstimmung mit den Vorschriften für Biosicherheitsstufe III an den Arbeitsplatz transportieren.
 - b) Fläschchen kippen, um den Inhalt zu mischen.
 - c) Das Fläschchen in einer biologischen Sicherheitswerkbank entlüften, um den Überdruck abzulassen.
 - d) Dem Fläschchen eine kleine Probenmenge (etwa 0,1 mL) zur Anfertigung von Färbungen (säurefester Ausstrich oder Gram-Färbung) entnehmen.
 - e) Ausstrich prüfen und nach der Auswertung einen vorläufigen Bericht erstatten.

Falls am Ende der sechswöchigen Inkubationsdauer ein Geräte-negatives Fläschchen positiv erscheint (z.B. bei Wölbung des Septums oder sehr dunkel gewordenem Blut), sollte eine Subkultur angelegt, ein säurefester Ausstrich angefertigt und das Fläschchen bei positivem Färbungsergebnis als vermutlich positiv behandelt werden.

Subkultivierung von Flaschen: Das Anlegen von Subkulturen muß in einer biologischen Sicherheitswerkbank durchgeführt werden, und Schutzkleidung, einschließlich Handschuhen und Gesichtsmaske, sollte getragen werden. Die Flaschen vor der Subkultivierung aufrecht stellen und das Septum dabei mit einem Alkoholtupfer abdecken. Um Überdruck im Flaschen abzulassen, der sich als Folge des Wachstums der kontaminierenden Mikroorganismen bilden kann, Alkoholtupfer und Septum mit einer sterilen Nadel der US-Stärke 25 (oder dünner) mit einem passenden Filter oder kleiner Kompress durchstechen. Nach Entweichen des Überdrucks und vor der Probenentnahme für Subkulturen sollte die Nadel entfernt werden. Das Einstechen und Zurückziehen der Nadel sollte mit einer geradlinigen Bewegung ohne Drehungen ausgeführt werden, da diese das Septum permanent schädigen können. **Die Nadel nicht wieder mit der Kappe versehen. Nadeln und Spritzen in einen punktionssicheren Behälter für gefährliche Bioabfälle werfen.**

QUALITÄTSKONTROLLE

Qualitätskontrollzertifikate werden mit jeder Packung mit Medien geliefert.

Jede neue Lieferung oder Charge von **BACTEC** Myco/F Lytic-Kulturflaschen sollten mit den in der nachstehenden Tabelle angegebenen ATCC-Kontrollorganismen als positive Kontrolle und einem nicht inokulierten Flaschen als negative Kontrolle getestet werden.

Organismus	Tage bis zum Nachweis
<i>Mycobacterium intracellulare</i> , ATCC 13950	8 bis 16
<i>Mycobacterium kansasii</i> , ATCC 12478	3 bis 13
<i>Mycobacterium fortuitum</i> , ATCC 6841	1 bis 3

Positive Flaschen sollten mit einer 1:100 Verdünnung einer auf einem Festmedium kultivierten McFarland-Suspension Nr. 1 inokuliert werden. Die Flaschen mit 0,1 mL verdünnter Kultur inokulieren. Diese Flaschen und ein uninokuliertes Kontrollflaschen sollten dann zum Testen ins Gerät gestellt werden. Das inokulierte Flaschen sollte vom Gerät innerhalb des Testprotokolls als positiv identifiziert werden. Das negative Kontrollflaschen muß negativ bleiben. Wenn die erwarteten Qualitätskontrollergebnisse nicht erzielt werden, das Medium nicht verwenden und den zuständigen Becton Dickinson-Vertreter verständigen.

Informationen bezüglich der Qualitätskontrolle für das **BACTEC**-System sind den Bedienungsanleitung (MA-0092) zu entnehmen.

DOKUMENTATION DER TESTERGEBNISSE

Eine Geräte-positive Probe kann durch einen säurefesten Ausstrich oder durch Gramfärbung bestätigt werden. Ein positives Ergebnis weist auf die vermutliche Anwesenheit von lebensfähigen Mikroorganismen im Flaschen hin.

Bei positiver Säurefestigkeitsfärbung eine Subkultur auf festem Medium anlegen und wie folgt dokumentieren: Geräte-positiv, Säurefestigkeitsfärbung positiv, Identifizierung ausstehend.

Wenn Mikroorganismen vorliegen, die nicht zu den säurefesten Bakterien gehören, eine Subkultur auf festem Medium anlegen und wie folgt dokumentieren: Geräte-positiv, Säurefestigkeitsfärbung negativ, Identifizierung ausstehend.

Wenn keine Mikroorganismen vorliegen, eine Subkultur auf festem Medium anlegen, das Flaschen innerhalb von 5 Stunden nach der Entnahme als laufendes negatives Flaschen in das Gerät zurück stellen und das Testprotokoll bis zum Ende durchlaufen lassen. Kein Ergebnis zu dokumentieren.

Von dem **BACTEC** Myco/F Lytic-Flaschen Subkulturen zur Durchführung von Identifizierungs- und Empfindlichkeitstests anlegen.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Der Nachweis mykobakterieller Spezies in Blutproben ist abhängig von der Zahl der in der Probe vorliegenden Organismen, der Methode der Probenentnahme, von Patientenfaktoren wie z.B. dem Vorliegen von Symptomen und früherer Therapie.

Mykobakterien können sich in Abhängigkeit vom jeweiligen Stamm, dem Alter der Kultur und anderen Variablen in bezug auf die Säurefestigkeit unterscheiden.

Eine Kontamination der Probe während der Probenentnahme oder der Inokulation in das **BACTEC**-Flaschen muß vermieden werden. Eine kontaminierte Probe ergibt einen positiven Wert ohne klinische Relevanz. Eine entsprechende Beurteilung muß vom Anwender auf der Basis von Faktoren wie z.B. Ergebnisse von Färbungen, Art des isolierten Organismus, Vorkommen desselben Organismus in mehreren Kulturen, Patientenanamnese usw. vorgenommen werden.

BACTEC Myco/F Lytic-Flaschen sind nicht selektiv und unterstützen sowohl das Wachstum von Mykobakterien als auch anderer aerober Organismen. Positive Kulturflaschen können eine oder mehrere Mykobakterien-Spezies und/oder andere nicht-mykobakterielle Spezies enthalten. Schnell-wachsende Organismen können den Nachweis von langsamer wachsenden Mykobakterien erschweren. Daher müssen Subkulturen angelegt und andere Verfahren durchgeführt werden. Die Beständigkeit der mikroskopischen Morphologie im **BACTEC** Myco/F Lytic-Medium wurde noch nicht festgelegt.

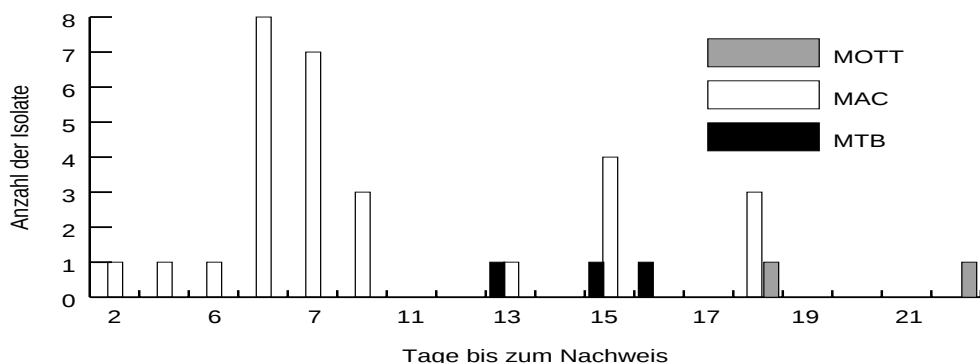
Eine optimale Ausbeute an Isolat wird durch die Zugabe von 1 – 5 mL Blut pro Flaschen erzielt. Die Verwendung kleinerer oder größerer Volumina kann die Isolierung, Nachweiszeiten und/oder Spezifität nachteilig beeinflussen. Wenn das Blutvolumen 5 mL übersteigt, nimmt die Möglichkeit für falsch-positive Ergebnisse wahrscheinlich zu.

Blut kann antimikrobielle Substanzen oder andere Inhibitoren enthalten, die das Wachstum von Mikroorganismen verlangsamen oder verhindern können.

BACTEC Myco/F Lytic-Kulturflaschen werden bei 37 °C inkubiert, so daß die Isolierung von Mykobakterien, die andere Inkubationstemperaturen erfordern (z.B. *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*) möglicherweise verhindert wird. Die Isolierung derartiger Organismen erfordert zusätzliche Kulturverfahren. Die folgenden Isolate wurden in internen Studien und/oder klinischen Tests im **BACTEC** 9000MB-Gerät bei der Verwendung von **BACTEC** Myco/F Lytic-Kulturflaschen nachgewiesen: *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. bovis*, *M. terrae*, *M. simiae*, *M. gordonae*, *M. celatum*, *M. abscessus*, *M. malmoeense*. Der Nachweis von *M. xenopi* und *M. szulgai* mit dem **BACTEC** Myco/F Lytic-Kulturmediums war bei internen Studien unzufriedenstellend.

ZU ERWARTENDE ERGEBNISSE

Die Verteilung der Nachweiszeiten für Blutproben, die in klinischen Tests mit dem BACTEC Myco/F Lytic-Kulturmediums positiv waren, ist in der nachstehenden Abbildung dargestellt.

**LEISTUNGSMERKMALE**

Das BACTEC Myco/F Lytic-Kulturmedium wurde mit dem BACTEC 9000MB-Gerät in zwei Lehrkrankenhäusern der Maximalversorgung an geographisch unterschiedlichen Standorten beurteilt. Die Patientenpopulation an den Krankenhäusern umfaßte Patienten mit Verdacht auf Mykobakterieninfektion, Patienten mit Immundefekten und Transplantatempfänger. Das BACTEC Myco/F Lytic-Kulturmedium wurde mit dem BACTEC 13A-Kulturmedium zur Isolierung und zum Nachweis von Mykobakterien in Blutproben verglichen. Im Verlauf der Studie wurden insgesamt 284 geeignete Blutproben getestet. Die Gesamtzahl der in der Studie isolierten pathogenen Mykobakterienisolate betrug 39 (Siehe TABELLE 1). Von diesen positiven Kulturen wurden fünf (13 %) ausschließlich mit dem BACTEC Myco/F Lytic-Kulturmedium und zwei (5 %) ausschließlich mit dem BACTEC 13A-Kulturmedium isoliert. Während der klinischen Beurteilung wurden insgesamt 28 BACTEC Myco/F Lytic-Fläschchen überfüllt (zwischen 6 und 20 mL) und nicht in der Studie berücksichtigt, da das Füllvolumen überschritten wurde und die Proben nicht den Testvoraussetzungen entsprachen. Von diesen 28 BACTEC Myco/F Lytic-Fläschchen wurden 16 (57 %) als falsch-positiv identifiziert.

Von den 284 in der klinischen Studie getesteten Blutproben wurde ein (0,4 %) BACTEC Myco/F Lytic-Fläschchen als falsch-positiv beurteilt (Geräte-positiv, Ausstrich und/oder Subkultur negativ). Von den 38 Geräte-positiven Myco/F Lytic-Fläschchen wurde 1 Fläschchen (2,6 %) als falsch-positiv beurteilt. Der Anteil falsch-negativer Proben (Geräte-negativ, Ausstrich und/oder Subkultur positiv), der anhand der Subkulturen von ≥ 50 % der negativen Fläschchen ermittelt wurde, betrug 0 %. Die Kontaminationsrate während dieser Beurteilung betrug 0,9 %.

TABELLE 1: ZUSAMMENFASSUNG DER IN KLINISCHEN STUDIEN MIT DEM MYCO/F LYTIC-KULTURMEDIUM NACHGEWIESENEN ISOLATE

Organismus	Gesamtzahl der Isolate	Nur Myco/F Lytic-Medium	Nur 13A-Medium	Beide
Alle pathogenen Mykobakterien:				
<i>Mycobacterium avium</i>	30	3	1	26
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6	0	0	6
<i>Mycobacterium kansasii</i>	3	2	1	0
Gesamt	39	5	2	32

LITERATURNACHWEIS: Siehe „References“ auf Seite 4.



Flaconi di coltura BACTEC Myco/F Lytic

Brodo Middlebrook 7H9 arricchito e Infuso di Cuore e Cervello

Per l'uso con BACTEC 9000MB

Italiano

DEFINIZIONE

I flaconi di coltura BACTEC Myco/F Lytic (Brodo Middlebrook 7H9 modificato) favoriscono la crescita e il rilevamento dei micobatteri.

USO PREVISTO

Il BACTEC Myco/F Lytic, quando usato con lo strumento BACTEC 9000MB, si presta come terreno non selettivo per la coltura qualitativa e l'isolamento di micobatteri da campioni ematici.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

A partire dalla metà degli anni 80 e in seguito al diffondersi dell'epidemia dell'AIDS, è aumentata l'incidenza della setticemia causata da lieviti, funghi e micobatteri opportunisti. Si è assistito a una nuova insorgenza del *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) e dei micobatteri non da tubercolosi (MOTT), specialmente il complesso *Mycobacterium avium* (MAC). Tra il 1985 e il 1992 il numero dei casi accertati di MTB è aumentato del 18%. Tra il 1981 e il 1987, gli studi sui casi di AIDS indicavano che il 5,5% dei pazienti affetti da AIDS avevano contratto infezioni micobatteriche non tubercolari, come il MAC. Entro il 1990, i casi accertati di infezione micobatterica non tubercolare erano aumentati fino ad avere un'incidenza complessiva del 7,6%.

Gli U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) hanno esteso ai laboratori la raccomandazione di compiere ogni sforzo per utilizzare i metodi di analisi più rapidi possibile a disposizione nella diagnosi dei micobatteri. Queste raccomandazioni includono, fra l'altro, l'utilizzo di un terreno liquido per la coltura dei micobatteri.^{1,2,3}

Il sistema BACTEC 9000MB è formulato per il rilevamento rapido di micobatteri da campioni clinici. Il terreno di coltura BACTEC Myco/F Lytic è formulato con Brodo Middlebrook 7H9 e Infuso di cuore e cervello per il recupero di micobatteri da campioni di sangue. Vi sono state apportate modifiche specifiche

allo scopo di potenziare la crescita e l'isolamento dei micobatteri. Tali modifiche includono: citrato ferrico di ammonio come sorgente di ferro per ceppi specifici di micobatteri, l'aggiunta di saponina come agente per la lisi ematica, e l'aggiunta di proteine specifiche e di zuccheri allo scopo di fornire i supplementi nutritivi. Ogni flacone contiene un sensore capace di rilevare il calo della concentrazione di ossigeno presente nel flacone, fenomeno dovuto al metabolismo e alla crescita dei microrganismi. Lo strumento **BACTEC 9000MB** tiene sotto controllo l'aumento di fluorescenza del sensore, che è direttamente proporzionale al calo di ossigeno. Una lettura positiva indica la presenza presunta di microrganismi vivi nel flacone.

PRINCIPI DEL PROCEDIMENTO

Il flacone di coltura **BACTEC Myco/F Lytic** è formulato per il rilevamento rapido di micobatteri da campioni ematici. I campioni di sangue vengono inoculati nel flacone **BACTEC Myco/F Lytic** mediante siringa o prelievo diretto con ago e cannula. Il flacone viene posto nel sistema **BACTEC 9000MB** ed incubato senza interruzione a 37° C, con agitazione ogni dieci minuti, per ottenere un isolamento ottimale. Ogni flacone contiene un sensore capace di rilevare il calo della concentrazione di ossigeno presente nel flacone, fenomeno dovuto al metabolismo e alla crescita dei microrganismi. Il sensore viene monitorato dal sistema **BACTEC 9000MB** ogni dieci minuti. L'analisi del tasso di diminuzione di ossigeno, misurato dall'aumento di fluorescenza, permette allo strumento **BACTEC** della serie fluorescente di determinare se il flacone è positivo per lo strumento. Una lettura positiva indica la presenza presunta di microrganismi vivi nel flacone. Questa analisi si limita all'isolamento di microrganismi che possono crescere nel terreno di coltura a 37° C. Il terreno non è selettivo e favorisce anche la crescita di altri organismi aerobi fra cui lieviti, funghi e batteri, che, se presenti, possono interferire con l'isolamento dei micobatteri. I flaconi di coltura che rimangono negativi per 42 giorni senza dare alcun segno visibile di positività vengono tolti dallo strumento, sterilizzati e poi eliminati.

