

Revisions


Rev from	Rev to	ECO #
0806	0207	4322-07

Notes:

- BD Cat. Number 240862, 240863
- Blank (Sheet) Size: Length: 14" Width: 25"
 Number of Pages: 10 Number of Sheets: 1
 Page Size: Length 14" Width 5" Final Folded Size: 7" x 5"
- Style (see illustrations below): # 4



- See Specification Control Number N/A for Material Information
- Ink Colors: Printed two sides Yes No
 No. of Colors: 1 PMS# 2755 Blue
- Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level

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: 8809541		Category and Description Package Insert, MycoPrep	Sheet: 1 of 11 <hr/> Scale: N/A	A

Specimen Digestion/Decontamination Kit For Processing of Mycobacterial Specimens

English: pages	1 – 2	Italiano: pagine	5 – 6
Français: pages	2 – 3	Español: páginas	6 – 7
Deutsch: Seiten	3 – 4	Português: páginas	7 – 8

 8809541
2007/02

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 sümbole seletust infolehe lõpus. / Katso pakkauselosten 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 jelmagyarazat a használati utasítás végén található. / Vedere il glossario dei simboli alla fine del foglio illustrativo. / Žr. informacinio lapelio pabaigoje 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. / Вж. легендата за символите в края на листовката. / A se vedea glosarul de simboluri de la sfârșitul broșurii. / Ekin sonundaki sembol açıklamalarını bakın.

Pokyny vám poskytne miestni zástupce spoločnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / 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. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instrukcie ziskate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Becton Dickinson-representant för anvisningar. / Свържете се с местния представител на BD за инструкции. / Contactați reprezentantul dumneavoastră local BD pentru instrucțiuni. / Talimatlar için yerel BD temsilcilerinize danışın.

INTENDED USE

The BBL™ MycoPrep™ Specimen Digestion/Decontamination Kits are used for the digestion and decontamination of clinical specimens suspected to contain mycobacteria, especially *Mycobacterium tuberculosis*.

SUMMARY AND EXPLANATION

The majority of clinical specimens sent to the mycobacteriology laboratory for cultural confirmation of suspected mycobacterial infection (e.g., sputum, bronchial or tracheal lavage) are contaminated by rapidly growing normal flora. To maximize the mycobacterial yield, contaminated specimens require treatment with a digestion and decontamination procedure. N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide (NALC-NaOH) solution is recommended as a gentle but effective digesting and decontaminating agent.¹

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

Sodium hydroxide (NaOH) can be used as both a digestant and decontaminant. As a mucolytic agent, it is most effective at a final specimen concentration of 2%. However, as a decontaminating agent, this concentration is toxic to both contaminants and to some mycobacteria.¹

N-acetyl-L-cysteine (NALC) is also a mucolytic agent. In the BBL™ MycoPrep™ reagent bottle, the NALC is combined with 2% NaOH. When the reagent is diluted with an equal volume of specimen, it provides effective digestion and decontamination with a final concentration of 1% NaOH, which is less toxic to mycobacteria.¹

Sodium citrate is included in the reagent to bind heavy metal ions that may be present in the specimen and which can inactivate NALC.¹

Because NALC loses mucolytic activity on standing, the BBL™ MycoPrep™ reagent contains the NALC component in a sealed glass ampule within the NaOH-citrate solution. The ampule is broken and the reagents gently mixed before use.

Packets of pre-weighed, powdered phosphate buffer, pH 6.8, are included in the BBL™ MycoPrep™ kit for use in washing the digested-decontaminated specimen. The phosphate buffer decreases the activity of the NALC-NaOH solution and lowers the specific gravity of the specimen before the mycobacteria are recovered by centrifugation.

REAGENTS

BBL™ MycoPrep™ Reagent

Approximate Formula* Per L Purified Water
NaOH..... 20.0 g
Trisodium Citrate (Na₃C₆H₅O₇•2H₂O) 14.5 g
Each sealed glass ampule within the bottle contains 0.375 g NALC (C₅H₉NO₃S).

*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance criteria.

BBL™ MycoPrep™ Phosphate Buffer

Approximate Formula* Per 500 mL Purified Water
Disodium Phosphate (Na₂HPO₄) 2.37 g
Monopotassium Phosphate (KH₂PO₄) 2.27 g
Final pH 6.8

Precautions: For *in vitro* Diagnostic Use.

The NALC-NaOH reagent contains strong alkali and causes severe burns. Take off all contaminated clothing immediately. Gloves and eye/face protection must be worn. NaOH is irritating to the eyes and skin. In the event of eye or skin contact, rinse immediately with an eye wash system or tap water for at least 15 min and seek medical advice. If ingested, give milk, egg white or large amounts of water and seek medical advice. Keep out of reach of children.

Caution: Break ampule close to its center *one time only*. Do not manipulate ampule further as the plastic bottle may puncture and injury may occur.

Storage Instructions: On receipt, store at 15 to 25°C. Do not freeze. Do not open until ready to use.

Product Deterioration: Do not use reagents if ampules are broken, missing or there is visible evidence of deterioration (e.g. reagent develops a yellow color). Do not use phosphate buffer if packages are torn or unsealed.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Biosafety Level 2 practices and procedures, containment equipment and facilities are required for non-aerosol-producing manipulations of clinical specimens such as preparation of acid-fast smears. All aerosol-generating activities must be conducted in a Class I or II biological safety cabinet. Biosafety Level 3 practices, containment equipment and facilities are required for laboratory activities in the propagation and manipulation of cultures of *M. tuberculosis* and *M. bovis*. Animal studies also require special procedures.²

Pathogenic microorganisms, including hepatitis viruses and Human Immunodeficiency Virus, may be present in clinical specimens. "Standard Precautions"²⁻⁵ and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood and other body fluids.

Refer to appropriate texts for details of specimen collection and handling procedures.^{1,6-8}

PROCEDURE

Materials Provided: See "Availability."

Materials Required But Not Provided: Ancillary laboratory equipment required for this procedure.

Test Procedure:

1. Prepare the BBL™ MycoPrep™ Phosphate Buffer as needed, by pouring contents of one packet into a 500 mL volumetric flask and fill to line with purified water. Transfer the buffer solution to a screw-capped container and, with cap loosened, autoclave at 121°C for 15 min. Cool to room temperature and tighten cap.
2. Using caution not to spill, loosen screw-cap on the MycoPrep Reagent bottle. Locate ampule in bottle, squeeze excess air from the bottle and tighten cap. With bottle in the upright position, squeeze the bottle until the ampule breaks. (Note: the 150 mL bottle contains two ampules that must be broken.) Shake gently to dissolve the NALC. Avoid excessive agitation. ONCE AMPULE IS BROKEN, USE REAGENT WITHIN 24 H.¹
3. In a biological safety cabinet, using a sterile, aerosol-free 50 mL centrifuge tube with screw cap, add equal amounts of specimen and activated NALC-NaOH solution (approximately 10 mL of each).
4. Cap the centrifuge tube and mix on a Vortex-type mixer until specimen is liquified. If specimen is especially viscous, add more NALC-NaOH solution and repeat mixing.
5. Allow mixture to stand at room temperature for 15 min with occasional gentle shaking. Avoid over-treating the specimen.
6. Add the prepared phosphate buffer to the 50 mL mark on the centrifuge tube and mix. Centrifuge for 15 – 20 min at 3000 x g.
7. Carefully decant all of the supernatant fluid.
8. Add a small quantity of phosphate buffer of pH 6.8 (e.g., 0.5 to 2.0 mL) and resuspend the sediment. Use the suspension for the preparation of smears and the performance of mycobacteriological procedures.^{1,6-8}

User Quality Control: For each lot or shipment, examine kit components as described under "Product Deterioration." Process a culture containing acid-fast organisms as per established laboratory quality control procedures for mycobacterial specimens.