REAGENTI

Prima di essere impiegati, i flaconi di coltura **BACTEC Myco/F Lytic** contengono i seguenti reagenti:

Lista di ingredienti

w/v = peso/volume (weight per volume)

Acqua purificata	40 mL q.b.
Brodo base Middlebrook 7H9 senza sale fosfato	0,12% w/v
Infuso di cuore e cervello	0,5% w/v
Idrolizzato di caseina	0,10% w/v
Supplemento H	0,10% w/v
Inositolo	0,05% w/v
Glicerolo	0,10% w/v
Sodio polianetol sulfonato	0,025% w/v
Tween 80	0,0025% w/v
Piridossale HCl	0,0001% w/v
Citrato ferrico di ammonio	0,006% w/v
Fosfato di potassio	0,024% w/v
Saponina	0,24% w/v
Agente antischiumogeno	0,01% w/v

Questo terreno di coltura **BACTEC** è fornito con supplemento di CO₂ e O₂.

La composizione può essere stata modificata per soddisfare i requisiti di rendimento desiderati.

Il terreno **BACTEC Myco/F Lytic** non richiede alcuna aggiunta di supplemento. Ogni flacone da 40 mL di terreno **BACTEC Myco/F Lytic** è pronto per l'uso così come ricevuto. Il terreno ricevuto deve essere di colore giallo ambra chiaro e trasparente.

PRECAUZIONI

Precauzioni: diagnostico *in vitro*.

Questo prodotto contiene gomma naturale allo stato secco.

CAMPIONI D'ANALISI POTENZIALMENTE INFETTI. Osservare le "Precauzioni universali"^{4,5} e le norme del laboratorio locale, per quanto riguarda la manipolazione e l'eliminazione di materiale infetto.

I flaconi **BACTEC Myco/F Lytic** hanno una capacità superiore al volume di campione massimo raccomandato (5 mL), per cui bisogna monitorare il volume di riempimento.

Si raccomandano le pratiche di sicurezza biologica di Livello 2 e l'utilizzo di tutte le apparecchiature specifiche, quando si preparano le colorazioni acido-resistenti e si esegue la coltura dei campioni clinici. Per procedure che comportano la possibilità di propagazione e di manipolazione di *Mycobacterium tuberculosis* o di *Mycobacterium bovis* cresciuti in coltura, si richiedono le pratiche di sicurezza biologica di Livello 3 e tutte le apparecchiature idonee.^{5,6,7}

I flaconi vanno esaminati prima dell'uso, per assicurarsi che non siano contaminati o torbidi e il setto non sia rigonfio o incavato, o che non ci siano perdite. **NON USARE** un flacone se appare contaminato, danneggiato o se ha perdite. La contaminazione del flacone può non essere immediatamente visibile. Un flacone contaminato può contenere pressione positiva. Se si usa un flacone contaminato per il prelievo diretto, gas o terreni di coltura contaminati possono rifluire nella vena del paziente. In rare occasioni, il collo del flacone di vetro potrebbe essere incrinato e rompersi al momento della rimozione del tappo o durante la manipolazione. Inoltre, in occasioni altrettanto rare, un flacone potrebbe essere stato sigillato in modo imperfetto. In entrambi i casi il contenuto del flacone può gocciolare o fuoriuscire, specialmente se il flacone viene capovolto.

Per ridurre al minimo il rischio di perdite durante l'inoculo del campione, mediante siringa, nei flaconi di coltura, usare siringhe con puntali **LUER-LOK**. Usare una tecnica di inoculo ad una mano ed un supporto per il flacone sicuro, in modo da ridurre il rischio di punture d'ago accidentali.

Sterilizzare in autoclave tutti i flaconi **BACTEC Myco/F Lytic** inoculati, prima di eliminarli.

Prima del campionamento di flaconi positivi per subcoltura, colorazione, etc., è necessario dar sfogo al gas che spesso si accumula dentro in seguito al metabolismo microbico. I prelievi devono essere eseguiti in una cappa di sicurezza biologica, indossando appropriati indumenti protettivi, mascherine e guanti. Per ulteriori informazioni sulla procedura di subcoltura, vedere la sezione Procedimento.

FLACONI CON PERDITE O ROTTURE

ATTENZIONE: Se un flacone inoculato presenta perdite o rotture, è necessario manipolarlo nel modo appropriato, in quanto può produrre un aerosol di *M. tuberculosis* o di altri micobatteri.

Se un flacone inoculato ha perdite o viene accidentalmente rotto in fase di raccolta o trasporto, usare la normale prassi di laboratorio per le fuoriuscite micobatteriche. Come minimo, osservare le precauzioni accettate universalmente. I flaconi devono essere eliminati nel modo appropriato.

Nei casi rari in cui si riscontri fuoriuscita di liquido dal flacone all'interno dello strumento, o se un flacone viene rotto accidentalmente, spegnere lo strumento immediatamente. Sgomberare la zona contaminata. Contattare il responsabile (o responsabili) per la sicurezza o il controllo delle infezioni. A seconda della necessità, spegnere o modificare le impostazioni delle unità per la gestione dell'aria che servono la zona contaminata. Non ritornare nella zona fino a quando tutti gli eventuali aerosol non si siano depositati o siano stati eliminati da un'adeguata ventilazione. Notificare la Becton Dickinson and company rivolgendosi al rappresentante di zona. Il CDC ha pubblicato linee guida da seguire in caso di contaminazione micobatterica accidentale dovuta alla rottura delle provette di coltura o delle sospensioni in brodo.^{5,6,7}

ISTRUZIONI PER LA CONSERVAZIONE

Conservare a 2° - 25° C, in luogo asciutto e al riparo da luce solare diretta.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

NOTA: Prima di usare il terreno si raccomanda di rivedere la procedura a seguito con il personale responsabile, in modo da assicurare l'utilizzo di tecniche di raccolta appropriate, come descritto in questa sezione.

Il campione deve essere raccolto con tecnica sterile per ridurre il rischio di contaminazione. Il volume di sangue per la coltura è compreso tra 1,0 mL e 5,0 mL. Si raccomanda di inoculare i campioni direttamente al capezzale. In genere, per prelevare il campione si usano le siringhe con puntali **LUER-LOK**. A seconda del caso, si possono usare un porta-ago **VACUTAINER** e un set di raccolta del sangue **VACUTAINER**, un set di raccolta del sangue **VACUTAINER SAFETY-LOK** o un altro set di ago e cannula a "farfalla". Se viene usato il set di ago e cannula (prelievo diretto), osservare attentamente la direzione del flusso di sangue, quando si inizia a prelevare il campione. Prima dell'inoculo, si deve annotare sull'etichetta il volume di riempimento di terreno, a penna o pennarello, per indicare il livello di partenza della raccolta del campione. Il vuoto del flacone supera in genere i 5 mL, per cui bisogna controllare il volume di sangue prelevato mediante le tacche da 5 mL. Una volta prelevati 1 – 5 mL di campione necessari per il test, arrestare il flusso attorcigliando la cannula e togliere l'ago dal flacone **BACTEC**. I flaconi **BACTEC** devono essere inviati immediatamente al laboratorio e posti nello strumento **BACTEC**. Per il prelievo del campione di sangue dal paziente si può anche usare la provetta **VACUTAINER** con tappo giallo contenente SPS. La provetta deve essere trasportata al laboratorio appena possibile, per poi trasferire il campione nel flacone di coltura **BACTEC**.

PROCEDIMENTO

Materiali forniti: Flaconi di coltura **BACTEC Myco/F Lytic**.

Materiali richiesti ma non forniti: Cappa di sicurezza biologica, autoclave, unità di ventilazione, disinfettante micobattericida, alcol isopropilico al 70%, organismi per il controllo di qualità (*Mycobacterium intracellulare*, ATCC 13950; *Mycobacterium kansasii*, ATCC 12478 e *Mycobacterium fortuitum*, ATCC 6841), microscopio e materiali per la colorazione di vetrini e la coltura secondaria dei flaconi.

ATTENZIONE: I flaconi **BACTEC Myco/F Lytic** devono essere utilizzati con la versione software 3.6, o superiore, dello strumento.

Inoculo dei flaconi di coltura **BACTEC Myco/F Lytic**

1. Togliere il tappo dal flacone **BACTEC** e assicurarsi che il flacone non sia inclinato, contaminato, troppo torbido o che non abbia perdite e che il setto non sia rigonfio o incavato. **NON USARE** il flacone se viene notato qualsiasi difetto.
 2. Apporre sul flacone un'etichetta d'identificazione ed annotarvi il livello di riempimento di terreno.
 3. Prima di inoculare, pulire il setto con alcol. Mediante siringa o con prelievo diretto, iniettare nel flacone, in modo asettico, 1 – 5 mL di campione, usando come riferimento le tacche graduate sul flacone (vedere la sezione sui Limiti del Procedimento). **I flaconi inoculati devono essere introdotti nello strumento BACTEC 9000MB al più presto** per l'incubazione e il controllo.
 4. I flaconi dentro allo strumento saranno analizzati automaticamente per tutta la durata del protocollo del test. I flaconi positivi saranno identificati dal sistema fluorescente **BACTEC** (vedere il Manuale d'uso **BACTEC**, MA-0092). Il sensore dentro il flacone non apparirà diverso a seconda che i flaconi siano positivi o negativi, ma lo strumento fluorescente **BACTEC** sarà in grado di determinare la differenza di fluorescenza del sensore.
 5. I flaconi positivi vanno sottoposti a coltura secondaria e si deve allestire un vetrino apposito. Tutti i flaconi positivi vanno maneggiati con i contenitori adatti, secondo le prassi di laboratorio richieste dal BSL III (Biological Safety Level III).
- Trattamento dei flaconi positivi per lo strumento
- a) Togliere il flacone dallo strumento e porlo in un'area apposita, secondo le prassi di laboratorio richieste dal BSL III.
 - b) Capovolgere il flacone per miscelare il contenuto.
 - c) In una cappa di sicurezza biologica, ventilare il flacone per equilibrare la pressione interna con quella atmosferica.
 - d) Prelevare un'aliquota dal flacone (ca. 0,1 mL) per preparare le colorazioni (acido-resistenza e Gram).
 - e) Esaminare lo striscio e inoltrare i risultati preliminari solo dopo una valutazione dello stesso.

Se, dopo sei settimane di incubazione, un flacone, negativo per lo strumento, appare positivo all'esame visivo (cioè diaframma rigonfio o sangue molto scuro), si deve eseguire una subcoltura, una colorazione per l'acido-resistenza e considerarlo presuntivamente positivo, purché il risultato della colorazione sia positivo.

Subcoltura dei flaconi: La subcoltura deve essere eseguita in una cappa di sicurezza biologica, indossando indumenti protettivi, mascherina e guanti. Prima di eseguire la subcoltura, porre il flacone in posizione verticale e collocare sul setto un tampone imbevuto d'alcol. Per liberare l'eventuale pressione positiva contenuta nel flacone, causata dalla crescita di possibili contaminanti, inserire un ago di calibro 25 (o inferiore), munito di appropriato filtro o compressa, attraverso il tampone d'alcol e il setto. L'ago va rimosso non appena la pressione diminuisce e prima di effettuare il prelievo del flacone per la subcoltura. L'inserimento e la rimozione dell'ago devono essere eseguiti con un movimento lineare, senza alcuna torsione che potrebbe danneggiare permanentemente il setto. **Non ritappare l'ago. Eliminare aghi e siringhe in un contenitore per rifiuti a rischio biologico, adatto per oggetti appuntiti.**

CONTROLLO DI QUALITÀ

I Certificati del Controllo di Qualità vengono forniti con ciascuna confezione di terreno.

Si raccomanda di testare ogni nuova partita o lotto di terreno **BACTEC Myco/F Lytic** con gli organismi **ATCC** per il controllo di qualità identificati nella tabella a seguito, come controllo positivo, e con un flacone non inoculato, come controllo negativo.

Organismo	Tempo per rilevazione positività (giorni)
<i>Mycobacterium intracellulare</i> , ATCC 13950	da 8 a 16
<i>Mycobacterium kansasii</i> , ATCC 12478	da 3 a 13
<i>Mycobacterium fortuitum</i> , ATCC 6841	da 1 a 3

I flaconi positivi devono essere inoculati con la diluizione 1:100 di una sospensione al McFarland N° 1, fatta crescere su un terreno solido. Inoculare il flacone con 0,1 mL della coltura diluita. Questo flacone deve quindi essere registrato ed analizzato nello strumento insieme ad un controllo non inoculato. Il flacone inoculato deve venir identificato come positivo dallo strumento, entro il periodo di protocollo. Il controllo negativo deve rimanere invariato. Se con il controllo di qualità non si ottengono i risultati attesi, non usare il terreno e rivolgersi al rappresentante di zona della Becton Dickinson per assistenza tecnica.

Per informazioni sul controllo di qualità del sistema **BACTEC**, consultare il Manuale d'uso (MA-0092).

RAPPORTO DEI RISULTATI

La positività in coltura di un campione viene confermata da un vetrino acido-resistente o da una colorazione Gram. Un risultato positivo indica la presunta presenza di microrganismi vivi nel flacone.

Se si riscontra positività al vetrino per l'acido-resistenza, eseguire una subcoltura su terreno solido e segnalare come: positivo per lo strumento, positivo al vetrino per l'acido-resistenza, in corso di identificazione.

Se sono presenti microrganismi diversi dai bacilli acido-resistenti, eseguire una subcoltura su terreno solido e segnalare come: positivo per lo strumento, negativo al vetrino per l'acido-resistenza, in corso di identificazione.

Se il vetrino non evidenzia alcun microrganismo, eseguire una subcoltura su terreno solido, rimettere il flacone dentro allo strumento, come flacone negativo in corso di analisi, entro 5 ore dalla precedente rimozione, per il completamento del periodo di protocollo. Non va dato alcun risultato.

Eseguire delle subcolture a partire dal flacone **BACTEC Myco/F Lytic**, per l'identificazione e le prove di sensibilità.

LIMITI DEL PROCEDIMENTO

Il rilevamento delle specie di micobatteri presenti nei campioni ematici dipende dal numero di organismi presenti nel campione, dal metodo di prelievo del campione, da fattori dipendenti dal malato come la presenza di sintomi e la terapia somministrata in precedenza.

L'acido-resistenza dei micobatteri può variare a seconda del ceppo, dell'età della coltura e di altre variabili.

Fare attenzione a non contaminare il campione in fase di raccolta ed inoculo nel flacone **BACTEC**. Un flacone contaminato darà dei valori positivi alla lettura dello strumento, senza però indicare un risultato rilevante dal punto di vista clinico. La determinazione della contaminazione deve essere effettuata dall'operatore sulla base di fattori quali il risultato delle colorazioni, il tipo di organismo isolato, la presenza dello stesso organismo in colture diverse, la cartella clinica del paziente, etc.

I flaconi **BACTEC Myco/F Lytic** non sono selettivi e favoriscono la crescita anche di altri organismi aerobi, oltre ai micobatteri. I flaconi positivi possono contenere una o più specie di micobatteri e/o altre specie non micobatteriche. Se sono presenti degli organismi a crescita rapida, questi possono mascherare il rilevamento dei micobatteri a crescita più lenta. In questo caso è necessario eseguire una subcoltura e altre analisi supplementari. La coerenza della morfologia microscopica nel **BACTEC Myco/F Lytic** non è stata stabilita.

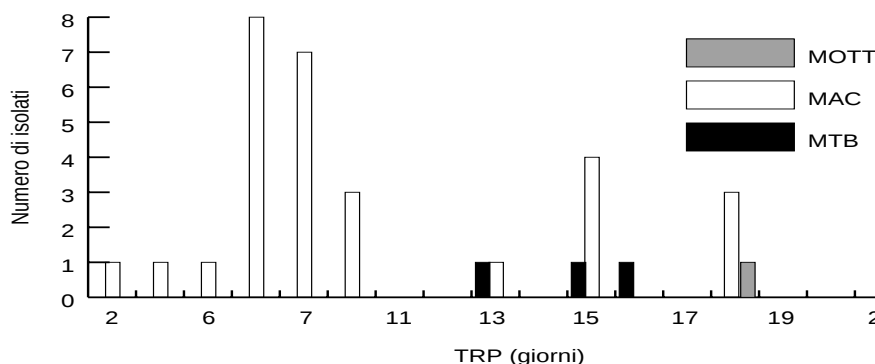
Per ottenere un recupero ottimale di isolati, aggiungere ad ogni flacone 1 – 5 mL di sangue. L'uso di volumi superiori o inferiori può alterare in senso negativo l'isolamento, i tempi di rilevamento e/o la specificità. Con volumi superiori a 5 mL si può verificare più facilmente la falso-positività.

Il sangue può contenere antibiotici o altri inibitori in grado di rallentare o prevenire la crescita dei microrganismi.

I flaconi **BACTEC Myco/F Lytic** vengono incubati a 37° C, il che esclude in teoria il recupero di micobatteri che necessitano di temperature d'incubazione diverse (es. *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). Il recupero di tali organismi richiede metodi di coltura supplementari. Nel corso di studi interni e/o di prove cliniche, i seguenti isolati sono stati rilevati come positivi nello strumento **BACTEC 9000MB**, utilizzando il terreno di coltura **BACTEC Myco/F Lytic**: *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. bovis*, *M. terrae*, *M. simiae*, *M. goodii*, *M. celatum*, *M. abscessus*, *M. malmoense*. Durante gli studi interni, l'isolamento di *M. xenopi* e *M. szulgai* con il terreno **BACTEC Myco/F Lytic** è stato insoddisfacente.