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent CLSI (formerly NCCLS) guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

RESULTS

The **MycoPrep** Specimen Digestion/Decontamination Kit is used for the digestion and decontamination of clinical specimens (e.g., sputum, bronchial or tracheal lavage) suspected to contain mycobacteria.

If procedures are followed correctly, viscous specimens will be liquefied and contamination by normal flora will be reduced or eliminated.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

No one method of digestion-decontamination is suitable for all clinical specimens in all situations. When selecting a procedure, choose the mildest procedure that will reduce contamination.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The **MycoPrep** kit was used in support of clinical trials for the **BACTEC™ MGIT™ 960** System. One clinical trial site used **MycoPrep** for the digestion/decontamination of clinical specimens prior to testing. Of the 63 specimens positive for mycobacteria, none were contaminated and required reprocessing.⁹

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
240862	BBL™ MycoPrep™ Specimen Digestion/Decontamination Kit, consisting of ten 75 mL bottles of Reagent (NALC-NaOH Solution) and 5 packages of Phosphate Buffer (pH 6.8).
240863	BBL™ MycoPrep™ Specimen Digestion/Decontamination Kit, consisting of ten 150 mL bottles of Reagent (NALC-NaOH Solution) and 10 packages of Phosphate Buffer (pH 6.8).

REFERENCES

1. Kent, P.T., and G.P. Kubica. 1985. Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. USDHHS. Centers for Disease Control, Atlanta.
2. U.S. Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, and National Institutes of Health. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 4th ed. HHS Publication No. (CDC) 93-8395. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed., CLSI, Wayne, Pa.
4. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* 17:53-80.
5. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
6. Cernoch, P.L., R.K. Enns, M.A. Saubolle, and R.J. Wallace, Jr. 1994. Cumitech 16A, Laboratory diagnosis of the mycobacterioses. Coord. ed., A.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Pfyffer, G.E., B.A. Brown-Elliott, and R.J. Wallace, Jr. 2003. *Mycobacterium*: general characteristics, isolation, and staining procedures, p. 532-559. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenover. (eds.), Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Isenberg, H.D. (ed). 2004. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1, 2 and 3, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Data on file, BD Diagnostic Systems.

BD BBL MycoPrep

Trousse de digestion et decontamination d'échantillons pour le traitement d'échantillons mycobactériens

Français

APPLICATION

Les trousse **BBL MycoPrep** de digestion/décontamination d'échantillons sont utilisées pour la digestion et la décontamination d'échantillons cliniques soupçonnés de contenir des mycobactéries, en particulier le *Mycobacterium tuberculosis*.

RESUME ET EXPLICATION

La majorité des échantillons cliniques envoyés au laboratoire de mycobactériologie pour confirmation par culture d'une infection mycobactérienne soupçonnée (p. ex., expectoration, lavage bronchique ou trachéal) sont contaminés par une flore normale à croissance rapide. Pour maximiser le rendement mycobactérien, il est nécessaire de procéder à une digestion et une décontamination des échantillons contaminés. Une solution de N-acétyl-L-cystéine-hydroxyde de sodium (NALC-NaOH) est l'agent recommandé pour obtenir une digestion et une décontamination non agressives, mais efficaces.¹

PRINCIPES DE LA METHODE

L'hydroxyde de sodium (NaOH) peut être utilisé à la fois comme agent de digestion et de décontamination. En tant qu'agent mucolytique, il est à son efficacité optimale à la concentration finale de 2 % dans l'échantillon. Cependant, en tant qu'agent de décontamination, cette concentration est non seulement toxique pour les contaminants, mais aussi pour certaines mycobactéries.¹

Le N-acétyl-L-cystéine (NALC) est aussi un agent mucolytique. Dans le flacon de réactif **BBL MycoPrep**, le NALC est combiné avec du NaOH de 2 %. Lorsque le réactif est dilué avec un volume égal d'échantillon, il permet une digestion et une décontamination efficaces à une concentration finale en NaOH de 1 %, qui s'avère moins toxique pour les mycobactéries.¹

Du citrate de sodium est inclus dans le réactif pour fixer les ions de métaux lourds qui pourraient être présents dans l'échantillon et inactiveraient le NALC.¹

Comme le NALC perd de son activité mucolytique s'il est dissous à l'avance, le composant NALC du réactif **BBL MycoPrep** est présenté dans une ampoule de verre scellée baignant dans la solution de NaOH-citrate. L'ampoule est brisée et les réactifs sont mélangés doucement avant l'utilisation.

Des sachets de tampon phosphate pH 6,8 en poudre, prédosés, sont inclus dans la trousse **BBL MycoPrep** pour laver l'échantillon digéré et décontaminé. Le tampon phosphate diminue l'activité de la solution NALC-NaOH et réduit le poids spécifique de l'échantillon avant la récolte des mycobactéries par centrifugation.

REACTIFS

Réactif BBL MycoPrep

Formule approximative par* litre d'eau purifiée
NaOH..... 20,0 g
Citrate trisodique (Na₃C₆H₅O₇•2H₂O)..... 14,5 g
Chaque ampoule de verre scellée à l'intérieur du flacon contient 0,375 g de NALC (C₅H₉NO₃S).

Tampon phosphate BBL MycoPrep

Formule approximative* pour 500 mL d'eau purifiée
Phosphate disodique (Na₂HPO₄)..... 2,37 g
Phosphate monopotassique (KH₂PO₄) 2,27 g
pH final 6,8

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

Précautions : Réservé au diagnostic *in vitro*.

Le réactif NALC-NaOH contient un alcali puissant et cause des brûlures graves. Enlever immédiatement tout vêtement contaminé. Porter des gants et un appareil de protection des yeux et du visage. Le NaOH est irritant pour les yeux et la peau. Dans l'éventualité d'un contact avec les yeux ou la peau, rincer immédiatement avec un système de rinçage oculaire ou à l'eau du robinet pendant 15 minutes au moins et consulter un médecin. Si le réactif a été ingéré, donner du lait, du blanc d'œuf ou faire boire de l'eau en grande quantité et consulter un médecin. Conserver hors de la portée des enfants.

Attention : Briser l'ampoule en son centre *une fois seulement*. Ne pas manipuler l'ampoule plus avant pour ne pas perforer le flacon de plastique et risquer de se blesser.

Instructions pour la conservation : Stocker entre 15 et 25 °C dès réception. Ne pas congeler. Ne pas ouvrir prématurément.

Détérioration du produit : Ne pas utiliser les réactifs si les ampoules sont brisées, manquantes, ou si le produit est visiblement détérioré (p. ex., virage de la couleur du réactif au jaune). Ne pas utiliser le tampon phosphate si les sachets sont déchirés ou ne sont pas scellés.

PRÉLÈVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS

Des pratiques et des procédures de sécurité biologique de niveau 2, ainsi que les installations et le matériel de confinement correspondants, sont requis pour les manipulations non productrices d'aérosols d'échantillons cliniques, comme la préparation de frottis pour bacilles acido-résistants. Toutes les manipulations productrices d'aérosols doivent s'effectuer sous une hotte biologique de sécurité de classe I ou II. Des pratiques de sécurité biologique de niveau 3, ainsi que les installations et le matériel de confinement correspondants, sont requises pour la propagation et la manipulation en laboratoire de cultures de *M. tuberculosis* et *M. bovis*. Les études chez l'animal nécessitent également des procédures particulières.²

Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »²⁻⁵ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques.

Se reporter aux textes concernés pour plus d'informations sur les procédures de prélèvement et de manipulation des échantillons.^{1,6-8}

METHODE

Matériaux fournis : Voir « Conditionnement ».

Matériaux requis mais non fournis : Le matériel de laboratoire auxiliaire requis pour cette méthode.

Mode opératoire du test :

1. Préparer le tampon phosphate **BBL MycoPrep** au fur et à mesure en versant le contenu d'un sachet dans une fiole jaugée de 500 mL et remplir jusqu'au repère avec de l'eau purifiée. Transférer la solution tampon dans un récipient à bouchon vissé et autoclaver à 121 °C pendant 15 minutes avec le bouchon desserré. Refroidir jusqu'à température ambiante, puis revisser le bouchon.
2. En prenant soin de ne rien renverser, desserrer le bouchon du flacon de réactif **MycoPrep**. Localiser l'ampoule dans le flacon, appuyer pour faire s'échapper l'air du flacon et revisser le bouchon. En maintenant le flacon en position verticale, presser le flacon au niveau de l'ampoule jusqu'à ce que l'ampoule se brise. (*Remarque : Le flacon de 150 mL contient deux ampoules à briser*). Mélanger doucement pour dissoudre le NALC. Ne pas agiter exagérément. **UNE FOIS L'AMPOULE BRISEE, UTILISER LE REACTIF DANS UN DELAI DE 24 HEURES.**¹
3. Sous une hotte biologique de sécurité, ajouter un volume égal d'échantillon et de solution NALC-NaOH activée (environ 10 mL de chaque) à un tube à centrifuger à bouchon à vis de 50 mL, stérile et garanti sans aérosol.
4. Revisser le bouchon et mélanger sur un agitateur à vortex jusqu'à liquéfaction de l'échantillon. Si l'échantillon est particulièrement visqueux, ajouter de la solution NALC-NaOH et mélanger de nouveau.
5. Laisser le mélange reposer à température ambiante pendant 15 minutes en remuant doucement de temps à autre. Eviter de prolonger le traitement de l'échantillon.
6. Ajouter le tampon phosphate préparé au préalable jusqu'au repère à 50 mL du tube à centrifuger et mélanger. Centrifuger 15 à 20 minutes à 3000 g.
7. Décanter doucement tout le fluide surnageant.
8. Ajouter une petite quantité du tampon phosphate à pH 6,8 (p. ex., 0,5 à 2,0 mL) et remettre en suspension le culot. Utiliser la suspension pour la préparation de frottis et la réalisation de méthodes de mycobactériologie.^{1,6-8}

Contrôle de qualité par l'utilisateur : Pour chaque lot ou arrivage, examiner les éléments de la trousse comme il est décrit à la rubrique « Détérioration des produits ». Traiter une culture contenant des microorganismes acido-résistants selon les méthodes de laboratoire usuelles pour le contrôle de qualité des échantillons mycobactériens.

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

RÉSULTATS

La trousse **MycoPrep** de digestion et décontamination d'échantillons s'utilise pour la digestion et la décontamination d'échantillons cliniques (p. ex., expectoration, lavage bronchique ou trachéal) soupçonnés de contenir des mycobactéries.

Si les méthodes sont respectées, les échantillons visqueux sont liquéfiés et la contamination par la flore normale est réduite, voire oblitérée.

LIMITES DE LA PROCEDURE

Il n'existe pas de méthode unique de digestion et décontamination qui puisse convenir en toutes circonstances à tous les échantillons cliniques. En choisissant une méthode, retenir celle qui réduit la contamination de la façon la moins agressive.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

La trousse **MycoPrep** a été utilisée dans le cadre d'essais cliniques du système **BACTEC MGIT 960**. Un site investigateur utilisait **MycoPrep** pour digérer et décontaminer des échantillons cliniques avant de les tester. Parmi les 63 échantillons positifs pour les mycobactéries, aucun n'était contaminé et n'a dû être traité à nouveau.⁹

CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
240862	Trousse BBL MycoPrep de digestion et décontamination d'échantillons, comprenant dix flacons de 75 mL de réactif (solution de NALC-NaOH) et 5 sachets de tampon phosphate (pH 6,8).
240863	Trousse BBL MycoPrep de digestion et décontamination d'échantillons, comprenant dix flacons de 150 mL de réactif (solution de NALC-NaOH) et 10 sachets de tampon phosphate (pH 6,8).

REFERENCES : Voir la rubrique « References » du texte anglais.



BD BBL MycoPrep

Aufschluss-/Dekontaminationskit für Proben zur Verarbeitung von Mykobakterienproben

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Das Aufschluss-/Dekontaminationskit für Proben **BBL MycoPrep** dient zum Aufschluß und zur Dekontamination von klinischen Proben, bei denen der Verdacht besteht, daß sie Mykobakterien, insbesondere *Mycobacterium tuberculosis*, enthalten.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Die Mehrheit der klinischen Proben, die bei Verdacht auf mykobakterielle Infektion (z.B. Sputum, Bronchial- oder Tracheallavage) an das Mykobakteriologie-Labor zur kulturellen Bestätigung eingesandt werden, ist durch schnell wachsende normale Flora kontaminiert. Um die mykobakterielle Ausbeute maximieren zu können, müssen kontaminierte Proben mittels eines Aufschluß- und Dekontaminationsverfahrens behandelt werden. N-Acetyl-L-Cystein-Natriumhydroxid (NALC-NaOH)-Lösung wird als sanftes jedoch wirksames Aufschluß- und Dekontaminierungsmittel empfohlen.¹

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Natriumhydroxid (NaOH) kann sowohl als Aufschluß- als auch als Dekontaminierungsmittel eingesetzt werden. Als mukolytisches Agens zeigt es mit einer Probenendkonzentration von 2% eine sehr hohe Wirksamkeit. Wird es als Dekontaminierungsmittel eingesetzt, ist diese Konzentration jedoch sowohl für Kontaminanten als auch für einige Mykobakterien toxisch.¹

N-Acetyl-L-Cystein (NALC) ist ebenfalls ein mukolytisches Agens. Im **BBL MycoPrep**-Reagenzienfläschchen wird das NALC mit 2% NaOH in Verbindung gebracht. Wenn das Reagenz mit einer gleichen Probenmenge verdünnt wird, bietet es effektiven Aufschluß und wirksame Dekontamination mit einer für Mykobakterien weniger toxischen Endkonzentration von 1 % NaOH.¹

Natriumcitrat wird dem Reagenz zur Bindung der eventuell in den Proben vorhandenen Schwermetallionen hinzugefügt, die NALC inaktivieren können.¹

Da die mukolytische Aktivität des NALC durch längeres Stehen verlorenggeht, wird das NALC des **BBL MycoPrep**-Reagenz in einer fest verschlossenen Glasampulle in der NaOH-Citrat-Lösung geliefert. Die Ampulle wird vor Gebrauch gebrochen, und die Reagenzien werden leicht vermischt.