RISULTATI PREVISTI

Il diagramma a seguito mostra la distribuzione della frequenza dei Tempi di Rilevazione della Positività (TRP) per i campioni di sangue sottoposti a prove cliniche e riscontrati positivi con il terreno di coltura **BACTEC Myco/F Lytic**.

**CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE**

Il terreno di coltura **BACTEC Myco/F Lytic** è stato sottoposto a valutazione con lo strumento **BACTEC 9000MB** in due sedi cliniche ospedaliere importanti situate in località geografiche diverse. La popolazione in esame nelle due sedi comprendeva pazienti sospetti di infezioni micobatteriche, pazienti immuno-compromessi o che avevano subito trapianti. Il terreno di coltura **BACTEC Myco/F Lytic** è stato messo a confronto con il terreno **BACTEC 13A** per la coltura e l'isolamento di micobatteri da campioni di sangue. Durante lo studio sono stati testati in totale 284 campioni ematici in coppia. Il numero totale di isolati micobatterici patogeni recuperati nel corso dello studio è stato 39 (vedere Tabella 1). Di questi positivi, cinque (13%) sono stati recuperati solo nel terreno di coltura **BACTEC Myco/F Lytic** e due (5%) sono stati recuperati solo col terreno di coltura **BACTEC 13A**. 28 flaconi in totale sono stati esclusi dallo studio clinico perché il volume di campione contenuto superava il limite massimo consentito (era tra 6 e 20 mL). Di questi 28 flaconi **BACTEC Myco/F Lytic**, 16 (57%) sono stati identificati come falsi positivi.

Dei 284 flaconi contenenti i campioni di sangue testati nello studio clinico, un flacone **BACTEC Myco/F Lytic** (0,4%) è stato determinato come falso positivo (positivo per lo strumento, negativo a striscio e/o subcoltura). Dei 38 flaconi **Myco/F Lytic** positivi per lo strumento, 1 (2,6%) è stato determinato come falso positivo. Il tasso dei falsi negativi (negativo per lo strumento, positivo a striscio e/o subcoltura) è stato dello 0% in base alle subcolture terminali di $\geq 50\%$ dei flaconi negativi. Il tasso di contaminazione determinato durante questa valutazione è stato dello 0,9%.

TABELLA 1: PROSPETTO RIASSUNTIVO DEL RECUPERO DI ISOLATI NEL TERRENO DI COLTURA MYCO/F LYTIC DURANTE LE PROVE CLINICHE

Organismo	Totale isolati	Terreno Myco/F Lytic solamente	Terreno 13A solamente	Entrambi
Tutti micobatteri patogeni:				
<i>Mycobacterium avium</i>	30	3	1	26
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6	0	0	6
<i>Mycobacterium kansasii</i>	3	2	1	0
Totale	39	5	2	32

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" a pag. 4.

BD Frascos de cultivo BACTEC Myco/F Lytic

Caldo Middlebrook 7H9 suplementado y caldo de infusión de cerebro y corazón

DEBE USARSE con BACTEC 9000MB

Español

DENOMINACION

Los frascos de cultivo BACTEC de tipo Myco/F Lytic (caldo Middlebrook 7H9 modificado) permiten el crecimiento y la detección de micobacterias.

USO PREVISTO

Cuando se utiliza el medio de cultivo BACTEC Myco/F Lytic con el instrumento BACTEC 9000MB, es un medio de cultivo no selectivo para el cultivo cualitativo y la recuperación de micobacterias de muestras de sangre.

RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA

Desde mediados de la década de los años 1980 y la diseminación de la epidemia del SIDA, ha aumentado la incidencia de septicemia producida por micobacterias oportunistas. Han resurgido la *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) y micobacterias no tuberculosas (MOTT), especialmente el complejo *Mycobacterium avium* (MAC). Desde 1985 a 1992, el número de casos informados de MTB aumentó en un 18%. Entre 1981 y 1987, las encuestas de casos de SIDA indicaron que 5,5% de los pacientes con SIDA habían propagado infecciones micobacterianas no tuberculosas, como por ejemplo, MAC. Hacia 1990, el aumento de los casos de infecciones micobacterianas no tuberculosas diseminadas había resultado en una frecuencia acumulada del 7,6%.

Los U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) han recomendado que los laboratorios hagan todos los esfuerzos posibles por utilizar los métodos más rápidos a su alcance para el diagnóstico y análisis de micobacterias. Estas recomendaciones incluyen el uso de un medio líquido para el cultivo micobacteriano.^{1,2,3}

El sistema BACTEC 9000MB está diseñado para la detección rápida de micobacterias en muestras clínicas. El medio de cultivo BACTEC Myco/F Lytic es una formulación de Middlebrook 7H9 y caldo de infusión de cerebro y corazón para la recuperación de micobacterias en muestras de sangre. Se han hecho modificaciones específicas para mejorar el crecimiento y recuperación de micobacterias. Estas modificaciones incluyen la adición de citrato férrico amónico como una fuente de hierro para cepas específicas de micobacterias, la adición de saponina como un agente hemolítico y la adición de proteínas y azúcares específicos para aportar suplementos nutritivos. Cada frasco contiene un indicador que puede detectar descensos en la concentración de oxígeno en el frasco como resultado del metabolismo y crecimiento de microorganismos. El indicador está controlado por el sistema BACTEC 9000MB para detectar el aumento de fluorescencia, que es proporcional al descenso de oxígeno. Un resultado positivo indica la presencia presunta de microorganismos viables dentro del frasco.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El frasco de cultivo BACTEC Myco/F Lytic está diseñado para la detección rápida de micobacterias en la sangre. Las muestras de sangre se inoculan en el frasco BACTEC Myco/F Lytic utilizando una jeringa o por toma directa con una aguja y tubo. El frasco es introducido en el sistema BACTEC 9000MB e incubado a una temperatura constante de 37° C, con agitación una vez cada diez minutos para obtener una recuperación máxima. Cada frasco contiene un indicador que puede detectar descensos en la concentración de oxígeno en el frasco como resultado del metabolismo y crecimiento de microorganismos. El indicador es controlado por el sistema BACTEC 9000MB cada diez minutos. El análisis del nivel de disminución de oxígeno medida por el aumento en la fluorescencia permite al instrumento BACTEC de la serie fluorescente determinar si el frasco es positivo. Un resultado positivo indica la presencia presunta de microorganismos viables dentro del frasco. La detección se limita a los microorganismos capaces de crecer en el medio de cultivo a 37° C. El medio de cultivo no es selectivo y permite el crecimiento de otros organismos aerobios, incluyendo levaduras, hongos y bacterias, cuya presencia puede interferir con la recuperación de micobacterias. Los frascos de cultivo que permanecen negativos durante 42 días y que no muestran indicios visibles de ser positivos se retiran del instrumento y se esterilizan antes de desecharse.

REACTIVOS

Antes de realizar el procedimiento, cada frasco de cultivo BACTEC Myco/F Lytic contiene los siguientes reactivos:

Componentes

Agua procesada	40 mL q.s.
Base de caldo Middlebrook 7H9 sin sales de fosfato	0,12% p/v
Infusión de cerebro y corazón	0,5% p/v
Hidrolizado de caseína	0,10% p/v
Suplemento H	0,10% p/v
Inositol	0,05% p/v
Glicerol	0,10% p/v
Polianetolsulfonato sódico	0,025% p/v
Tween 80	0,0025% p/v
Clorhidrato de piridoxal	0,0001% p/v
Citrato férrico amónico	0,006% p/v
Fosfato potásico	0,024% p/v
Saponina	0,24% p/v
Antiespumante	0,01% p/v

Este medio BACTEC se suministra con CO₂ y O₂ añadidos.

La composición puede haberse modificado de acuerdo con las necesidades específicas de rendimiento.

El medio BACTEC Myco/F Lytic no requiere la adición de un suplemento. Cada frasco de 40 mL de medio BACTEC Myco/F Lytic se recibe listo para su empleo inmediato. La apariencia de los medios cuando son recibidos debe ser transparente y de color ámbar claro.

PRECAUCIONES

Precauciones: diagnósticos *in vitro*.

Este producto contiene goma natural seca.

MUESTRA POTENCIALMENTE INFECCIOSA PARA ANALISIS. Deben seguirse las "Precauciones universales"^{4,5} y las normas institucionales para el manejo y desecho de materiales infecciosos.

Los frascos BACTEC Myco/F Lytic acogerán un volumen superior al máximo recomendado de 5 mL del volumen de la muestra, por lo que el volumen de llenado debe ser controlado.

Para la preparación de tinciones ácidorresistentes y el cultivo de muestras clínicas se recomiendan las prácticas de bioseguridad de nivel 2, laboratorio y equipo de prevención. Para las actividades que involucren la propagación y manipulación de *Mycobacterium tuberculosis* o *Mycobacterium bovis* en medios de cultivo, se requieren prácticas de bioseguridad de nivel 3, laboratorio y equipo de prevención.^{5,6,7}

Se debe examinar cada frasco antes de usarlo para ver si se presentan indicios de contaminación, por ejemplo, turbidez, tapón hinchado o hundido o fugas. **NO DEBE USARSE** ningún frasco que presente indicios de contaminación, fugas o desperfectos. Es posible que la contaminación del frasco no se perciba a simple vista. Un frasco contaminado puede contener presión positiva. Si se usa un frasco contaminado en una toma directa, podría refluírse gas o el medio de cultivo contaminado a la vena del paciente. En raras ocasiones, el cuello del frasco de vidrio puede estar rajado y puede romperse al quitar el tapón a presión o al manipular el frasco. También, en raras ocasiones, es posible que un frasco no esté bien precintado. En ambos casos el contenido de los frascos puede gotear o derramarse, especialmente si se invierte el frasco.

Para reducir al mínimo la posibilidad de producirse pérdidas durante la inoculación de las muestras en frascos de cultivo utilizando una jeringa, use jeringas con puntas **LUER-LOK**. Se debe utilizar la técnica de inoculación con una sola mano y un soporte adecuado para el frasco para evitar el riesgo de pincharse accidentalmente con la aguja.

Todos los frascos **BACTEC Myco/F Lytic** inoculados deben esterilizarse en el autoclave antes de desecharse.

Antes de obtener una muestra para **subcultivos o tinción, etc., de los frascos de cultivo positivos**: Es necesario liberar el gas que frecuentemente se acumula debido al metabolismo microbiano. La toma de muestras debe efectuarse en una cámara de seguridad biológica. El operario debe llevar puesta ropa de protección, incluyendo guantes y mascarilla. Véase la sección titulada "Procedimiento" para obtener más información sobre subcultivos.

FRASCOS ROTOS O MAL SELLADOS

PRECAUCIÓN: Como un frasco roto o mal sellado que ha sido inoculado puede producir un aerosol de micobacterias, incluyendo *M. tuberculosis* u otras bacterias, la manipulación apropiada debe ser observada.

Si se encuentra que un frasco inoculado está mal sellado o sufre una rotura accidental durante la recogida o el transporte, utilice el procedimiento establecido de su laboratorio para los derrames de micobacterias. Como mínimo, deben seguirse las "Precauciones universales". Se deben desechar los frascos de manera apropiada.

En los casos raros de encontrar una fuga del contenido de un frasco en el instrumento propiamente dicho o de producirse la rotura accidental de un frasco, apague el instrumento inmediatamente. Desaloje el área afectada. Contacte al responsable o responsables de la seguridad o del control de infecciones de su laboratorio. Determine si es necesario apagar o modificar los parámetros de las unidades de conducción de aire que sirven el área afectada. No vuelva al área hasta que todo aerosol potencial se ha depositado o ha sido eliminado por la ventilación apropiada. Se debe notificar a Becton Dickinson and Company contactando al representante apropiado de Becton Dickinson en su área. Los CDC han publicado pautas para la manipulación correcta de la contaminación accidental por micobacterias producida por la rotura de tubos de medio de cultivo o de suspensiones de caldo.^{5,6,7}

INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Conservar entre 2° – 25° C, en un lugar seco resguardado de la luz directa del sol.

EXTRACCION DE MUESTRAS

NOTA: Se recomienda que este procedimiento sea repasado con el personal correspondiente antes de utilizar el medio de cultivo con el fin de asegurar el uso de técnicas de recogida de muestras adecuadas, como las descritas en esta sección.

La muestra debe ser recogida utilizando una técnica estéril para reducir la posibilidad de contaminación. Los límites del volumen de sangre que puede ser cultivado son de 1,0 mL a 5,0 mL. Se recomienda hacer la inoculación de la muestra en la habitación del paciente. Para la toma de la muestra, generalmente se utiliza una jeringa con punta **LUER-LOK**. Si es necesario, se puede utilizar un juego de soporte de aguja **VACUTAINER** y un juego de toma de sangre **VACUTAINER**, juego de toma de sangre **VACUTAINER SAFETY-LOK** u otro juego de tubos de «mariposa». Si se utiliza una aguja y tubo (toma directa), observe cuidadosamente la dirección del flujo de sangre al empezar la toma de la muestra. Antes de hacer la inoculación, anote el volumen de llenado del medio en la etiqueta con un bolígrafo o rotulador para indicar el punto de comienzo para la recogida de la muestra. El espacio vacío del frasco habitualmente excede los 5 mL, de forma que el usuario deberá vigilar el volumen extraído mediante las marcas graduadas de 5 mL en la etiqueta del frasco. Una vez extraídos los 1 – 5 mL de sangre deseados, se deberá detener el flujo poniendo una pinza en el tubo y quitando la aguja del frasco **BACTEC**. El frasco **BACTEC** deberá ser transportado al laboratorio lo más rápidamente posible e introducido en el instrumento **BACTEC**. Para la toma de sangre del paciente también puede utilizarse un tubo **VACUTAINER** de tapón amarillo que contenga SPS. El tubo deberá ser transportado al laboratorio lo más rápidamente posible para transferir la muestra a un frasco de cultivo **BACTEC**.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: Frascos de cultivo **BACTEC Myco/F Lytic**

Materiales necesarios pero no suministrados: Cámara de seguridad biológica, autoclave, unidad de ventilación, desinfectante micobacteriano, alcohol isopropílico al 70%, organismos para el control de calidad (*Mycobacterium intracellulare*, ATCC 13950; *Mycobacterium kansasii*, ATCC 12478; y *Mycobacterium fortuitum*, ATCC 6841), microscopio y materiales para la tinción de portaobjetos y la realización de subcultivos de los frascos.

PRECAUCIÓN: Los frascos **BACTEC Myco/F Lytic** deben utilizarse con la versión 3.6 de software del instrumento o con versiones superiores a ésta.

Inoculación de los frascos de cultivo **BACTEC Myco/F Lytic**

1. Quite el tapón a presión del frasco **BACTEC** e inspeccione el frasco para ver si hay roturas, contaminación, turbidez excesiva o tapones hinchados o hundidos. **NO UTILIZAR** si se observa cualquier defecto.
2. Etiquete el frasco de cultivo con la información de identificación de la muestra y marque en la etiqueta del frasco una línea de graduación correspondiente al nivel de llenado del medio.
3. Antes de inocular, limpie el tapón con alcohol. Inyecte, asépticamente con una jeringa o mediante una toma directa, una muestra de 1 – 5 mL en el frasco guiándose por las líneas de graduación en la etiqueta del frasco (véase la sección de «Limitaciones del procedimiento»). **Los frascos inoculados deben introducirse en el instrumento BACTEC 9000MB tan pronto como sea posible** para su incubación y verificación.
4. Los frascos que se ponen en el instrumento serán analizados automáticamente durante el período de protocolo de análisis. Los frascos positivos serán identificados por el sistema **BACTEC** de la serie fluorescente (véase el Manual del usuario del instrumento **BACTEC**, MA-0092). Puede no verse una diferencia obvia en el indicador dentro del frasco entre los frascos positivos y negativos. Sin embargo, el sistema **BACTEC** de la serie fluorescente puede detectar una diferencia en la fluorescencia del indicador.
5. Se debe efectuar un subcultivo de los frascos positivos y preparar un frotis apropiado. Todos los frascos positivos deben ser manipulados siguiendo prácticas de bioseguridad nivel 3 e instalaciones de prevención.

Procesamiento de un frasco positivo en el instrumento

 - a) Saque el frasco del instrumento y téngalo a un área siguiendo prácticas de bioseguridad nivel 3 e instalaciones de prevención.
 - b) Invierta el frasco para mezclar el contenido
 - c) En una cámara de seguridad biológica, ventile el frasco para equilibrar la presión dentro del frasco con la presión atmosférica.
 - d) Extraiga una alícuota del frasco (aprox. 0,1 mL) para la preparación de tinciones (bacilos ácidosresistentes y Gram).
 - e) Inspeccione el frotis y comunique los resultados preliminares sólo después de la evaluación del frotis.