Dem Aufschluß- und Dekontaminationskit für Proben **BBL MycoPrep** liegen Packungen mit vorher abgewogenem Phosphatpuffer in Pulverform (pH-Wert 6,8) bei, mit denen die aufgeschlossenen/dekontaminierten Proben gewaschen werden. Der Phosphatpuffer reduziert die Aktivität der NALC-NaOH-Lösung und senkt das spezifische Gewicht der Proben, bevor die Mykobakterien durch Zentrifugieren gewonnen werden.

REAGENZIEN

BBL MycoPrep-Reagenz

Ungefähre Zusammensetzung*
pro l destilliertes Wasser

NaOH 20,0 g

Trinatriumcitrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) 14,5 g

Jede verschlossene Glasampulle in der Flasche

enthält 0,375 g NALC ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}$).

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

BBL MycoPrep-Phosphatpuffer

Ungefähre Zusammensetzung* pro 500 mL
destilliertes Wasser

Dinatriumphosphat (Na_2HPO_4) 2,37 g

Monokaliumphosphat (KH_2PO_4) 2,27 g

End-pH: 6,8

Sicherheitshinweise: In-vitro-Diagnostikum.

Das NALC-NaOH-Reagenz hat einen hohen Alkaligehalt und verursacht schwere Verätzungen. Beschmutzte, getränkte Kleidung sofort ausziehen. Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen. NaOH reizt Augen und Haut. Bei Kontakt mit Augen oder Haut sofort mit einer Augenspülung oder mit Leitungswasser mindestens 15 Minuten lang abspülen und Arzt konsultieren. Bei Einnahme Milch, Eiweiß oder große Mengen Wasser verabreichen und Arzt konsultieren. Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen.

Vorsicht: Ampulle *nur einmal* in der Mitte brechen. Ampulle nicht weiter bearbeiten, da Plastikflasche beschädigt werden und dies zu Verletzungen führen könnte.

Aufbewahrung: Nach Erhalt bei 15 – 25 °C aufbewahren. Nicht einfrieren. Verpackung erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen.

Haltbarkeit des Produkts: Reagenz bei beschädigter oder fehlender Ampulle oder sichtbaren Anzeichen von Produktverfall (z. B. gelbliche Färbung des Reagenz) nicht verwenden. Phosphatpuffer bei beschädigter oder unverschlossener Verpackung nicht verwenden.

PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Beim Arbeiten mit klinischen Proben, bei denen kein Aerosol entsteht – wie bei der Herstellung von säurefesten Abstrichen –, sind Laborpraktiken und Verfahren sowie Sicherheitsvorrichtungen der Biosicherheitsstufe 2 erforderlich. Alle Arbeiten, bei denen Aerosole entstehen, müssen in einem biologischen Sicherheitsschrank der Klasse I oder II durchgeführt werden. Bei der Vermehrung und der Arbeit mit Kulturen von *M. tuberculosis* and *M. bovis* sind Laborpraktiken und Verfahren sowie Sicherheitsvorrichtungen der Biosicherheitsstufe 3 erforderlich. Tierstudien erfordern ebenfalls spezielle Maßnahmen.²

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z.B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“²⁻⁵ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Lesen Sie bitte die entsprechende Literatur in bezug auf Einzelheiten zur Probenentnahme und -handhabung.^{1,6-8}

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Siehe „Lieferbare Produkte“.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Zusätzliche Laborgeräte, die für dieses Verfahren gebraucht werden.

Ablauf des Tests:

1. Bereiten Sie den **BBL MycoPrep**-Phosphatpuffer nach Bedarf vor, indem Sie den Inhalt einer Packung in einen 500-mL-Meßkolben geben und bis zur Markierung mit destilliertem Wasser auffüllen. Geben Sie die Pufferlösung in einen Behälter mit Schraubverschluss, und autoklavieren Sie diesen Behälter 15 Minuten lang mit gelöstem Verschluss bei 121 °C. Auf Raumtemperatur abkühlen lassen und verschließen.
2. Achten Sie darauf, daß keine Flüssigkeit verschüttet wird, wenn Sie den Schraubverschluss des **MycoPrep**-Reagenzienfläschchens lösen. Sollte sich eine Ampulle im Fläschchen befinden, übermäßige Luft aus dem Fläschchen drücken und den Deckel festdrehen. Bei aufrecht gehaltenem Fläschchen, dieses drücken, bis die Ampulle bricht. (*Hinweis: Das 150-mL-Fläschchen enthält 2 Ampullen, die gebrochen werden müssen.*) Leicht schütteln, damit sich das NALC auflöst. Zu starke Schüttelbewegungen vermeiden. IST DIE AMPULLE ZERBROCHEN, REAGENZ INNERHALB VON 24 STUNDEN VERWENDEN.¹
3. In einem biologischen Sicherheitsschrank mit einem sterilen, treibstofffreien 50-mL-Zentrifugenröhrchen mit Schraubverschluss gleiche Mengen Probe und aktivierte NALC-NaOH-Lösung zugeben (ungefähr je 10 mL).
4. Das Zentrifugenröhrchen verschließen und mit einem Vortexmixer mischen, bis die Probe flüssig ist. Ist die Probe besonders zähflüssig, mehr NALC-NaOH-Lösung zugeben und Mischvorgang wiederholen.
5. Mischung bei Raumtemperatur etwa 15 Minuten stehenlassen und gelegentlich leicht schütteln. Zu intensive Behandlung der Probe vermeiden.
6. Den vorbereiteten Phosphatpuffer bis zur 50-mL-Markierung auf dem Zentrifugenröhrchen zugeben und mischen. 15 – 20 Minuten bei 3000 x g zentrifugieren.
7. Den ganzen Überstand vorsichtig abgießen.
8. 0,5 bis 2,0 mL Phosphatpuffer mit einem pH-Wert von 6,8 hinzufügen und Sediment nochmals suspendieren. Die Suspension für die Zubereitung von Ausstrichen und für mykobakteriologische Verfahren verwenden.^{1,6-8}

Qualitätssicherung durch den Anwender: Bei jeder Charge oder Lieferung sind die Bestandteile des Kits entsprechend der unter „Produktverfall“ aufgeführten Beschreibungen zu überprüfen. Eine Kultur mit säurefesten Organismen entsprechend den Laborqualitätskontrollverfahren für mykobakterielle Proben verarbeiten.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten CLSI (ehemals NCCLS)-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

ERGEBNISSE

Das Aufschluß-/Dekontaminationskit für Proben **BBL MycoPrep** dient zum Aufschluß und zur Dekontamination von klinischen Proben, bei denen der Verdacht besteht, daß sie Mykobakterien enthalten.

Wenn die Anweisungen befolgt werden, werden visköse Proben verflüssigt, und Kontaminationen durch normale Flora werden verringert oder vermieden.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Keine Aufschluß-/Dekontaminationsmethode ist für sämtliche klinische Proben in allen Situationen geeignet. Bei der Wahl eines Verfahrens ist die sanfteste Methode zur Reduzierung der Kontamination zu verwenden.

LEISTUNGSMERKMALE

Das **MycoPrep**-Kit wurde zur Unterstützung klinischer Studien für das **BACTEC MGIT 960**-System verwendet. An einem Standort wurde dabei **MycoPrep** für den Aufschluß und die Dekontamination vor dem Test verwendet. Von den 63 mykobakterienpositiven Proben war keine kontaminiert und mußte erneut verarbeitet werden.⁹

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr. Beschreibung

240862 **BBL MycoPrep**-Aufschluß-/Dekontaminationskit für Proben, bestehend aus zehn 75-mL-Fläschchen mit Reagenz (NALC-NaOH-Lösung) und fünf Packungen mit Phosphatpuffer (pH-Wert 6,8).

240863 **BBL MycoPrep** Aufschluß-/Dekontaminationskit für Proben, bestehend aus zehn 150-mL-Fläschchen mit Reagenz (NALC-NaOH-Lösung) und zehn Packungen mit Phosphatpuffer (pH-Wert 6,8).

LITERATUR: S. „References“ im englischen Text.

USO PREVISTO

I kit di decontaminazione/digestione di campioni **BBL MycoPrep** sono usati per la digestione e decontaminazione di campioni clinici che si sospetta contengano micobatteri, specialmente *Mycobacterium tuberculosis*.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

La maggior parte dei campioni clinici inviati al laboratorio di micobatteriologia per la conferma - mediante coltura - di sospette infezioni micobatteriche (es. espettorato, lavaggio bronchiale o tracheale) è contaminata da flora normale a crescita rapida. Per massimizzare il rilevamento dei micobatteri, i campioni contaminati devono essere sottoposti a digestione e decontaminazione. Si raccomanda una soluzione di N-acetil-L-cisteina e idrossido di sodio (NALC-NaOH) come agente - delicato ma efficace - sia per la decontaminazione che per la digestione.¹

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

L'idrossido di sodio (NaOH) può essere usato sia per la digestione che per la decontaminazione. Come agente mucolitico, è più efficace a una concentrazione finale nel campione del 2%. Ai fini della decontaminazione, questa concentrazione è tuttavia tossica sia per i contaminanti che per alcuni micobatteri.¹

Anche la N-acetil-L-cisteina (NALC) è un agente mucolitico. Nel flacone del reagente **BBL MycoPrep**, la NALC è combinata con NaOH al 2%. Quando il reagente viene diluito con un uguale volume di campione, assicura un'efficace digestione e decontaminazione con una concentrazione finale di NaOH pari all'1%, meno tossica per i micobatteri.¹

Il reagente include citrato di sodio per legare gli ioni di metalli pesanti eventualmente presenti nel campione e in grado di inattivare la NALC.¹

Poiché la N-acetil-L-cisteina perde l'attività mucolitica con il tempo, il componente NALC del reagente **BBL MycoPrep** è contenuto in una fiala di vetro sigillata all'interno del flacone di soluzione citrato-NaOH. Prima dell'uso, rompere la fiala e mescolare delicatamente i reagenti.

Il kit **BBL MycoPrep** comprende anche confezioni preosate di tampone fosfato in polvere, pH 6,8, da usare nel lavaggio del campione digerito-decontaminato. Il tampone fosfato riduce l'attività della soluzione NALC-NaOH e abbassa il peso specifico del campione prima del recupero dei micobatteri mediante centrifugazione.

REAGENTI**Reagente BBL MycoPrep**

Formula approssimata* per L di acqua purificata

NaOH..... 20,0 g

Citrato trisodico (Na₃C₆H₅O₇•2H₂O) 14,5 g

Ogni fiala di vetro sigillata nel flacone

contiene 0,375 g di NALC (C₅H₉NO₃S).

Tampone fosfato BBL MycoPrep

Formula approssimata* per 500 mL di acqua purificata

Fosfato disodico (Na₂HPO₄) 2,37 g

Fosfato monopotassico (KH₂PO₄) 2,27 g

pH finale 6,8

*Compensata elo corretta per soddisfare i criteri di performance.

Precauzioni - Per uso diagnostico in vitro.

Il reagente NALC-NaOH contiene alcali forti e provoca gravi ustioni. Togliersi di dosso immediatamente gli indumenti contaminati. Proteggersi gli occhi e la faccia. L'idrossido di sodio è irritante per gli occhi e la pelle. In caso di contatto con gli occhi o la pelle, sciacquare immediatamente con un prodotto per lavaggio oculare o con acqua corrente per almeno 15 minuti e consultare il medico. In caso di ingestione, fare bere latte, albume o grandi quantità di acqua e consultare il medico. Conservare fuori della portata dei bambini.

Attenzione - Spezzare la fiala in prossimità del centro *una volta sola*. Non manipolare ulteriormente la fiala in quanto il flacone di plastica potrebbe perforarsi e provocare lesioni.

Modalità di conservazione - Al ricevimento, conservare tra 15 e 25 °C. Non congelare. Aprire soltanto al momento dell'uso.

Deterioramento del prodotto - Non usare i reagenti se le fiale mancano o sono rotte o presentano segni evidenti di deterioramento (es. il reagente diventa di colore giallo). Non usare il tampone fosfato se le confezioni sono rotte o aperte.

RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

Per le manipolazioni di campioni clinici (es. preparazione di strisci acido-resistenti) che non comportano produzione di aerosol, si richiede l'impiego di apparecchiature e strutture di contenimento e l'adozione delle norme di sicurezza biologica di livello 2. Tutte le procedure che comportano la generazione di aerosol devono essere eseguite sotto cappa di sicurezza biologica di Classe I o II. Per le attività di laboratorio che comportano la propagazione e manipolazione di colture di *M. tuberculosis* ed *M. bovis*, si richiede l'impiego di apparecchiature e strutture di contenimento e l'adozione delle norme di sicurezza biologica di livello 3. Anche gli studi su animali richiedono procedure speciali.²

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e i virus dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle linee guide dell'istituto e alle "Precauzioni standard".²⁻⁵

Per informazioni dettagliate sulle procedure di raccolta e trattamento dei campioni, consultare la documentazione appropriata.^{1,6-8}

PROCEDURA

Materiali forniti - Vedere "Disponibilità".

Materiali necessari ma non forniti - Apparecchiature di laboratorio necessarie per questa procedura.