Si al final de la incubación de seis semanas un frasco negativo en el instrumento parece positivo a simple vista (es decir, con tapón hinchado o con sangre muy oscurecida), se debe efectuar un subcultivo, preparar una tinción de bacilos ácidosresistentes y considerar el frasco como presuntamente positivo, siempre que el resultado de la tinción sea positivo.

Subcultivo del frasco: El subcultivo debe realizarse en una cámara de seguridad biológica y el operario debe llevar puesta ropa de protección, incluyendo guantes y mascarilla. Antes de realizar el subcultivo, ponga el frasco en posición vertical y coloque un trozo de algodón empapado en alcohol sobre el tapón. A fin de dejar escapar cualquier presión positiva que se haya producido en el interior del frasco debido al crecimiento de contaminantes, introduzca una aguja estéril de calibre 25 (o menor), equipada con un filtro o tapón adecuado, a través del trozo de algodón empapado en alcohol y el tapón. La aguja

debe retirarse una vez reducida la presión y antes de tomar la muestra para el subcultivo. La inserción y retirada de la aguja deberá hacerse en línea recta, evitando los movimientos laterales que pueden causar daño permanente al tapón. **No vuelva a poner el capuchón a la aguja. Deseche las agujas y jeringas en un contenedor para material biológicamente peligroso resistente a pinchazos.**

CONTROL DE CALIDAD

En cada caja de medios se incluyen certificados de control de calidad.

Se recomienda que cada nuevo envío o lote de medio **BACTEC Myco/F Lytic** sea analizado utilizando los organismos de control ATCC identificados en el cuadro de abajo como el control positivo y un frasco sin inocular como el control negativo.

Organismo	Margen de tiempo para la detección (días)
<i>Mycobacterium intracellulare</i> , ATCC 13950	8 a 16
<i>Mycobacterium kansasii</i> , ATCC 12478	3 a 13
<i>Mycobacterium fortuitum</i> , ATCC 6841	1 a 3

Los frascos positivos deben inocularse utilizando una dilución a 1:100 de una suspensión a un 1 de turbidez McFarland cultivada en un medio sólido. Inocule el frasco con 0,1 mL del cultivo diluido. Deben registrarse y analizarse en el instrumento los frascos y un frasco de control sin inocular. Dentro del protocolo de análisis, el instrumento debe identificar el frasco inoculado como positivo. El frasco de control negativo debe permanecer negativo. Si no se obtienen los resultados previstos del control de calidad, no utilice el medio y contacte a su representante local de Becton Dickinson para obtener más ayuda.

Para obtener información acerca del control de calidad para el sistema **BACTEC**, refiérase al Manual del usuario (MA-0092).

INFORME DE RESULTADOS

Un frasco positivo después de su análisis en el instrumento puede ser confirmado mediante la preparación de un frotis ácidorresistente o una tinción de Gram. Un resultado positivo indica la presencia presunta de microorganismos viables dentro del frasco.

Si la tinción es positiva para bacilos ácidorresistentes, haga un subcultivo en medios sólidos y comunique como: positivo en el instrumento, positivo por la tinción de bacilos ácidorresistentes, identificación pendiente.

Si están presentes otros microorganismos además de bacilos ácidorresistentes, haga un subcultivo en medio de cultivo sólido y comunique como: positivo en el instrumento, negativo por la tinción de bacilos ácidorresistentes, identificación pendiente.

Si no hay microorganismos presentes en el frotis, haga un subcultivo en medios de cultivo sólidos, introduzca el frasco en el instrumento de nuevo como un frasco negativo en curso antes de transcurrir 5 horas desde haberlo sacado y deje completarse el protocolo de análisis. No hay resultado comunicable.

Realice subcultivos del frasco **BACTEC Myco/F Lytic** para pruebas de identificación y susceptibilidad.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La detección de especies micobacterianas en muestras de sangre depende del número de organismos presentes en la muestra, de los métodos de recogida de la muestra y de factores del paciente, tales como la presencia de síntomas y el tratamiento previo.

La ácidorresistencia de las micobacterias puede variar dependiendo de la cepa, la edad del cultivo y otras variables.

Se deben extremar las precauciones para evitar contaminar la muestra durante su extracción e inoculación en el frasco **BACTEC**. Un frasco contaminado dará una lectura positiva en el instrumento pero no indicará un resultado clínico pertinente. El usuario debe hacer esta determinación de la relevancia clínica en base a factores tales como los resultados de tinción, el tipo de organismo recuperado, la presencia del mismo organismo en varios cultivos, la historia clínica del paciente, etc.

Los frascos **BACTEC Myco/F Lytic** no son selectivos y favorecen el crecimiento de otros organismos aerobios además de micobacteria. Los frascos positivos pueden contener una o más especies de micobacterias y/u otras especies que no son micobacterias. De estar presentes, los organismos de crecimiento rápido pueden ocultar la detección de micobacterias de crecimiento más lento. Es necesario realizar subcultivos y procedimientos adicionales. Aún no se ha establecido la coherencia de la morfología microscópica en el medio de cultivo **BACTEC Myco/F Lytic**.

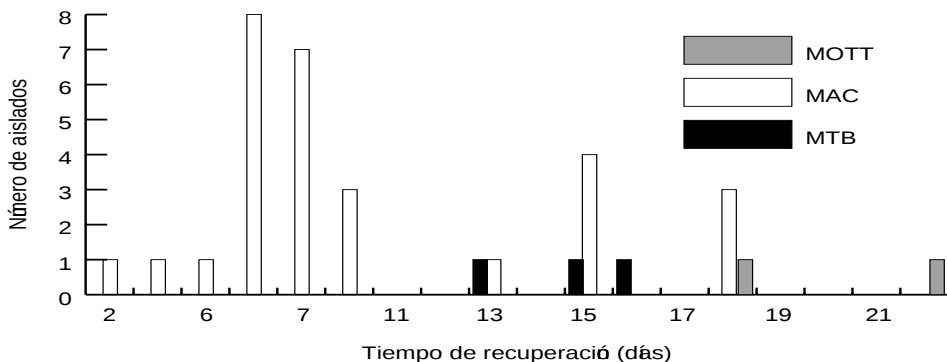
La recuperación óptima de los aislados se obtiene cuando se añaden 1 – 5 mL de sangre a cada frasco. El empleo de volúmenes menores o mayores puede afectar adversamente la recuperación, los tiempos de detección y/o la especificidad. La frecuencia de los casos de falsos positivos probablemente aumentará cuando el volumen de sangre supera los 5 mL.

La sangre puede contener sustancias antimicrobianas u otros inhibidores que pueden retrasar o impedir el crecimiento de microorganismos.

Los frascos **BACTEC Myco/F Lytic** se incuban a 37° C para excluir la recuperación potencial de micobacterias que requieran otras temperaturas de incubación (como por ejemplo, *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). La recuperación de dichos organismos requiere métodos de cultivo adicionales. Los aislados siguientes fueron detectados como positivos en el instrumento **BACTEC 9000MB** utilizando el medio de cultivo **BACTEC Myco/F Lytic** durante los estudios internos y/o estudios clínicos: *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. bovis*, *M. terrae*, *M. simiae*, *M. goodii*, *M. celatum*, *M. abscessus*, *M. malmoense*. En los estudios internos, *M. xenopi* y *M. szulgai* evidenciaron una recuperación insatisfactoria con el medio de cultivo **BACTEC Myco/F Lytic**.

RESULTADOS ESPERADOS

En la figura siguiente se muestra la distribución de las frecuencias de los tiempos de recuperación en muestras de sangre que han sido positivas por medio de cultivo **BACTEC Myco/F Lytic** en estudios clínicos.



CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El medio de cultivo **BACTEC Myco/F Lytic** fue evaluado con el instrumento **BACTEC 9000MB** en dos centros clínicos considerados como grandes hospitales universitarios de atención terciaria situados en áreas geográficamente diversas. Las poblaciones de estos lugares incluyeron pacientes con posible infección micobacteriana, pacientes inmunocomprometidos y pacientes trasplantados. El medio de cultivo **BACTEC Myco/F Lytic** fue comparado con el medio de cultivo **BACTEC 13A** para la recuperación y detección de micobacterias en muestras de sangre. Durante el estudio fueron analizadas 284 muestras de sangre que cumplieron las exigencias del análisis. El número total de aislados micobacterianos patógenos recuperados en el estudio fue 39 (Véase la TABLA 1). De estos aislados positivos, se recuperaron cinco (13%) en el medio de cultivo **BACTEC Myco/F Lytic** solamente y se recuperaron dos (5%) en el medio de cultivo **BACTEC 13A** solamente. Un total de 28 frascos **BACTEC Myco/F Lytic** que se llenaron con un volumen de muestra excesivo (entre 6 y 20 mL) durante la evaluación clínica no fueron incluidos en este estudio porque superaban el volumen de llenado máximo (incumplimiento de las exigencias del análisis). De estos 28 frascos **BACTEC Myco/F Lytic**, 16 (57%) fueron identificados como falsos positivos.

De las 284 muestras de sangre analizadas en el estudio clínico, se determinó que un frasco **BACTEC Myco/F Lytic** (0,4%) fue un falso positivo (positivo en el instrumento, negativo por el frotis y/o subcultivo). De los 38 frascos de **BACTEC Myco/F Lytic** positivos en el instrumento, se determinó que 1 (2,6%) fue falso positivo. Se determinó que la frecuencia de falsos negativos (negativos en el instrumento, positivos en el frotis y/o subcultivo) fue 0% en base a subcultivos terminales de $\geq 50\%$ de los frascos negativos. La frecuencia de contaminación encontrada en esta evaluación fue 0,9%.

TABLA 1: RESUMEN DE LOS AISLADOS RECUPERADOS POR EL MEDIO DE CULTIVO MYCO/F LYTIC EN ESTUDIOS CLÍNICOS

Organismo	Total de aislados	Sólo medio Myco/F Lytic	Sólo medio 13A	Ambos
Todas las micobacterias patógenas:				
<i>Mycobacterium avium</i>	30	3	1	26
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6	0	0	6
<i>Mycobacterium kansasii</i>	3	2	1	0
Total	39	5	2	32

BIBLOGRAFIA: Ver "References" en la página 4.



BACTEC Myco/F Lytic-dyrkningsglas Suplementeret Middlebrook 7H9 og hjerne/hjerte-infusions bouillon

Til brug med BACTEC 9000MB

Dansk

NAVN

BACTEC-dyrkningsglas type Myco/F Lytic (en modificeret Middlebrook 7H9-bouillon) nærer væksten og detektionen af mycobakterier.

TILSIGTET BRUG

Når **BACTEC Myco/F Lytic** bruges sammen med **BACTEC 9000MB**-instrumentet er det et ikke-selektivt dyrkningsmedium til kvalitativ dyrkning og opsamling af mycobakterier fra blodprøver.

RESUMÉ OG FORKLARING AF TESTEN

Siden midten af 1980'erne og spredningen af AIDS-epidemien er forekomsten af blodforgiftning pga. mycobakterier steget. *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) og mycobakterier, der ikke er tuberkulose (MOTT) — især *Mycobacterium avium* complex (MAC) — er genopblusset. Fra 1985 til 1992 steg antallet af rapporterede MTB-tilfælde med 18%. Mellem 1981 og 1987 har overvågning af AIDS-patienter vist, at 5,5% af AIDS-patienterne havde disseminerede, ikke-tuberkulose mycobakterieinfektioner, f.eks. MAC. I 1990 havde de voksende tilfælde af disseminerede, ikke-tuberkulose mycobakterieinfektioner resulteret i en kumulativ forekomst på 7,6%.

Centrene for sygdomskontrol og -forebyggelse (CDC) har anbefalet, at der skal gøres alt, for at laboratorierne kan benytte de hurtigste metoder til at diagnosticere mycobakterier. Disse anbefalinger omfatter brugen af flydende medier til dyrkning af mycobakterier.^{1,2,3}

BACTEC 9000MB-systemet er udviklet til hurtig detektering af mycobakterier i kliniske prøver. **BACTEC Myco/F Lytic**-dyrkningsmediet er en Middlebrook 7H9 og hjerne/hjerte-infusionsbouillon til opsamling af mycobakterier fra blodprøver. Der er foretaget specifikke modifikationer for at forøge vækst og opsamling af mycobakterier. Blandt disse modifikationer er ferroammoniumcitrat, der fungerer som jærnkilde for specifikke stammer af mycobakterier, saponin, der er et blodlyserende middel, og specifikke proteiner og sukkerstoffer, der fungerer som næringssupplement. Hvert dyrkningsglas indeholder en sensor, der kan detektere det fald i iltkoncentrationen i glasset, der skyldes mikroorganismers stofskifte og vækst. Sensoren overvåges af **BACTEC 9000MB**-systemet for at detektere en stigning i fluorescensen, der er proportional med faldet i iltindholdet. En positiv aflæsning angiver den formodede tilstedeværelse af levedygtige mikroorganismer i dyrkningsglasset.

PROCEDURENS PRINCIPPER

BACTEC Myco/F Lytic-dyrkningsglasset er beregnet til hurtig detektering af mycobakterier i blod. Blodprøver er inokuleret i **BACTEC Myco/F Lytic**-dyrkningsglasset enten med en sprøjte eller ved direkte prøvetagning med en nål og en slange. Dyrkningsglasset placeres i **BACTEC 9000MB**-systemet og inkuberes kontinuerligt ved 37°C med bevægelse hvert 10. minut for at få den maksimale opsamling. Hvert dyrkningsglas indeholder en sensor, der kan detektere det fald i iltkoncentrationen i glasset, der skyldes mikroorganismers stofskifte og vækst. Sensoren overvåges af **BACTEC 9000MB**-systemet hvert 10. minut. En analyse af, hvor hurtigt iltkoncentrationen falder målt ud fra en forøget fluorescens, sætter **BACTEC** fluorescent series-instrumentet i stand til at afgøre, om glasset er positivt. En positiv aflæsning angiver den formodede tilstedeværelse af levedygtige mikroorganismer i dyrkningsglasset. Detektionen er begrænset til de mikroorganismer, der kan vokse i det pågældende medium ved 37°C. Mediet er ikke selektivt og vil nære væksten af andre aerobe organismer inkl. gær, svampe og bakterier, der kan påvirke opsamlingen af mycobakterier, hvis de er til stede. Dyrkningsglas, der forbliver negative i 42 dage, og som ikke viser synlige tegn på at være positive, skal fjernes fra instrumentet og steriliseres, inden de smides ud.

REAGENSER

Hvert **BACTEC Myco/F Lytic**-dyrkningsglas indeholder følgende reaktive ingredienser inden behandling:

Ingrediensoversigt

Behandlet vand	.40 mL q.s.
7H9 Middlebrook-bouillon uden fosfatsalte	.0,12% w/v
Hjerne/hjerte-infusion	.0,5% w/v
Kasein-hydrolysat	.0,10% w/v
Supplement H	.0,10% w/v
Inositol	.0,05% w/v
Glycerol	.0,10% w/v
Natriumpolyanetholsulfonat	.0,025% w/v
Tween 80	.0,0025% w/v
Pyridoxal HCl	.0,0001% w/v
Ferroammoniumcitrat	.0,006% w/v
Kaliumfosfat	.0,024% w/v
Saponin	.0,24% w/v
Skumdæpende middel	.0,01% w/v

Dette **BACTEC**-medium leveres med CO₂ og O₂ tilsat.

Sammensætningen kan være blevet justeret for at leve op til bestemte ydelseskrav.

BACTEC Myco/F Lytic-mediet kræver ikke yderligere tilsætning af supplement. Hvert 40-mL-glas **BACTEC Myco/F Lytic** er klar til brug, når det modtages. Mediet skal ved modtagelsen være klart og lyst rødt.

ADVARSLER

De klargjorte dyrkningsglas er til diagnostisk brug *in vitro*.

Dette produkt indeholder tørt naturgummi.

POTENTIELT SMITSOMME PRØVER. Overhold de "universelle forholdsregler"^{4,5} og institutionelle retningslinier ved håndtering og bortskaffelse af smittet materiale.

Der kan være mere end det anbefalede maksimum på 5 mL prøve i **BACTEC Myco/F Lytic**-glassene. Derfor bør man holde øje med det påfyldte volumen.

Biosikkerhedsniveau 2-praksis samt opbevaringsudstyr og -faciliteter anbefales til klargøring af syrefaste farvninger og dyrkning af kliniske prøver. Ved aktiviteter, der involverer dyrkning og håndtering af *Mycobacterium tuberculosis* eller *Mycobacterium bovis* dyrket i kultur, anbefales praksis samt opbevaringsudstyr og -faciliteter på biosikkerhedsniveau ^{5,6,7}

Hvert dyrkningsglas skal inden brug undersøges for tegn på kontaminering såsom uklarheder, bulnende eller indsunken membran eller lækage. **MÅ IKKE BRUGES**, hvis et dyrkningsglas udviser tegn på kontaminering, beskadigelse eller lækage. Kontaminering af glasset er ikke nødvendigvis umiddelbart synlig. Et kontamineret glas kan indeholde et overtryk. Hvis et kontamineret glas bruges til direkte prøvetagning, er der risiko for, at luft eller kontamineret dyrkningsmedium føres ind i patientens vene. I sjældne tilfælde kan halsen på dyrkningsglasset være revnet, så halsen knækker ved fjernelse af hæften eller ved håndtering. I sjældne tilfælde kan et dyrkningsglas være utilstrækkeligt forseglet. I begge tilfælde kan glassets indhold løbe ud — især hvis det vendes på hovedet.

For at minimere risikoen for udslip når en prøve inokuleres i dyrkningsglasset med en sprøjte, skal man bruge sprøjter med **LUER-LOK**-spidser. Der skal bruges en et-hånds-inokuleringsteknik og en passende glasholder, for at forhindre at man risikerer at stikke sig på kanylen.

Sterilisér alle inokulerede **BACTEC Myco/F Lytic**-dyrkningsglas vha. autoklaving, inden de smides ud.

Inden man udtager prøver fra positive dyrkningsglas til videredykning eller farvning etc.: er det nødvendigt at frigøre de luftarter, der ofte dannes ved mikroorganismernes stofskifte. Prøvetagning skal foretages i et biologisk sikkerhedsskab, og man skal bære passende beskyttelsestøj inkl. handske og maske. Se procedureafsnittet for at få mere at vide om videredykning.

LÆKKENDE ELLER SKÅREDE GLAS

FORSIGTIG: Da et lækende eller skåret glas, der er blevet inokuleret, kan udsende en aerosol af mycobakterier, inkl. *M. tuberculosis*, skal man træffe passende foranstaltninger ved håndtering heraf.

Hvis et inokuleret dyrkningsglas lækker eller går i stykker ved et uheld under indsamling eller transport, skal man benytte den praksis, der er gældende i ens laboratorium, til brug ved spild af mycobakterier. Man skal som et minimum benytte sig af de "universelle forholdsregler". Glassene skal bortskaffes på passende måde.

I det sjældne tilfælde, hvor indholdet af et lækende glas er løbet ud i selve instrumentet, eller hvis et glas går i stykker ved et uheld, skal man straks slukke for instrumentet. Evakuer det berørte område. Kontakt sikkerhedschefen. Fastslå nødvendigheden af at slukke for eller foretage ændringer af indstillingerne af de enheder, der behandler luften i det berørte område. Vend ikke tilbage til området, for alle potentielt skadelige aerosoler har lagt sig eller er blevet fjernet vha. passende ventilation. Becton, Dickinson og Company skal orienteres ved at ringe på +1-800-544-7434 i USA eller ved at kontakte den lokale Becton Dickinson-repræsentant. CDC har udsendt retningslinier for, hvordan man skal håndtere mycobakteriel kontaminering, der skyldes skårede dyrkningsglas eller itugåede bouillonopløsninger.^{5,6,7}

OPBEVARINGSINSTRUKTIONER

Opbevares tørt ved 2–25°C og ikke i direkte sollys.

INDSAMLING AF PRØVER

BEMÆRK: Det anbefales, at det rette personale vurderer denne procedure, inden mediet anvendes, for at sikre at der bliver brugt de rette teknikker til prøveindsamling som beskrevet i dette afsnit.

Prøverne skal indsamles vha. sterile teknikker for at reducere risikoen for kontaminering. Man kan dyrke blodvolumener på 1,0 til 5,0 mL. Det anbefales, at prøven inokuleres med det samme. Det er mest almindeligt at bruge en sprøjte med **LUER-LOK**-spids til at udtage prøven. Man kan bruge en **VACUTAINER**-kanylenholder og et **VACUTAINER**-blodopsamlingsæt, et **VACUTAINER SAFETY-LOK**-blodopsamlingsæt eller et andet blodopsamlingsæt med vinger. Hvis man bruger en kanylen og en slange (direkte prøvetagning), skal man omhyggeligt se efter i hvilken retning, blodstrømmen går, når man påbegynder prøvetagningen. Inden inokuleringen skal man notere på etiketten, hvor meget medium, der er i glasset, så man har et udgangspunkt for indsamlingen af prøven. Undertrykket i flasken vil almindeligvis udsuge 5 mL, så brugeren skal holde øje med det opsamlende volumen vha. 5-mL-stregen på dyrkningsglassets etikette. Når de ønskede 1–5 mL er blevet udtaget, skal blodstrømmen afbrydes ved af bøje slangen og fjerne nålen fra **BACTEC**-glasset. **BACTEC**-glasset skal transporteres til laboratoriet så hurtigt som muligt og sættes i **BACTEC**-instrumentet. Et **VACUTAINER**-rør med gul top, der indeholder SPS, kan også bruges til at indsamle blodprøven fra patienten. Røret skal transporteres til laboratoriet så hurtigt som muligt, så blodet kan overføres til **BACTEC**-dyrkningsglasset.

PROCEDURE

Medfølgende materialer: **BACTEC Myco/F Lytic**-dyrkningsglas

Nødvendige materialer, der ikke medfølger: Biologisk sikkerhedsskab, autoklave, aftræk, desinfektionsmiddel til mycobakterier, 70% isopropylalkohol, kvalitetskontrolorganismer (*Mycobacterium intracellulare*, ATCC 13950; *Mycobacterium kansasii*, ATCC 12478 og *Mycobacterium fortuitum*, ATCC 6841), mikroskop og materialer til farvning af objektglas og glas til videredyrking.

FORSIGTIG: BACTEC Myco/F Lytic-glas skal bruges sammen med software-version 3.6 eller nyere.

Inokulering af BACTEC Myco/F Lytic-dyrkningsglas

1. Fjern hættten på BACTEC-glasset, og kontrollér dyrkningsglasset for revner, lækage, kontaminering, uklarheder og bulnende eller indsunken membran. MÅ IKKE BRUGES, hvis der observeres nogen defekter.
2. Mærk dyrkningsglasset, så prøven kan identificeres, og markér på glassets etikette, hvor meget medium, der er i glasset.
3. Tør membranen af med sprit inden inokulering. Injicér sterilt 1-5 mL prøve pr. glas med en sprøjte eller ved direkte prøvetagning vha. skalaen på glasetiketten (se afsnittet om procedurernes begrænsninger). Inokulerede dyrkningsglas skal placeres i BACTEC 9000MB-instrumentet så hurtigt som muligt til inkubation og registrering.
4. Dyrkningsglas, der er sat i instrumentet, testes automatisk, så længe testen varer. Positive dyrkningsglas identificeres af BACTEC Fluorescent-systemet (se brugsanvisningen til BACTEC, MA-0092). Sensoren i glasset ser ikke anderledes ud i positive i forhold til negative dyrkningsglas, men BACTEC Fluorescent-systemet kan detektere en forskel i fluorescensen.
5. Positive glas skal videredyrkes, og der skal klargøres et passende udstrykningspræparat. Alle positive glas skal håndteres i henhold til praksis og med opbevaringsfaciliteter på biosikkerhedsniveau III.
Behandling af et glas som instrumentet har identificeret som positivt
 - a) Fjern glasset fra instrumentet, og transportér det til et område, der anvender procedurer og har opbevaringsfaciliteter i overensstemmelse med biosikkerhedsniveau III.
 - b) Vend glasset for at blande indholdet.
 - c) Udlign trykket i glasset i et biologisk sikkerhedsskab.
 - d) Udtag en prøve fra glasset (ca. 0,1 mL) til farvning (syrefast og Gram).
 - e) Se på opstrøget, og rapportér først de foreløbige resultater, når opstrøget er evalueret.

Hvis der efter seks ugers inkubering er et instrumentnegativt glas, der ser positivt ud (bulnende membran eller meget mørkt blod), skal det videredyrkes, farves for syrefaste bakterier og behandles som en formodet positiv, forudsat at farvningen giver et positivt resultat.

Videredyrking: Videredyrking skal foretages i et biologisk sikkerhedsskab, og man skal bære passende beklædning, inkl. handsker og maske. Inden videredyrking skal glasset placeres lodret, og en serviet med alkohol skal placeres over membranen. For at udligne et eventuelt overtryk i glasset, der kan skyldes vækst af mulige kontaminanter, skal man stikke en steril kanylen (størrelse 25 G eller mindre), der er forsynet med et passende filter eller tampon, gennem den alkoholvædede serviet og membranen. Kanylen skal fjernes, når trykket er udlignet, og inden der udtages prøver til videredyrking. Indsætningen og fjernelsen af kanylen skal foretages med en lige bevægelse uden drejende bevægelser, der vil kunne beskadige membranen. Sæt ikke hættten på kanylen igen. Bortskaf kanyler og sprøjter i en beholder til bioaffald, som nålene ikke kan stikke igennem.

KVALITETSKONTROL

Kvalitetskontrolcertifikater er vedlagt hver pakke med medium.

Det anbefales, at hver ny levering eller parti BACTEC Myco/F-Lytic-dyrkningsmedium testes med ATCC-kontrolorganismerne, der er identificeret herunder, som positiv kontrol og et ikke-inokuleret glas som negativ kontrol.

Organisme	Omr de af tid-til-visning (dage)
<i>Mycobacterium intracellulare</i> , ATCC 13950	8 til 16
<i>Mycobacterium kansasii</i> , ATCC 12478	3 til 13
<i>Mycobacterium fortuitum</i> , ATCC 6841	1 til 3

Det positive glas skal inokuleres vha. en 1:100-opløsning af en #1 McFarland-opløsning dyrket på fast medium. Inokulér glasset med 0,1 mL af den fortyndede opløsning. Disse dyrkningsglas og en ikke-inokuleret kontrol sættes i instrumentet og undersøges. Instrumentet skal detektere det inokulerede dyrkningsglas som værende positivt inden for undersøgelsens forløb. Den negative kontrol skal forblive negativ. Hvis kvalitetskontrollen ikke giver de forventede resultater, skal man ikke bruge mediet, og man skal kontakte Becton Dickinsons tekniske serviceafdeling (kun i USA: +1-800-638-8663) eller den lokale Becton Dickinson-repræsentant for at få hjælp.

Se brugsanvisningen, (MA-0092), for at få oplysninger om kvalitetskontrol af BACTEC 9000MB-systemet.

RAPPORTERING AF RESULTATER

Et instrumentpositivt glas kan verificeres ved et syrefast opstrøg eller Gram-farvning. En positiv aflæsning angiver den formodede tilstedeværelse af lev-edygtige mikroorganismer i dyrkningsglasset.

Hvis bakterierne er syrefaste, skal de videredyrkes på fast medium og rapporteres som: Instrument-positiv, syrefast-positiv, afventer identifikation.

Hvis der er andre mikroorganismer end syrefaste bakterier til stede, skal disse videredyrkes på fast medium og rapporteres som: Instrument-positiv, syrefast-negativ, afventer identifikation.

Hvis der ikke er mikroorganismer i udstrykningerne, skal de videredyrkes på fast medium, og man skal inden for 5 timer efter fjernelsen sætte glasset tilbage i instrumentet som et igangværende negativt glas og lade det gennemføre undersøgelsesprotokollen. Intet rapporterbart resultat.

Foretag videredyrking fra BACTEC Myco/F Lytic-glasset for at identificere organismerne og foretage en følsomhedsundersøgelse.

PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER

Detektion af mycobakteriearter i blodprøver afhænger af antallet af organismer i prøven, de anvendte metoder til indsamling af prøverne og patientfaktorer såsom symptomer og tidligere behandling.

Mycobakteriers syrefasthed kan variere alt afhængig af stammen, kulturens alder og andre variabler.

Man skal være omhyggelig med at forhindre, at prøven kontamineres under prøvetagningen og inokuleringen i BACTEC-glasset. Et kontamineret glas vil give en positiv aflæsning på instrumentet, men vil ikke angive et klinisk relevant resultat. En sådan identifikation skal foretages af brugeren på grundlag af faktorer såsom resultatet af farvning, typen af den isolerede organisme, tilstedeværelsen af den samme organisme i flere kulturer, sygdomsforløbet etc.

BACTEC Myco/F Lytic-glas er ikke selektive og vil nære væksten af andre mikroorganismer end mycobakterier. Positive glas kan indeholde en eller flere mycobakteriearter og/eller andre ikke-mycobakteriearter. Hvis der er hurtigt voksende organismer til stede, kan de forhindre, at langsomtvoksende mycobakterier bliver detekteret. Videredyrking og yderligere procedurer er påkrævede. Der er ikke eftervist konsistent, mikroskopisk morfologi i BACTEC Myco/F Lytic.

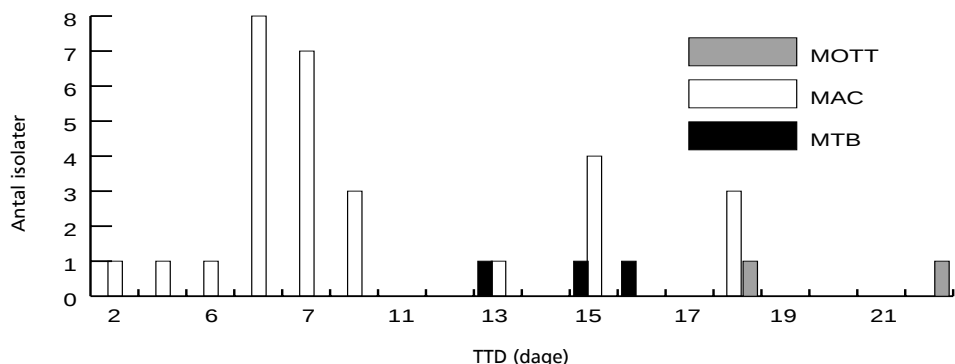
Man får den bedste opsamlings af isolaterne, hvis hvert glas tilsættes 1-5 mL blod. Brug af større eller mindre mængder kan påvirke opsamlings, detektionstiden og/eller specificiteten negativt. Forekomsten af falske positive vil højst sandsynligt stige, når blodvolumenet er over 5 mL.

Blod kan indeholde antimikrobielle stoffer eller andre inhibitorer, der kan forsinke eller forhindre væksten af mikroorganismer.

BACTEC Myco/F Lytic-glas inkuberes ved 37°C, hvilket potentielt udelukker opsamlingen af mycobakterier, der kræver andre inkuberingstemperaturer (f.eks. *M. marinum*, *M. ulcerans* og *M. haemophilum*). Opsamlingen af sådanne organismer kræver yderligere dyrkningsmetoder. Følgende isolater blev dømt positive af **BACTEC 9000MB**-instrumentet ved brug af **BACTEC Myco/F Lytic**-medium ved de interne studier og/eller de kliniske undersøgelser. *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. bovis*, *M. terrae*, *M. simiae*, *M. gordonae*, *M. celatum*, *M. abscessus*, *M. malmoense*. Ved de interne studier fremviste *M. xenopi* og *M. szulgai* utilstrækkelig opsamling med **BACTEC Myco/F Lytic**-dyrkningsmediet.

FORVENTEDE RESULTATER

Hyppigheden af opsamlingstider (TTD) for kliniske forsøg med blodprøver, der er positive i **BACTEC Myco/F Lytic**-dyrkningsmediet, er illustreret i følgende figur.



YDELSSEKARAKTERISTIKA

BACTEC Myco/F Lytic-dyrkningsmediet blev evalueret med **BACTEC 9000MB**-instrumentet på to kliniske lokaliteter, der anses for store undervisningshospitalet med forskellig geografisk beliggenhed. Blandt de undersøgte var patienter med formodet mycobakterieinfektion, immunsvækkede patienter og transplantationspatienter. **BACTEC Myco/F Lytic**-dyrkningsmedium blev sammenlignet med **BACTEC 13A**-dyrkningsmediet til opsamling og detektion af mycobakterier fra blodprøver. Der blev undersøgt i alt 284 blodprøver i løbet af undersøgelsen. Det samlede antal patogene mycobakterieisolater, der blev opsamlet i løbet af undersøgelsen, var 39 (se TABEL 1). Ud af disse positive blev fem (13%) kun opsamlet i **BACTEC Myco/F Lytic**-dyrkningsmedium, og to (5%) blev kun opsamlet i **BACTEC 13A**-dyrkningsmedium. I alt 28 **BACTEC Myco/F Lytic**-glas blev under den kliniske evaluering overfyldt med prøve (mellem 6 og 20 mL) og blev ikke medtaget i denne undersøgelse, da de var over det maksimale påfyldningsvolumen (ikke kompatibel). Ud af disse 28 **BACTEC Myco/F Lytic**-glas blev 16 (57%) identificeret som falske positive.