Procedura del test

1. Preparare il tampone fosfato **BBL MycoPrep** in base alle necessità, versando il contenuto di una confezione in un cilindro volumetrico da 500 mL e riempire fino al segno con acqua purificata. Trasferire la soluzione tampone in un contenitore con tappo a vite e, con il tappo allentato, sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti. Raffreddare a temperatura ambiente e avvitare il tappo.
2. Allentare il tappo a vite del flacone **MycoPrep**, prestando attenzione a non versare inavvertitamente il contenuto. Individuare la fiala nel flacone, far uscire dal flacone l'aria in eccesso e avvitare il tappo. Tenendo il flacone in posizione verticale, comprimerlo fino a rompere la fiala. (Nota - Il flacone da 150 mL contiene due fiale da rompere.) Agitare delicatamente per dissolvere il componente NALC, evitando un'agitazione eccessiva. UNA VOLTA ROTTA LA FIALA, USARE IL REAGENTE ENTRO 24 H.¹
3. In una cappa di sicurezza biologica, aggiungere aliquote uguali di campione e di soluzione NALC-NaOH attivata (circa 10 mL ciascuna) servendosi di una provetta sterile da centrifuga da 50 mL con tappo a vite.
4. Tappare la provetta da centrifuga e mescolare su un agitatore tipo vortex fino a liquefare il campione. Se il campione è particolarmente viscoso, aggiungere ancora soluzione NALC-NaOH e ripetere la miscelazione.
5. Lasciare riposare la miscela a temperatura ambiente per 15 minuti agitando delicatamente di tanto in tanto. Evitare di trattare il campione in modo eccessivo.
6. Dispensare il tampone fosfato nella provetta da centrifuga sino al segno di 50 mL e mescolare. Centrifugare per 15 - 20 minuti a 3000 x g.
7. Decantare con attenzione tutto il sovrantante.
8. Dispensare una piccola quantità di tampone fosfato con pH 6,8 (es. 0,5 - 2,0 mL) e risospendere il sedimento. Usare la sospensione per allestire i vetrini ed eseguire le procedure micobatterologiche.^{1,6-8}

Controllo di qualità a cura dell'utente - Per ogni lotto o spedizione, esaminare i componenti del kit come descritto nella sezione "Deterioramento del prodotto". Analizzare una coltura contenente microrganismi acido-resistenti in conformità alla prassi di controllo di qualità per i campioni micobatterologici.

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI (già NCCLS) in merito.

RISULTATI

Il kit di decontaminazione/digestione di campioni **BBL MycoPrep** è usato per la digestione e decontaminazione di campioni clinici (es. espettorato, lavaggio bronchiale o tracheale) che si sospetta contengano micobatteri.

La corretta esecuzione delle procedure è confermata dalla liquefazione dei campioni viscosi e dalla riduzione o eliminazione della contaminazione da flora normale.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Nessun metodo di digestione-decontaminazione è adatto a tutti i campioni clinici in ogni situazione. Quando si seleziona una procedura, scegliere quella più delicata in grado di ridurre la contaminazione.

PERFORMANCE

Il kit **MycoPrep** è stato utilizzato a supporto di studi clinici con il sistema **BACTEC MGIT 960**. In un sito, lo studio clinico è stato condotto usando **MycoPrep** per la digestione-decontaminazione di campioni clinici prima del test. Di 63 campioni positivi per micobatteri, nessuno è risultato contaminato e ha richiesto un nuovo trattamento.⁹

DISPONIBILITÀ

No. di catalogo	Descrizione
240862	Kit di decontaminazione/digestione BBL MycoPrep , contenente dieci flaconi da 75 mL di reagente (soluzione NALC-NaOH) e 5 confezioni di tampone fosfato (pH 6,8).
240863	Kit di decontaminazione/digestione BBL MycoPrep , contenente dieci flaconi da 150 mL di reagente (soluzione NALC-NaOH) e 10 confezioni di tampone fosfato (pH 6,8).

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.



BBL MycoPrep

Equipos de digestión/descontaminación de muestras para procesamiento de muestras Micobacterianas

Español

USO PREVISTO

Los equipos de digestión/descontaminación de muestras **BBL MycoPrep** se utilizan para la digestión y descontaminación de muestras clínicas en las que se sospecha la presencia de micobacterias, especialmente *Mycobacterium tuberculosis*.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La mayor parte de las muestras clínicas enviadas a los laboratorios micobacteriológicos con el fin de confirmar la sospecha de infecciones micobacterianas (por ejemplo, esputo, lavado bronquial o traqueal) mediante cultivos está contaminada por el crecimiento rápido de la flora normal. Para elevar al máximo el rendimiento micobacteriano, las muestras contaminadas deben ser tratadas con un procedimiento de digestión y descontaminación. La solución de N-acetil-L-cisteína-hidróxido sódico (NALC-NaOH) se recomienda como agente digestivo y descontaminante suave pero eficaz¹.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El hidróxido sódico (NaOH) se puede usar como digestivo y descontaminante. Como agente mucolítico, es más efectivo a una concentración final de la muestra de 2%. Sin embargo, como agente descontaminante, esta concentración es tóxica para los contaminantes y para algunas micobacterias¹.

La N-acetil-L-cisteína (NALC) también es un agente mucolítico. En el frasco del reactivo **BBL MycoPrep**, el NALC se combina con NaOH de 2%. Cuando el reactivo se diluye con la muestra en cantidades iguales, éste provee efectiva digestión y descontaminación con una concentración final del NaOH de 1%, la cual es menos tóxica para las micobacterias¹.

El citrato sódico está incluido en el reactivo para enlazar los iones de metal pesado que puedan estar presentes en la muestra y que puedan inactivar el NALC¹.

Como el NALC pierde su actividad mucolítica en reposo, el reactivo **BBL MycoPrep** contiene el componente NALC dentro de una ampolla de vidrio sellada en el interior de la solución de citrato-NaOH. La ampolla se rompe y los reactivos se mezclan suavemente antes de ser usados.

Paquetes con tampón fosfato en polvo previamente pesado con un pH de 6,8 están incluidos en el equipo **BBL MycoPrep** para lavar la muestra ya digerida y descontaminada. El tampón fosfato disminuye la actividad de la solución de NALC-NaOH y reduce la gravedad específica de la muestra antes de que se recuperen las micobacterias mediante centrifugación.

REACTIVOS

Reactivo BBL MycoPrep

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

NaOH	20,0 g
Citrato trisódico (Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ •2H ₂ O)	14,5 g

Cada ampolla de vidrio sellada dentro del frasco contiene 0,375 g de NALC (C₅H₉NO₃S).

Tampón fosfato BBL MycoPrep

Fórmula aproximada* por 500 mL de agua purificada

Fosfato disódico (Na ₂ HPO ₄)	2,37 g
Fosfato monopotásico (KH ₂ PO ₄)	2,27 g

pH final de 6,8

*Ajustada y/o enriquecida para satisfacer los criterios de rendimiento.

Precauciones: Para uso diagnóstico *in vitro*.

El reactivo NALC-NaOH contiene alcalinos fuertes y causa quemaduras graves. Quítense toda la ropa contaminada inmediatamente. Se deben usar guantes y protección para los ojos y la cara. El reactivo NaOH irrita los ojos y la piel. En caso de contacto con los ojos o la piel, enjuagar inmediatamente con un producto para lavado ocular o con agua potable durante al menos 15 minutos y consulte al médico. Si es ingerido, tome leche, clara de huevo o abundante agua y consulte al médico. Mantenga fuera del alcance de los niños.

Precaución: Rompa la ampolla cerca del centro *una sola vez*. No siga manipulando la ampolla ya que el frasco de plástico puede perforarse y causarle heridas.

Instrucciones para el almacenamiento: En cuanto se reciba, guardar a una temperatura entre 15 y 30 °C. No congelar. No abrir hasta que vayan a utilizarse.

Deterioro del producto: No utilice los reactivos si las ampollas están ausentes, rotas o si hay evidencia de deterioro (p. ej. el color del reactivo se vuelve amarillo). No utilice el tampón fosfato si los paquetes están desgarrados o abiertos.

RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se requiere la utilización de prácticas y procedimientos de bioseguridad de nivel 2 y equipo e instalaciones para contención cuando se manipulen muestras clínicas sin producir aerosoles, como en la preparación de frotis acidorresistentes. Todas las actividades que generen aerosoles deben llevarse a cabo en un gabinete de seguridad biológica de clase I o II. Se requiere la utilización de prácticas de bioseguridad de nivel 3 y equipo e instalaciones para contención en las actividades de laboratorio que incluyan la propagación y manipulación de cultivos de *M. tuberculosis* y *M. bovis*. Los estudios en animales también requieren la implementación de procedimientos especiales².

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"²⁻⁵ y las directrices del centro.

Para más detalles sobre cómo recoger y manipular las muestras, consulte los textos apropiados^{1,6-8}.

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: Vea "Disponibilidad".

Materiales necesarios pero no suministrados: Equipos auxiliares de laboratorio requeridos para este procedimiento.

Procedimiento del análisis:

1. Prepare el tampón fosfato **BBL MycoPrep** según sea necesario, vaciando el contenido de un paquete en un matraz volumétrico de 500 mL y rellenando con agua purificada. Transfiera la solución tampón a un envase con tapa de rosca y póngala en el autoclave a 121 °C durante 15 minutos con la tapa floja. Déjela enfriar a temperatura ambiente y apriete la tapa.
2. Con cuidado para no derramarlo, afloje la tapa de rosca del frasco de reactivo **MycoPrep**. Coloque la ampolla en el frasco, extraiga todo exceso de aire del frasco y asegure la tapa. Coloque el frasco en posición vertical y apriételo hasta que se rompa la ampolla. (Nota: el frasco de 150 mL contiene dos ampollas y se deben romper las dos). Agite suavemente para disolver el NALC. Evite agitar en exceso. UNA VEZ ROTA LA AMPOLLA, EL REACTIVO DEBE USARSE EN UN LAPSO DE 24 HORAS¹.
3. En un gabinete de seguridad biológica, utilice un tubo centrífugo estéril libre de aerosoles de 50 mL y con tapa de rosca, añada cantidades iguales de la muestra y de la solución de NALC-NaOH activada (aproximadamente 10 mL de cada uno).
4. Tape el tubo centrífugo y mézclelo en un mezclador tipo Vortex hasta que la muestra se licúe. Si la muestra es muy viscosa, añada más solución de NALC-NaOH y vuelva a mezclar.
5. Deje reposar la mezcla a temperatura ambiente durante 15 minutos y agite suavemente de vez en cuando. Evite tratar la muestra en exceso.

- Añada el tampón fosfato ya preparado al tubo centrífugo hasta alcanzar los 50 mL y mezcla. Centrifugue entre 15 y 20 minutos a 3000 x g.
- Decante con cuidado todo el fluido sobrenadante.
- Añada una pequeña cantidad de tampón fosfato con un pH 6,8 (es decir, 0,5 a 2,0 mL) y vuelva a suspender el sedimento. Utilice la suspensión para preparar frotis y para los procedimientos micobacteriológicos^{1,6-8}.

Control de calidad del usuario: Examine las partes del equipo de cada lote o envío que se reciba como se describe en la sección "Deterioro del Producto". Procese los cultivos que contengan organismos acidorresistentes según los procedimientos establecidos en el laboratorio para el control de calidad de las muestras micobacterianas.

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI (antes NCCLS) y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

RESULTADOS

El equipo de digestión/descontaminación de muestras **BBL MycoPrep** se utiliza para la digestión y descontaminación de muestras clínicas (por ejemplo, esputo, lavado bronquial o traqueal) en las que se sospeche la presencia de micobacterias.

Si los procedimientos se siguen correctamente, se licuarán las muestras viscosas y se reducirá o eliminará la contaminación por flora normal.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ningún método de digestión y descontaminación es apropiado para todas las muestras clínicas en todas las situaciones. Al seleccionar un procedimiento, escoja el que pueda reducir la contaminación con menor riesgo.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El equipo **MycoPrep** se utilizó como método auxiliar en los ensayos clínicos con el sistema **BACTEC MGIT 960**. En un centro en el que se realizó el ensayo clínico, se utilizó **MycoPrep** para la digestión y descontaminación de muestras clínicas antes del análisis. De las 63 muestras con resultado positivo de micobacterias, ninguna estaba contaminada ni requirió un nuevo procesamiento⁹.

DISPONIBILIDAD

N.º ref.	Descripción
240862	Equipo de digestión/descontaminación de muestras BBL MycoPrep , que contiene diez frascos de 75 mL con reactivo (solución de NALC-NaOH) y 5 paquetes con tampón fosfato (pH 6,8).
240863	Equipo de digestión/descontaminación de muestras BBL MycoPrep , que contiene diez frascos de 150 mL con reactivo (solución de NALC-NaOH) y 10 paquetes con tampón fosfato (pH 6,8).

REFERENCIAS: Véase la sección "Referencias" en el texto inglés.

BD BBL MycoPrep Kit de digestão/descontaminação de amostras para processamento de amostras de micobactérias

Português

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Os Kits de Digestão/Descontaminação de Amostras **BBL MycoPrep** são utilizados para a digestão e descontaminação de amostras clínicas com suspeita de conterem micobactérias, especialmente a *Mycobacterium tuberculosis*.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

A maioria das amostras clínicas enviadas para o laboratório de micobacteriologia para confirmação, por meio de cultura, de suspeita de infecção por micobactérias (por exemplo, saliva, lavados brônquico ou traqueal), estão contaminadas por uma flora normal de crescimento rápido. Para maximizar a produção micobacteriana, as amostras contaminadas exigem a utilização de um tratamento que contenha um processo de digestão e de descontaminação. É recomendada uma solução de N-acetil-L-cisteína-hidróxido de sódio (NALC-NaOH) como agente de digestão e descontaminação suave, mas eficaz.¹

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O hidróxido de sódio (NaOH) pode ser utilizado como digestivo e como descontaminante. Como agente mucolítico, é mais eficaz numa concentração final da amostra a 2%. No entanto, como agente de descontaminação, esta concentração é tóxica, tanto para os contaminantes, como para algumas micobactérias.¹

O N-acetil-L-cisteína (NALC) é também um agente mucolítico. No frasco de reagente **BBL MycoPrep**, o NALC é combinado com NaOH de 2%. Quando o reagente é diluído com um volume igual da amostra, proporciona uma digestão e descontaminação eficazes com uma concentração final de NaOH de 1%, o que é menos tóxico para a micobactéria.¹

O citrato de sódio é incluído no reagente para ligar íons de metais pesados que possam estar presentes na amostra e que podem tornar o NALC inativo.¹

Devido ao facto de o NALC perder a actividade mucolítica durante a coloração, o reagente **BBL MycoPrep** contém o componente NALC numa ampola de vidro selada dentro da solução de citrato de NaOH. A ampola é partida e os reagentes misturam-se suavemente antes de serem utilizados.

As embalagens de tampão de fosfato em pó previamente pesado, com pH 6,8, são incluídas no kit **BBL MycoPrep** para serem utilizadas na lavagem da amostra digerida e descontaminada. O tampão de fosfato diminui a actividade da solução NALC-NaOH e baixa a gravidade específica da amostra antes de as micobactérias serem detectadas por meio de centrifugação.