Ud af de 284 blodprøver, der blev testet i den kliniske undersøgelse, blev ét **BACTEC Myco/F Lytic**-glas (0,4%) bestemt til at være falsk positivt (instrumentpositiv, udstryknings- og/eller videredykningsnegativ). Ud af de 38 instrumentpositive **Myco/F Lytic**-glas var der en (2,6%) falsk positiv. Forekomsten af falske negative (instrumentnegative, udstryknings- og/eller videredykningspositive) var 0% baseret på terminale videredykede kulturer af ca. ≥ 50% af de instrumentnegative glas. Forekomsten af kontaminering ved denne evaluering var 0,9%.

TABEL 1: RESUME AF ISOLATOPSAMLING I MYCO/F LYTIC-DYRKNINGSMEDIE UNDER KLINISKE FORSØG

Organisme	Isolater i alt	Kun for Myco/F-lytisk substrat	Kun for 13A substrat	Begge dele
Alle patogene mycobacteria:				
<i>Mycobacterium avium</i>	30	3	1	26
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6	0	0	6
<i>Mycobacterium kansasii</i>	3	2	1	0
I alt	39	5	2	32

REFERENCER: Se "References" på side 4.

BD Frascos de Cultura Myco/F- Lytic BACTEC

Middlebrook 7H9 Suplementado e Meio Líquido de Infusão

Cérebro Coração

Para utiliza o com o BACTEC 9000MB

Português

NOME

Os frascos de cultura **BACTEC** do tipo **Myco/F Lytic** (um meio líquido Middlebrook 7H9 modificado) sustentam o crescimento e a detecção de micobactérias.

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

Quando o Meio **Myco/F Lytic BACTEC** é utilizado com o instrumento 9000MB **BACTEC**, funciona como um meio de cultura não selectivo para a cultura e o isolamento qualitativo de micobactérias a partir de amostras de sangue.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

Desde os meados dos anos 80 e da disseminação da epidemia de SIDA, a incidência de septicémia provocada por micobactérias oportunistas tem aumentado. O *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) e outras micobactérias para além da tuberculose (MOTT), especialmente o complexo do *Mycobacterium avium*, têm vindo a ressurgir. De 1985 para 1992, o número de casos de MTB notificados aumentou 18%. Entre 1981 e 1987, a vigilância dos casos de

SIDA indicou que 5,5% dos doentes com SIDA apresentavam infecções micobacterianas não tuberculosas disseminadas, por ex. MAC. Em 1990, o aumento dos casos de infecções micobacterianas não tuberculosas disseminadas resultou numa incidência cumulativa de 7,6%.

O Centro de Controlo e Prevenção de Doenças (Centers for Disease Control and Prevention) (CDC) recomendou aos laboratórios que fossem efectuados todos os esforços no sentido de utilizarem os métodos mais rápidos disponíveis para o teste de diagnóstico de micobactérias. Estas recomendações incluem a utilização de um meio líquido e de um meio sólido para a cultura de micobactérias.^{1,2,3}

O Sistema 9000MB BACTEC foi concebido para a detecção rápida de micobactérias em amostras clínicas. O meio de Cultura Myco/F Lytic BACTEC é uma formulação de meio líquido de Middlebrook 7H9 e de Infusão Cérebro Coração para o isolamento de micobactérias a partir de amostras de sangue. Foram efectuadas modificações específicas para potenciar o crescimento e o isolamento de micobactérias. Estas modificações incluem o citrato de amónia férrico para fornecer uma fonte de ferro para estirpes específicas de micobactérias, a adição de saponina como um agente de lise de sangue e a adição de proteínas e açúcares específicos para fornecerem suplementos nutritivos. Cada frasco contém um sensor capaz de detectar diminuições na concentração de oxigénio no frasco, resultantes do metabolismo e do crescimento dos microorganismos. O sensor é monitorizado pelo Sistema 9000MB BACTEC relativamente ao aumento da fluorescência, o qual é proporcional à diminuição do oxigénio. Uma determinação positiva indica a presença presumtiva de microorganismos viáveis no frasco.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O frasco de cultura Myco/F Lytic BACTEC foi concebido para a detecção rápida de micobactérias no sangue. As amostras de sangue são inoculadas para dentro do frasco Myco/F Lytic BACTEC com uma seringa ou através da colheita directa com uma agulha e tubagem. O frasco é colocado dentro do Sistema 9000MB BACTEC e é submetido a uma incubação contínua a 37°C, sendo o frasco agitado a cada dez minutos para obter um isolamento óptimo. Cada frasco contém um sensor capaz de detectar diminuições na concentração de oxigénio no frasco, resultantes do metabolismo e do crescimento dos microorganismos. O sensor é monitorizado pelo Sistema 9000MB BACTEC a cada dez minutos. A análise da velocidade da diminuição do oxigénio, medida pelo aumento da fluorescência, permite ao instrumento da série fluorescente BACTEC determinar se a leitura do frasco é positiva. Uma determinação positiva indica a presença presumtiva de microorganismos viáveis no frasco. A detecção está limitada aos microorganismos que crescerão no meio a 37°C. O meio não é selectivo e sustentará o crescimento de outros organismos aeróbios, incluindo leveduras, fungos e bactérias, os quais, se estiverem presentes, podem interferir com o isolamento de micobactérias. Os frascos de cultura que se mantenham negativos durante 42 dias e que não apresentem sinal visível de positividade são retirados do instrumento e esterilizados antes de serem eliminados.

REAGENTES

Antes do processamento, cada frasco de cultura Myco/F Lytic BACTEC contém os seguintes ingredientes activos:

Lista de Ingredientes

Água Processada	40 mL qs
Base de Meio Líquido Middlebrook 7H9 sem sais de fosfato	0,12% p/v
Infusão Cérebro Coração	0,5% p/v
Hidrolisado de Caseína	0,10% p/v
Suplemento H	0,10% p/v
Inositol	0,05% p/v
Glicerol	0,10% p/v
Polianetolsulfonato de Sódio	0,025% p/v
Tween 80	0,0025% p/v
HCl Piridoxal	0,0001% p/v
Citrato de Amónia Férrico	0,006% p/v
Fosfato de Potássio	0,024% p/v
Saponina	0,24% p/v
Anti-espuma	0,01% p/v

Este meio BACTEC é distribuído com CO₂ e O₂ adicionados.

A composição pode ter sido ajustada para cumprir exigências de desempenho específicas.

O meio Myco/F Lytic BACTEC não necessita da adição de suplemento. Quando recebido, cada frasco de 40 mL de Myco/F Lytic BACTEC está pronto a ser utilizado. Após a recepção, os meios devem ser transparentes e com cor âmbar suave.

ADVERTÊNCIAS

Os frascos de cultura preparados destinam-se a ser utilizados no diagnóstico *in vitro*.

Este Produto Contém Borracha Natural Desidratada.

AMOSTRA DE TESTE POTENCIALMENTE INFECCIOSA. Cumpra as "Precauções Universais"^{4,5} e as linhas de orientação da instituição, durante a manipulação e eliminação de materiais infecciosos.

Os frascos Myco/F Lytic BACTEC poderão conter mais do que o volume máximo recomendado da amostra de 5 mL, devendo monitorizado do volume de enchimento.

Para a preparação de colorações ácidas rápidas e para a cultura de amostras clínicas, é recomendada a adopção de práticas, bem como a utilização de equipamentos de contenção e instalações de Nível 2 de Segurança Biológica. Para as actividades que envolvam a propagação e a manipulação do *Mycobacterium tuberculosis* ou do *Mycobacterium bovis* que tenham crescido em cultura, é recomendada a adopção de práticas, bem como a utilização de equipamentos de contenção e instalações do Nível 3 de Segurança Biológica.^{5,6,7}

Antes de ser utilizado, cada frasco deve ser examinado relativamente a sinais de contaminação, tais como turvação, abaulamento ou depressão do septo, ou fugas. **NÃO UTILIZE** um frasco que apresente sinais de contaminação, fugas ou danos. A contaminação do frasco pode não ser imediatamente aparente. Um frasco contaminado pode conter uma pressão positiva. Se for utilizado um frasco contaminado para colheita directa, poderá haver um refluxo de gás ou do meio de cultura contaminado para dentro da veia do doente. Em raras ocasiões, o gargalo do frasco de vidro poderá estar rachado e partir-se durante a remoção da tampa de encaixe, ou durante a manipulação. Igualmente, em raras ocasiões, um frasco poderá não se encontrar suficientemente selado. Em ambos os casos, poderá ocorrer uma fuga ou o derrame do conteúdo do frasco, especialmente se o frasco for invertido.

Para minimizar a possibilidade de fugas durante a inoculação com seringa da amostra dentro dos frascos de cultura, utilize seringas com pontas da marca LUER-LOK. Para evitar picadas de agulha acidentais, deverá utilizar uma técnica de inoculação com uma mão e um suporte de frasco apropriado.

Antes de eliminar, esterilize todos os frascos Myco/F Lytic BACTEC inoculados em autoclave.

Antes de efectuar a colheita a partir de frascos de cultura positivos para repicagem ou coloração, etc.: É necessário libertar o gás frequentemente produzido devido ao metabolismo microbiano. A colheita de amostras deverá ser efectuada numa câmara de segurança biológica e utilizando vestuário protector, incluindo luvas e máscaras. Consulte a Secção do Procedimento para obter mais informações sobre a repicagem.

FRASCOS COM FUGAS OU PARTIDOS

CUIDADO: Devido ao facto de um frasco inoculado que apresente fugas ou se encontre partido poder produzir aerossóis de micobactérias incluindo *M. tuberculosis* ou outras bactérias, o frasco deverá ser manipulado de forma apropriada.

Se ocorrerem fugas de um frasco inoculado, ou se este se partir acidentalmente durante a colheita ou o transporte, utilize o procedimento estabelecido na sua instituição para lidar com derrames de micobactérias. No mínimo, devem ser utilizadas as "Precauções Universais". Os frascos devem ser eliminados de uma forma apropriada.

Nas raras ocasiões em que ocorra uma fuga de um frasco inoculado para dentro do instrumento, ou se algum frasco se partir acidentalmente, desligue imediatamente o instrumento. Abandone a área afectada. Contacte a(s) Autoridade(s) de Segurança ou de Controlo de Infecções. Determine se é necessário desligar ou modificar os parâmetros das unidades de tratamento do ar na área afectada. Não regresse à área afectada até os potenciais aerossóis terem assentado ou sido removidos através de uma ventilação apropriada. A Becton, Dickinson and Company deverá ser notificada através do número de telefone 1-800-544-7434 dos EUA ou contactando com o representante apropriado da Becton Dickinson na sua área. Foram publicadas pelo CDC linhas orientadoras para o tratamento adequado de contaminações acidentais por micobactérias, resultantes da quebra de tubos de cultura ou de suspensões de meio líquido.^{5,6,7}

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Armazene entre 2° e 25°C, num local seco e sem luz solar directa.

COLHEITA DE AMOSTRAS

NOTA: Antes da utilização do meio, recomenda-se que este procedimento seja revisto por pessoal apropriado para que possam ser asseguradas as técnicas de colheita de amostra correctas, descritas nesta secção.

A colheita de amostras deve ser efectuada utilizando uma técnica estéril, para diminuir a possibilidade de contaminação. O intervalo do volume de sangue que pode ser cultivado é de 1,0 mL a 5,0 mL. Recomenda-se que a inoculação da amostra seja efectuada na cabeça do doente. Para a colheita da amostra, é utilizada frequentemente uma seringa com uma ponta da marca **LUER-LOK**. Se for apropriado, podem ser utilizados um Suporte de Agulha da marca **VACUTAINER** e um Conjunto de Colheita de Sangue da marca **VACUTAINER**, um Conjunto de Colheita de Sangue **SAFETY-LOK VACUTAINER** ou outro conjunto de "borboleta" com tubagem. Se utilizar uma agulha e tubagem (colheita directa), observe cuidadosamente a direcção do fluxo do sangue quando iniciar a colheita da amostra. Antes da inoculação, o volume do meio deverá ser marcado no rótulo com uma caneta ou marcador para indicar o ponto de início da colheita da amostra. O vácuo no frasco excederá habitualmente os 5 mL, devendo por isso o utilizador monitorizar o volume colhido através das marcas da graduação de 5 mL existentes no rótulo do frasco. Quando tiver sido colhido o volume de sangue pretendido (1 a 5 mL), o fluxo deverá ser interrompido comprimindo a tubagem e removendo a agulha do frasco **BACTEC**. O frasco **BACTEC** inoculado deverá ser transportado o mais rapidamente possível para o laboratório e colocado no instrumento **BACTEC**. Para efectuar a colheita da amostra de sangue do doente, também poderá ser utilizado um Tubo da Marca **VACUTAINER** com tampa amarela, contendo SP5. O tubo deverá ser transportado o mais rapidamente possível para o laboratório, para a amostra ser transferida para dentro do frasco de cultura **BACTEC**.

PROCEDIMENTO

Materiais Fornecidos: Frascos de Cultura Myco/F Lytic **BACTEC**.

Materiais Necessários Mas Não Fornecidos: Câmara de Segurança Biológica, Autoclave, unidade de ventilação, desinfectante micobactericida, álcool isopropílico a 70%, Organismos de Controlo de Qualidade (*Mycobacterium intracellulare*, ATCC 13950; *Mycobacterium kansasii*, ATCC 12478 e *Mycobacterium fortuitum*, ATCC 6841), microscópio e materiais para a coloração de lâminas e para a repicagem dos frascos.

CUIDADO: Os frascos Myco/F Lytic **BACTEC** deverão ser utilizados com um software da versão 3.6 ou superior do instrumento.

Inoculação dos Frascos de Cultura Myco/F Lytic **BACTEC**

1. Retire a tampa de encaixe do topo do frasco **BACTEC** e inspecione-o relativamente à existência de rachas, fugas, contaminação, turvação excessiva e abaulamento ou irregularidades do septo. Se for detectado algum defeito, NÃO UTILIZAR.
2. Coloque a identificação da amostra e marque a linha de volume do meio no rótulo do frasco de cultura.
3. Antes de inocular, limpe o septo com álcool. Com a ajuda das linhas de graduação no rótulo do frasco, injecte de forma asséptica com uma seringa ou colher directamente um máximo de 1 a 5 mL de amostra por frasco (consulte a secção sobre as Limitações do Procedimento). Os frascos inoculados devem ser colocados, o mais rapidamente possível, dentro do instrumento 9000MB **BACTEC** para a incubação e monitorização.
4. Os frascos introduzidos dentro dos instrumentos serão automaticamente testados durante o período de duração do protocolo do teste. Os frascos positivos serão identificados pelo Sistema Fluorescente **BACTEC** (consulte o Manual do Utilizador do **BACTEC**, MA-0092). O sensor no interior do frasco poderá não apresentar diferenças visíveis entre os frascos positivos e negativos; no entanto, o Sistema Fluorescente **BACTEC** consegue detectar diferenças na fluorescência do sensor.
5. Deverá ser efectuada uma repicagem, seguida de um esfregão apropriado, a partir dos frascos positivos. Todos os frascos positivos deverão ser manipulados utilizando práticas e instalações de contenção BSL III (Nível de Biosegurança III).
Processamento de um frasco positivo detectado pelo instrumento
 - a) Retire o frasco do instrumento e transporte-o para uma área utilizando práticas e instalações de contenção BSL III (Nível de Biosegurança III).
 - b) Inverta o frasco para misturar o conteúdo.
 - c) Numa câmara de segurança biológica, ventile o frasco para equilibrar a pressão do frasco com a pressão atmosférica.
 - d) Retire uma alíquota do frasco (aprox. 0,1 mL) para as preparações coradas (AFB e Gram).
 - e) Inspeccione o esfregão e efectue o relatório dos resultados preliminares apenas após a avaliação do esfregão.

Se ao fim de um período de seis semanas de incubação, um frasco negativo no instrumento apresentar sinais de positividade (isto é, abaulamento do septo ou sangue com cor muito escura), deverá ser efectuada uma repicagem e coloração AFB, devendo o frasco ser manipulado como um frasco presumivelmente positivo, desde que o resultado da coloração seja positivo.

Repicagem do Frasco: A repicagem deverá ser efectuada numa câmara de segurança biológica e utilizando vestuário apropriado, incluindo luvas e máscaras. Antes de efectuar a repicagem, coloque o frasco em posição vertical e coloque uma compressa com álcool sobre o septo. Para libertar a pressão positiva que possa existir no frasco, a qual pode ser provocada pelo crescimento de possíveis contaminantes, introduza uma agulha estéril de 25 gauge (ou com diâmetro inferior), equipada com um filtro ou um tampão apropriado, através da compressa com álcool e do septo. A agulha deverá ser retirada após a libertação da pressão existente no frasco e antes da recolha da amostra do frasco para repicagem. A introdução e a remoção da agulha devem ser efectuadas com um movimento em linha recta, evitando quaisquer movimentos de lateralidade que possam danificar permanentemente o septo. Não volte a colocar a tampa na agulha. Elimine as agulhas e as seringas para um recipiente de resíduos contaminados resistente a objectos cortantes.

CONTROLO DE QUALIDADE

Em cada caixa de meios de cultura, são fornecidos Certificados do Controlo de Qualidade.

Recomenda-se que cada nova remessa ou lote de meios de cultura Myco/F Lytic **BACTEC** seja testada com os organismos de controlo ATCC, identificados na tabela em baixo, como controlo positivo, e um frasco não inoculado como controlo negativo.

Microrganismo	Intervalo de Tempo até à detecção (dias)
<i>Mycobacterium intracellulare</i> , ATCC 13950	8 a 16
<i>Mycobacterium kansasii</i> , ATCC 12478	3 a 13
<i>Mycobacterium fortuitum</i> , ATCC 6841	1 a 3

Os frascos positivos deverão ser inoculados utilizando uma diluição de 1 para 100 de uma suspensão de McFarland #1 cultivada em meio sólido. Inocule o frasco com 0,1 mL da cultura diluída. Os frascos, e um frasco de controlo não inoculado, deverão ser examinados dentro do instrumento e testados. O

frasco inoculado deverá ser detectado pelo instrumento como positivo até ao fim do protocolo do teste. O controlo negativo deverá permanecer negativo. Se não forem obtidos os resultados esperados para o Controlo de Qualidade, não utilize o meio e contacte com a Assistência Técnica da Becton Dickinson (apenas nos E.U.: +1-800-638-8663) ou contacte o Representante local da Becton Dickinson, para obter assistência.

Para obter informações sobre o controlo de qualidade para o Sistema **BACTEC**, consulte o Manual do Utilizador (MA- 0092).

RELATÓRIO DOS RESULTADOS

Um tubo positivo no instrumento deve ser confirmado por um esfregaço com coloração ácida rápida ou uma coloração Gram. Um resultado positivo indica a presença presuntiva de microorganismos viáveis no frasco.

Se o esfregaço for AFB positivo, efectue uma repicagem para um meio sólido e descreva como: Positivo no instrumento, esfregaço AFB positivo, ID pendente.

Se existirem outros microorganismos além de bacilos corados pela coloração ácida rápida, efectue a repicagem para um meio sólido e descreva como: Positivo no instrumento, esfregaço AFB negativo, ID pendente.

Se não existirem microorganismos nos esfregaços, efectue a repicagem para um meio sólido, volte a introduzir o frasco dentro do instrumento, como se fosse um frasco negativo pendente, num prazo de 5 horas após a remoção, e deixe terminar o protocolo do teste. Sem resultado a relatar.

Efectue as repicagens a partir do tubo Myco/F Lytic **BACTEC** para a identificação e teste da susceptibilidade.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

A detecção de espécies de micobactérias em amostras de sangue depende do número de organismos presentes na amostra, dos métodos de colheita da amostra, de factores relacionados com o doente, tais como a presença de sintomas e tratamentos anteriores.

As micobactérias podem variar na rapidez com que adquirem a coloração ácida, dependendo da estirpe, da idade da cultura e de outras variáveis.

Deverá ter cuidado para evitar a contaminação da amostra durante a colheita e a inoculação dentro do frasco **BACTEC**. Um frasco contaminado apresentará uma leitura positiva no instrumento, mas não indicará um resultado clinicamente relevante. Tal determinação deverá ser efectuada pelo utilizador com base em factores tais como, os resultados das colorações, o tipo de organismos isolados, a ocorrência do mesmo organismo em culturas múltiplas, a história do doente, etc.

Os frascos Myco/F Lytic **BACTEC** não são selectivos e sustentarão o crescimento de outros organismos aeróbios, para além de *Mycobacterium*. Os frascos positivos podem conter uma ou mais espécies de micobactérias e/ou outras espécies além das micobactérias. Quando presentes, os organismos de crescimento rápido podem mascarar a detecção de micobactérias com crescimento mais lento. São necessárias repicagens e procedimentos adicionais. A consistência da morfologia microscópica no Myco/F Lytic **BACTEC** ainda não foi estabelecida.

A detecção óptima de isolados será obtida adicionando 1 a 5 mL de sangue a cada frasco. A utilização de volumes inferiores ou superiores pode afectar de forma adversa o período de tempo de isolamento e/ou a especificidade. A probabilidade de falsa positividade será maior quando o volume de sangue for superior a 5 mL.

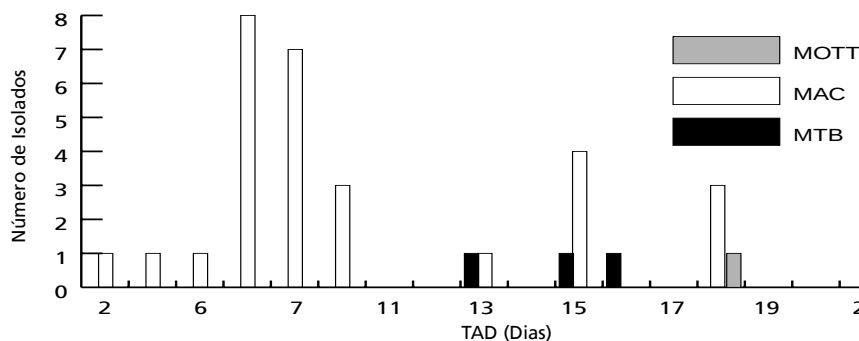
O sangue pode conter antimicrobianos ou outros inibidores, os quais podem atrasar ou impedir o crescimento de microorganismos.

Os frascos Myco/F Lytic **BACTEC** são incubados a 37°C, o que exclui, em princípio, o isolamento de micobactérias que necessitem de outras temperaturas de incubação (por ex., *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). O isolamento desses organismos necessita de métodos de cultura suplementares.

Durante os estudos internos e/ou ensaios clínicos efectuados no instrumento 9000MB **BACTEC** utilizando o meio Myco/F Lytic **BACTEC**, foram detectados como positivos os seguintes isolados: *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. bovis*, *M. terrae*, *M. simiae*, *M. goodii*, *M. celatum*, *M. abscessus*, *M. malmoense*. Durante os estudos internos, *M. xenopi* e *M. szulgai* não exibiram um isolamento satisfatório com o meio de cultura Myco/F Lytic **BACTEC**.

RESULTADOS ESPERADOS

Em ensaios clínicos, a distribuição da frequência dos tempos de isolamento (TTD) para as amostras de sangue positivas com o meio de Cultura Myco/F Lytic **BACTEC** encontra-se ilustrada na figura seguinte.



CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

O meio de cultura Myco/F Lytic **BACTEC** foi avaliado com o instrumento 9000MB **BACTEC** em dois locais clínicos considerados como grandes hospitais de cuidados terciários e universitários, em áreas geográficas diferentes. As populações locais incluíram doentes com suspeita de infecção por micobactérias, doentes imunodeprimidos e doentes transplantados. O meio de cultura Myco/F Lytic **BACTEC** foi comparado com o meio de cultura **BACTEC** 13A para o isolamento e detecção de micobactérias a partir de amostras de sangue. Durante o estudo, foram testadas um total de 284 amostras de sangue respeitando os critérios de selecção. O número total de isolados de micobactérias patogénicas detectados no estudo foi de 39 (Consulte o QUADRO 1). Dos positivos, cinco (13%) foram isolados apenas no meio de cultura Myco/F Lytic **BACTEC** e dois (5%) foram isolados apenas no meio de cultura **BACTEC** 13A. Durante a avaliação clínica, um total de 28 frascos Myco/F Lytic **BACTEC** foram cheios com um volume excessivo (entre 6 e 20 mL) e não foram incluídos neste estudo, uma vez que apresentavam um volume superior ao volume de repleção máximo (não respeitavam os critérios de selecção). Destes 28 frascos Myco/F Lytic **BACTEC**, 16 (57%) foram identificados como falsos positivos.

Das 284 amostras de sangue testadas no estudo clínico, um frasco Myco/F Lytic **BACTEC** (0,4%) foi determinado como sendo falso positivo (positivo no instrumento, negativo no esfregaço e/ou na repicagem). Dos 38 frascos Myco/F Lytic **BACTEC** positivos no instrumento, 1 (2,6%) foram determinados como sendo falsos positivos. A taxa de falsos negativos (negativos no instrumento, positivos no esfregaço e/ou na repicagem) foi de 0% baseada nas repicagens terminais de $\geq 50\%$ dos frascos negativos. Durante esta avaliação, a taxa de contaminação foi de 0,9%.

QUADRO 1: RESUMO DA DETECÇÃO DE ISOLADOS NO MEIO DE CULTURA MYCO/F LYTIC DURANTE OS ENSAIOS CLÍNICOS

Microrganismo	N mero Total de Isolados	Meio Lítico Myco/F Apenas	Meio 13A Apenas	Ambos
Todas as Micobactérias Patogénicas:				
<i>Mycobacterium avium</i>	30	3	1	26
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6	0	0	6
<i>Mycobacterium kansasii</i>	3	2	1	0
Total	39	5	2	32

BIBLIOGRAFIA: Consulte a "References" na página 4.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda
 Rua Cyro Correia Pereira 550, Curitiba – Paraná-Brasil
 CNPJ 21.551.379/0013-31
 Indústria Brasileira
 Responsável Técnico Midori Imai CRF PR 3374
 Registro ANVISA nº 10033430177
 Centro de Relacionamento com o cliente: 0800 555654



BACTEC Myco/F- Lytic odlingsflaskor

Supplementerad Middlebrook 7H9 oth hjärt-hjärninfusionsbuljong

För användning med BACTEC 9000MB

Svenska

NAMN

BACTEC odlingsflaskor typ Myco/F Lytic (en modifierad Middlebrook 7H9-buljong) kan användas för odling och påvisning av mykobakterier.

ANVÄNDNINGSSOMRÅDE

BACTEC Myco/F Lytic används tillsammans med BACTEC instrument 9000MB och är ett oselektivt odlingsmedium för kvalitativ odling och påvisning av mykobakterier i blod.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING AV TESTEN

Sedan mitten av 1980-talet och spridningen av AIDS-epidemin, har incidensen av sepsis orsakad av opportunistiska mykobakterier ökat. *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) och andra mykobakterier än *M. tuberculosis* (MOTT), i synnerhet *Mycobacterium avium*-komplex (MAC), är åter på frammarsch. Från 1985 till 1992 ökade antalet rapporterade MTB-fall med 18%. Mellan 1981 och 1987 hade 5,5% av AIDS-patienterna disseminerade, icke-tuberkulösa mykobakterieinfektioner såsom MAC, enligt AIDS-fallrapportering. Vid 1990 hade ökningen av fallen med disseminerade icke-tuberkulösa mykobakterieinfektioner resulterat i en kumulativ incidens på 7,6%.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) rekommenderar alla laboratorier att göra varje ansträngning att använda de snabbaste metoder som finns tillgängliga för diagnostisk mykobakterietestning. Dessa rekommendationer innefattar användning av ett flytande medium för odling av mykobakterier.^{1,2,3}

BACTEC 9000MB-systemet är konstruerat för snabb detektion av mykobakterier i kliniska prover. BACTEC Myco/F Lytic odlingsmedium är en Middlebrook 7H9- och hjärt-hjärninfusionsbuljong, avsedd för påvisning av mykobakterier i blodprover. Särskilda modifieringar har gjorts för att främja tillväxt och möjlighet till påvisning av mykobakterier. Dessa modifieringar innefattar tillsats av järnammونیumcitrat i syfte att förse vissa mykobakteries-tammar med en järnkälla, tillsats av saponin som hemolyserande agens och tillsats av specifika proteiner och sockerarter som extra näringstilläts. I varje flaska finns en sensor som kan detektera minskningar i koncentrationen löst oxygen i flaskan, som resultat av mikroorganismernas metabolism och tillväxt. BACTEC 9000MB-systemet kontrollerar om sensorn uppvisar någon fluorescensökning, vilken i så fall är proportionell mot minskningen av hal-ten löst oxygen. En positiv avläsning indikerar att flaskan kan innehålla viabla mikroorganismer.

FUNKTIONSPRINCIPER

BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaska är framtagen för snabb detektion av mykobakterier i blod. Blodprover ympas på BACTEC Myco/F Lytic-flaskan antingen med hjälp av en injektionsspruta eller genom direkt dragning av prov med hjälp av nål och slang. Flaskan sätts in i BACTEC 9000MB-systemet, inkuberas kontinuerligt vid 37°C och skakas var tionde minut, för maximal påvisningsmöjlighet. I varje flaska finns en sensor som kan detektera minskningar i koncentrationen löst oxygen i flaskan, som resultat av mikroorganismernas metabolism och tillväxt. Sensorn avläses av BACTEC 9000MB-systemet var tionde minut. Via analys av graden av minskad oxygenhalt, mätt såsom en fluorescensökning, kan BACTEC-instrumentet ur fluorescenserien fastställa om flaskan är positiv. En positiv avläsning indikerar att flaskan kan innehålla viabla mikroorganismer. Detektionsmöjligheten begränsas till sådana mikroorganismer som kan växa i mediet, vid 37°C. Detta medium är oselektivt varför andra aeroba organismer, inklusive jästsvampar, andra svamparter och bakterier, kan växa i mediet och i så fall kan interferera med möjligheten för påvisning av mykobakterier. Odlingsflaskor som fortfarande är negativa efter minst 42 dagar och som inte visar några tecken på positiv odling vid okulärbesiktning, avlägsnas från instrumentet och steriliseras innan de bortskaffas.

REAGENSER

Varje BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaska innehåller följande aktiva beståndsdelar före användning:

Beståndsdelar

Behandlat vatten	40 mL q.s.
7H9 Middlebrook-buljongbas utan fosfatsalter	0,12% v/v
Hjärt-hjärnfusion	0,5% v/v
Kaseinhydrolysat	0,10% v/v
Supplement H	0,10% v/v
Inositol	0,05% v/v
Glycerol	0,10% v/v
Natriumpolyanetolsulfonat	0,025% v/v
Tween 80	0,0025% v/v
Pyridoxal-HCl	0,0001% v/v
Järnammoniumcitrat	0,006% v/v
Kaliumfosfat	0,024% v/v
Saponin	0,24% v/v
Skumdämpare	0,01% v/v

Detta BACTEC-medium dispenserar med tillsats av CO₂ och O₂.

Sammansättningen kan ha justerats för att uppfylla specifika funktionskrav.

BACTEC Myco/F Lytic odlingsmedium kräver ingen ytterligare supplementering. Varje BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaska, 40 mL, är klar att användas vid leverans. Vid leveransen skall mediet ha ett klart och lätt bärnstensfärgat utseende.

VARNINGAR

De färdigställda odlingsflaskorna är avsedda för *in vitro*-diagnostik.

Denna produkt innehåller torrt naturgummi.

POTENTIELL INFEKTÖST PROV. lakttag "Generella försiktighetsbeaktanden"^{4,5} och institutionens riktlinjer vid hantering och bortskaffning av infektiöst material.

BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaskor kan hårbärarga mer än den rekommenderade maximala provvolymen på 5 mL, varför provvolymens storlek skall kontrolleras vid ympning.

Förfaranden, spridningsskyddande utrustning och anläggningar enligt biosäkerhetsnivå 2 rekommenderas vid beredning av färgade preparat för syrafasta stavar och odling av kliniska prover. För aktiviteter som innefattar propagation och hantering av *Mycobacterium tuberculosis* eller *Mycobacterium bovis* som odlats på medium rekommenderas förfaranden, spridningsskyddande utrustning och anläggningar enligt biosäkerhetsnivå ^{5,6,7}

Före användning skall varje flaska undersökas för tecken på kontamination såsom grumlighet, buktande eller indraget membran eller läckage. Flaskor med tecken på kontamination, läckage eller skador FÅR EJ användas. Flaskkontamination är inte säkert tydligt synlig. I en kontaminerad flaska kan det vara övertryck. Om en kontaminerad flaska används för direkt provtagning, kan gas eller kontaminerat odlingsmedium rinna tillbaka in i patientens ven. I sällsynta fall kan sprickor ha uppstått i flaskhalsen av glas och halsen kan gå sönder när locket dras av eller under hantering. Det kan också i sällsynta tillfällen förekomma att flaskan inte är fullständigt förseglad. I båda fallen kan flaskans innehåll läcka eller spillas ut, speciellt om man vänder upp och ned på flaskan.

För att minimera risken för läckage vid ympning av prover på odlingsflaskor med hjälp av spruta, skall sprutor med LUER-LOK-kona användas. För att undvika accidentella nålstick bör enhandsteknik och lämplig flaskhållare användas vid inokulationen.

Innan de kasseras skall alla inokulerade BACTEC Myco/F Lytic-flaskor steriliseras i autoklav.

Före provtagning från positiva odlingsflaskor för fortsatt odling eller färgning, etc.: Gas som ofta ansamlas på grund av den mikrobiella metabolismen måste släppas ut. Provtagning måste utföras i biologiskt säkerhetsskåp och lämplig skyddsklädsel, inklusive handskar och munskydd, skall bäras. Se avsnittet Förfarande för ytterligare information om fortsatt odling.

LÄCKANDE ELLER SKADADE FLASKOR

OBS! Ett inokulerat rör som läcker eller har gått sönder kan åstadkomma en aerosol av mykobakterier inklusive *M. tuberculosis* eller andra bakterier; hantera därför sådant rör på lämpligt sätt.

Om en inokulerad flaska läcker eller går sönder vid provtagning eller transport, skall på institutionen vedertagna åtgärder vid spill av mykobakterier vidtagas. De i "Generella försiktighetsbeaktanden" beskrivna åtgärderna är minimikrav. Odlingsflaskorna skall bortskaffas på försvarligt sätt.

Om det mot all förmodan inträffar att innehållet i en flaska läckt ut i själva instrumentet eller en flaska gått sönder skall instrumentet omedelbart stängas av. Utrym det berörda området. Kontakta säkerhets- och infektionskontrollansvariga på din arbetsplats. Avgör om det är nödvändigt att slå av eller modifiera inställningarna på den ventilationsutrustning som försörjer det berörda området. Återvänd ej till området förrän all eventuell aerosol har sjunkit eller avlägsnats genom lämplig ventilation. Becton, Dickinson and Company (tel. +1-800-544-7434, i USA) eller lokal Becton Dickinson-representant bör informeras. CDC har utfärdat riktlinjer för adekvata åtgärder vid accidentell mykobakteriekontamination orsakad av skadade odlingsflaskor eller buljong suspensioner.^{5,6,7}

FÖRVARINGSANVISNINGAR

Förvaras vid 2° – 25°C, på torr plats och skyddade från direkt solljus.

PROVTAGNING

OBS! Det rekommenderas att detta förfarande genomgås med berörd personal innan mediet tas i bruk, så att korrekt provtagningsteknik enligt beskrivning i detta avsnitt säkerställs.

Provtagning måste ske med steril teknik för att minska risken för kontamination. Blodvolymen mellan 1,0 och 5,0 mL kan odlas. Det rekommenderas att provet ympas på odlingsflaskorna vid sängkanten. Oftast används en spruta med en LUER-LOK-kona för provtagning. Om lämpligt kan en VACUTAINER nålhållare och VACUTAINER blodprovstagningssat, VACUTAINER SAFETY-LOK blodprovstagningssat eller annan typ av "butterfly"-set användas. Vid användning av nål- och slangset (provet dras direkt), skall blodflödets riktning noga observeras i starten av provtagningen. Före inokulering skall mediets volym markeras på etiketten med en penna eller tuschpena så att man kan se var provvolymen kommer att starta. Undertrycket i flaskan överstiger vanligen 5 mL, varför användaren bör kontrollera den insamlade volymen med hjälp av 5 mL-graderingen på flaskans etikett. När de önskade 1 – 5 mL prov har dragits, stoppas flödet genom att slangen kläms av och nålen avlägsnas från BACTEC-flaskan. BACTEC-flaskan bör så snabbt som möjligt transporteras till laboratoriet och sättas in i BACTEC-instrumentet. Ett VACUTAINER-rör med gult lock och SP5-tillsats kan också användas för provtagning på patienten. Röret skall i så fall så snabbt som möjligt transporteras till laboratoriet för överföring till en BACTEC odlingsflaska.

FÖRFARANDE

Tillhandahållna material: BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaskor.

Material som krävs men ej medföljer: Biologiskt säkerhetsskåp, autoklav; ventilationsenhet, mykobakteriedödande desinfektionsmedel; 70%-ig isopropylalkohol; organismer för kvalitetskontroll (*Mycobacterium intracellulare*, ATCC 13950; *Mycobacterium kansasii*, ATCC 12478; och *Mycobacterium fortuitum*, ATCC 6841); mikroskop och material för färgning av preparat och fortsatt odling från odlingsflaskorna.

OBS! BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaskor måste användas med instrument med programvaruversion 3.6 eller högre.

Inokulation av BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaskor

1. Dra av locket på BACTEC-flaskan och kontrollera att flaskan inte uppvisar sprickor, kontamination, kraftig grumling eller buktande eller indragen propp. Flaskan FÅR EJ användas om någon defekt noteras.
2. Märk odlingsflaskan med provdata och märk ut mediets nivå på flaskans etikett.
3. Före inokulation skall membranet torkas av med alkohol. Injicera aseptiskt med en spruta eller använd graderingarna på flasketiketten som hjälp och drag direkt 1 – 5 mL prov per flaska (se avsnittet Metodens begränsningar). **Inokulerade flaskor bör så snart som möjligt sättas in i BACTEC 9000MB-instrumentet för inkubering och avläsning.**
4. De flaskor som sätts in i instrumentet testas automatiskt under hela testprotokollperioden. Positiva flaskor identifieras av BACTEC fluorescenssystemet (se användarhandledningen för BACTEC, MA-0092). Sensorerna i positiva respektive negativa flaskor uppvisar inte säkert några synliga skillnader; en skillnad i fluorescens kan dock detekteras av BACTEC fluorescenssystem.
5. Positiva flaskor bör genomgå fortsatt odling och ett lämpligt utstryk beredas. Alla positiva flaskor skall hanteras i enlighet med metoder och spridningshindrande faciliteter enligt biosäkerhetsnivå III.
Behandling av en instrumentpositiv flaska:
a) Ta ut flaskan ur instrumentet och överför det till ett område som uppfyller kraven enligt biosäkerhetsnivå 3 med avseende på metoder och spridningshindrande faciliteter.
b) Vänd upp och ned på flaskan så att innehållet blandas.
c) Lufta flaskan i ett biologiskt säkerhetsskåp så att trycket i flaskan ekvibreras med atmosfärstrycket.
d) Ta en alikvot ur flaskan (cirka 0,1 mL) för beredning av färgade preparat (färgning för syrafasta stavar och Gram-färgning).
e) Inspektera utstryket men lämna inte preliminär svar förrän utstrykspreparatet har hunnit bedömas.

Om en instrumentnegativ flaska vid okulärbesiktning efter sex veckors inkubering förefaller positiv (dvs. buktande membran, kraftigt mörkfärgat blod), bör flaskan genomgå fortsatt odling och färgning för syrafasta stavar, samt behandlas som presumptivt positiv, förutsatt att det färgade utstryket är positivt.

Fortsatt odling från flaska: Fortsatt odling skall utföras i biologiskt säkerhetsskåp och lämplig skyddsklädsel, inklusive handskar och munskydd, skall bäras. Innan fortsatt odling utförs skall flaskan ställas upprätt och en alkoholtork läggs över membranet. För att avlasta eventuellt övertryck i flaskan, vilket kan orsakas av växt av eventuella kontaminanter, skall en steril nål, 25 G (eller finare), försedd med lämpligt filter eller kompress stickas genom alkoholtorken och membranet. Nålen bör avlägsnas efter att trycket har avlastats och innan prov tas från flaskan för fortsatt odling. Nålen bör föras in och dras ut rakt; undvik vridrörelser eftersom detta kan skada membranet permanent. Sätt inte på nålskyddet på nålen igen. **Kasta nålar och sprutor i en sticksäker behållare för biologiskt riskavfall.**

KVALITETSKONTROLL

Kvalitetskontrollbevis medföljer varje låda odlingsmedier.

Det rekommenderas att varje ny försändelse eller nytt parti BACTEC Myco/F Lytic odlingsmedier testas med de ATCC-kontrollorganismer som anges i nedanstående tabell som positiv kontroll och en inokulerad flaska som negativ kontroll.

Organism	Tidsrymd för upptäckt (dagar)
<i>Mycobacterium intracellulare</i> , ATCC 13950	8 till 16
<i>Mycobacterium kansasii</i> , ATCC 12478	3 till 13
<i>Mycobacterium fortuitum</i> , ATCC 6841	1 till 3

De positiva flaskorna bör inokuleras med en 1:100-spädning av en McFarland nr. 1 suspension odlad på fast medium. Inokulera flaskan med 0,1 mL av den spädda kulturen. Flaskorna och en inokulerad kontrollflaska bör skannas in i instrumentet och testas. Den inokulerade flaskan bör av instrumentet detekteras såsom positiv inom testprotokollperioden. Den negativa kontrollen bör förbli negativ. Om kvalitetskontrollen inte ger förväntat resultat, får odlingsmedierna ej användas. Kontakta i så fall Becton Dickinson Technical Services, på +1-800-638-8663 (endast inom USA) eller lokal Becton Dickinson-representant för assistans.

För information om kvalitetskontroll av BACTEC-systemet hänvisas till användarhandledningen (MA- 0092).

RAPPORTERING AV RESULTAT

En instrumentpositiv flaska kan verifieras via ett utstryk för syrafasta stavar eller Gramfärgat preparat. Ett positivt resultat indikerar att flaskan kan innehålla viabla mikroorganismer.

Om utstryket för syrafasta stavar är positivt, utförs fortsatt odling på fasta medier och resultatet rapporteras som: instrumentpositivt, syrafast utstryk positivt, identifiering pågår.

Om andra mikroorganismer än syrafasta bakterier föreligger, utförs fortsatt odling på fasta medier och resultatet rapporteras som: instrumentpositivt, syrafast utstryk negativt, identifiering pågår.

Om inga mikroorganismer upptäcks i utstryken, utförs fortsatt odling på fasta medier, flaskan sätts in igen i instrumentet som en pågående negativ flaska inom 5 timmar efter uttagning ur instrumentet och testprotokollet fullføres. Inga rapporterbara resultat.

Utför fortsatt odling från BACTEC Myco/F Lytic-flaskan, för identifiering och resistensbestämning.

METODENS BEGRÄNSNINGAR

Detektion av mykobakteriearter i kliniska prover är beroende av antalet organismer i provet, provtagningsmetod, och sådana patientfaktorer som symptom och tidigare behandling.

Mykobakterier kan variera i syrafasthet beroende på stam, odlingsålder och andra variabler.

Försiktighet skall iakttas så att kontamination av provet under provtagning och ympning på BACTEC-flaskan förhindras. En kontaminerad flaska kan ge en positiv instrumentavläsning men detta innebär inte att resultatet är kliniskt relevant. Det kommer an på användaren att avgöra huruvida provet är kontaminerat eller ej, med ledning av sådana faktorer som fynd i färgade preparat, typ av påvisade organismer, uppträdande av samma organism i flera odlingar, patientens anamnes, etc.

BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaskor är oselektiva, varför även andra aeroba organismer än mykobakterier kan växa i mediet. Positiva odlingsflaskor kan innehålla en eller flera arter mykobakterier och/eller andra icke-mykobakterie species. Snabbt växande organismer kan om de förefinns, maskera detektion av långsammare växande mykobakterier. Fortsatt odling och ytterligare förfaranden krävs. Permanensen i den mikroskopiska morfologin i BACTEC Myco/F Lytic har ej fastställts.

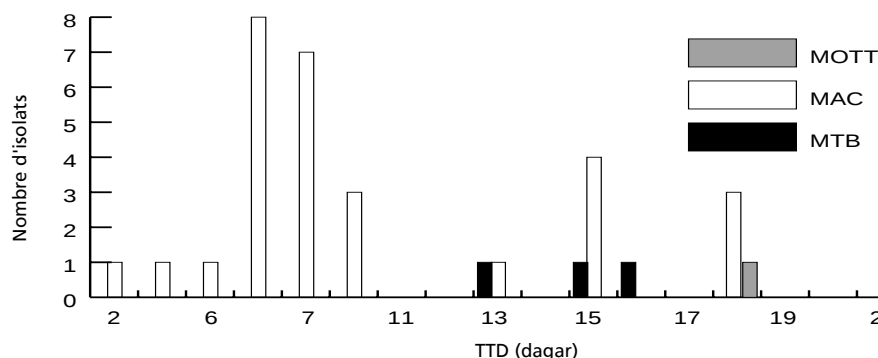
Optimal påvisning av isolat uppnås genom ympning av 1 – 5 mL blod per odlingsflaska. Användning av mindre eller större volymer kan försämra möjligheten till påvisning, förlänga detektionstiden och/eller minska specificiteten. Falskt positiva avläsningar inträffar troligen oftare vid blodprovsvolym över 5 mL.

Blod kan innehålla antimikrobiella substanser eller andra inhibitorer som kan förlängsamma och förhindra växt av mikroorganismer.

BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaskor inkuberas vid 37°C, vilket möjligen kan förhindra påvisning av mykobakterier som kräver andra inkubationstemperaturer (exempelvis *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). För påvisning av sådana organismer krävs ytterligare odlingsmetoder. Följande isolat detekterades som positiva av **BACTEC 9000MB**-instrumentet vid användning av **BACTEC Myco/F Lytic** odlingsmedium, i både interna studier och/eller kliniska prövningar: *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. bovis*, *M. terrae*, *M. simiae*, *M. gordonae*, *M. celatum*, *M. abscessus*, *M. malmoense*. Vid interna studier noterades otillfredsställande påvisning av *M. xenopi* och *M. szulgai* vid användning av **BACTEC Myco/F Lytic** odlingsmedium.

FÖRVÄNTADE RESULTAT

Frekvensdistributionen för detektionstider för positiva kliniska blodprover vid användning av **BACTEC Myco/F Lytic** odlingsmedium illustreras i nedanstående figur.



FUNKTIONSEGENSKAPER

BACTEC Myco/F Lytic odlingsmedium utvärderades med **BACTEC 9000MB** instrument på två kliniska platser, vilka utgjordes av stora undervisningssjukhus på geografiskt skilda orter. Patientpopulationerna på de olika platserna innefattade patienter med misstänkt mykobakterieinfektion, immunkomprometterade patienter och transplantationspatienter. **BACTEC Myco/F Lytic** odlingsmedium jämfördes med **BACTEC 13A** odlingsmedium med avseende på påvisning och detektion av mykobakterier i blodprover. Totalt 284 giltiga blodprover testades under studien. Totalt påvisades 39 patogena mykobakterieisolat (se tabell 1). Av dessa positiva prover påvisades fem (13%) i enbart **BACTEC Myco/F Lytic** odlingsmedium och två (5%) i enbart **BACTEC 13A** odlingsmedium. Totalt 28 st. **BACTEC Myco/F Lytic** odlingsflaskor hade fyllts på med för stor provvolym (mellan 6 och 20 mL) vid den kliniska utvärderingen och inkluderades ej i studien, eftersom den maximala fyllnadsvolymen överskridits (ogiltiga prover). Av dessa 28 **BACTEC Myco/F Lytic**-flaskor bedömdes 16 (57%) såsom falskt positiva.

Av de 284 prover som testades i denna kliniska studie, bedömdes en (0,4%) **BACTEC Myco/F Lytic**-flaska vara falsk positiv (instrumentpositiv, men utstryk och/eller fortsatt odling negativ). Av de 38 instrumentpositiva **Myco/F Lytic**-flaskorna, bedömdes 1 (2,6%) såsom falskt positiv. Frekvensen falskt negativa resultat (instrumentnegativ, men utstryk och/eller fortsatt odling positiv) var 0%, baserat på fortsatta odlingar av $\geq 50\%$ av negativa flaskor, efter avslutad testprotokollperiod. Kontaminationsfrekvensen under denna studie var 0,9%.

TABELL 1: ÖVERSIKT ÖVER ISOLAT PÅVISADE I MYCO/F LYTIC ODLINGSMEDIUM VID KLINISKA STUDIER

Organism	Totala isolat	Bara Myco/F lytiska medelk	Bara 13A medel	Båda
Alla Patogena Mykobakterier:				
<i>Mycobacterium avium</i>	30	3	1	26
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	6	0	0	6
<i>Mycobacterium kansasii</i>	3	2	1	0
Totalt	39	5	2	32

REFERENSER: Se "References" på sid. 4.



Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare



Use by / Spotřebujte do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Použite do / Usar antes de / Använd före /

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned) /
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) /
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) /
 VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) /
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) /
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) /
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) /
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) /
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) /
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mėnesio pabaiga) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /
 aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden) /



Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalógové číslo / Número de catálogo



Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autoriseret representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Representante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU



In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaite / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietais / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicinska pomůcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik



Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperatuurlimiet / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ograničenje teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning



Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti)



Contains sufficient for <n> tests / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> test / Voldoende voor <n> tests / Küllaldane <n> testide jaoks / Sisältöön riittävä <n> testejä varten / Contenu suffisant pour <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα <n> εξετάσεις / <n> teszthez elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Innholder tilstrekkelig for <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Contém suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester



Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen



 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA
800-638-8663

 BENEX Limited
Bay K 1a/d, Shannon Industrial Estate
Shannon, County Clare, Ireland
Tel: 353-61-47-29-20
Fax: 353-61-47-25-46

ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, BACTEC, VACUTAINER, SAFETY-LOK and LUER-LOK are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2005 BD.