REAGENTES

Reagente BBL MycoPrep	Tampão de fosfato BBL MycoPrep
Fórmula* Aproximada por 1 L de Água Purificada	Fórmula* Aproximada por 500 mL de Água Purificada
NaOH..... 20,0 g	Fosfato dissódico (Na ₂ HPO ₄)..... 2,37 g
Citrato trissódico (Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ •2H ₂ O)..... 14,5 g	Fosfato monopotássico (KH ₂ PO ₄)..... 2,27 g
Cada ampola de vidro selada dentro do frasco contém 0,375 g de NALC (C ₅ H ₉ NO ₃ S).	pH 6,8 final

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

Precauções: Para diagnóstico *in vitro*.

O reagente NALC-NaOH contém alcali forte e provoca queimaduras graves. Retire imediatamente todas as peças de vestuário contaminadas. É obrigatória a utilização de luvas e de protecção ocular/facial. O NaOH é irritante para os olhos e para a pele. Caso ocorra contacto com os olhos ou com a pele, lave imediatamente com um sistema de lavagem dos olhos ou com água corrente durante pelo menos 15 minutos e consulte um médico. Se for ingerido, tome leite, clara de ovo ou água em grandes quantidades e consulte um médico. Manter fora do alcance das crianças.

Cuidado: Parta a ampola perto do centro, *numa única vez*. Não manipule a ampola para além disso, uma vez que o frasco de plástico pode ser perfurado e podem ocorrer lesões.

Instruções de Armazenamento: Após a recepção, armazenar entre 15 – 25°C. Não congelar. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar.

Deterioração do Produto: Não utilize os reagentes se as ampolas estiverem ausentes, partidas ou se apresentarem indícios visíveis de deterioração (ex: o reagente muda para cor amarela). Não utilize o tampão de fosfato se as embalagens estiverem rasgadas ou não vedadas.

COLHEITA E MANIPULAÇÃO DAS AMOSTRAS

Para as manipulações de amostras clínicas que produzem produtos não-aerossóis, tal como a preparação de esfregaços com coloração ácida rápida, são exigidas práticas e procedimentos, equipamento de contenção e instalações de Nível 2 de Biossegurança. Todas as actividades que geram aerossóis têm que ser executadas numa câmara de segurança biológica de Classe I ou II. Para as actividades laboratoriais de propagação e manipulação de culturas de *M. tuberculosis* e *M. bovis*, são exigidas práticas, equipamento de contenção e instalações de Nível 3 de Biossegurança. Os estudos animais também exigem procedimentos especiais.²

Nas amostras clínicas podem existir microrganismos patogénicos, incluindo vírus de hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções Padrão"²⁻⁵ e as linhas de orientação da instituição. Consulte os textos apropriados para obter informações sobre os procedimentos de colheita e manipulação das amostras.^{1,6-8}

PROCEDIMENTO

Materiais Fornecidos: Ver "Apresentação".

Materiais Necessários Mas Não Fornecidos: Equipamento laboratorial auxiliar necessário para este procedimento.

Procedimento do Teste:

1. Prepare o Tampão de Fosfato **BBL MycoPrep**, conforme necessário, vertendo o conteúdo de uma embalagem num frasco volumétrico de 500 mL e encha até à linha de marcação com água purificada. Transfira a solução tampão para um recipiente com tampa de rosca e, com a tampa solta, autoclave a 121°C durante 15 minutos. Deixe arrefecer até atingir a temperatura ambiente e aperte a tampa.
2. Com cuidado para não entornar, desaperte a tampa de rosca do frasco de Reagente **MycoPrep**. Coloque a ampola dentro do frasco, aperte para fazer soltar o ar em excesso dentro do frasco, e aperte a tampa. Com o frasco na vertical, aperte-o até a ampola se partir. (*Nota: o frasco de 150 mL contém duas ampolas que devem ser partidas*). Agite suavemente para dissolver o NALC. Evite agitar excessivamente. DEPOIS DE A AMPOLA ESTAR PARTIDA, UTILIZE O REAGENTE NAS 24 HORAS SEGUINTE.¹
3. Numa câmara de segurança biológica, utilizando um tubo de centrifugação com tampa de rosca de 50 mL, esterilizado, sem aerossóis, adicione quantidades iguais de amostra e de solução de NALC-NaOH activado (aproximadamente 10 mL de cada).
4. Enrosque o tubo de centrifugação e misture num misturador tipo Vortex até a amostra estar liquefeita. Se a amostra for especialmente viscosa, adicione mais solução de NALC-NaOH e volte a misturar.
5. Deixe a mistura repousar à temperatura ambiente durante 15 minutos e, ocasionalmente, agite com cuidado. Evite manipular excessivamente a amostra.
6. Adicione tampão de fosfato até à marca de 50 mL, no tubo de centrifugação, e misture. Centrifugue durante 15 a 20 minutos a 3000 x g.
7. Decante cuidadosamente todo o fluido sobrenadante.
8. Adicione uma pequena quantidade de tampão de fosfato com um pH 6,8 (por exemplo, 0,5 a 2,0 mL) e volte a suspender o sedimento. Utilize a suspensão para a preparação de esfregaços e para o desempenho de procedimentos micobacteriológicos.^{1,6-8}

Controlo de Qualidade pelo Utilizador: Para cada lote ou remessa, examine os componentes do kit conforme descrito em "Deterioração do Produto." Processe uma cultura contendo organismos de coloração ácida rápida de acordo com os procedimentos laboratoriais estabelecidos de controlo de qualidade no que se refere às amostras micobacterianas.

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação locais e/ou nacionais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório. É recomendado que o utilizador consulte as orientações CLSI (anteriormente NCCLS) e os regulamentos CLIA relativamente às práticas de controlo de qualidade apropriadas.

RESULTADOS

O Kit de Digestão/Descontaminação de Amostras **MycoPrep** é utilizado para a digestão e descontaminação de amostras clínicas (por exemplo, saliva, lavados brônquico ou traqueal) com suspeita de conterem micobactérias.

Se os procedimentos forem seguidos correctamente, as amostras viscosas ficarão liquefeitas e a contaminação pela flora normal será reduzida ou eliminada.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Nem todos os métodos de digestão-contaminação são adequados para todas as amostras clínicas em todas as situações. Quando seleccionar um procedimento, escolha o procedimento mais moderado para reduzir a contaminação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

O kit **MycoPrep** foi utilizado para dar assistência em ensaios clínicos realizados no sistema **BACTEC MGIT 960**. Um local de ensaio clínico utilizou o **MycoPrep** para a digestão/descontaminação de amostras clínicas antes da análise. Das 63 amostras positivas com micobactérias, nenhuma foi contaminada, não necessitando assim de reproprocessamento.⁹

APRESENTAÇÃO

N.º de Cat.	Descrição
240862	Kit de Digestão/Descontaminação de Amostras BBL MycoPrep , composto por dez frascos de 75 mL com Reagente (Solução NALC-NaOH) e 5 embalagens de Tampão de Fosfato (pH 6,8).
240863	Kit de Digestão/Descontaminação de Amostras BBL MycoPrep , composto por dez frascos de 150 mL com Reagente (Solução NALC-NaOH) e 10 embalagens de Tampão de Fosfato (pH 6,8).

BIBLIOGRAFIA: Consulte a secção "References" no texto em inglês.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

Importado e Distribuído no Brasil por:
Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda
Rua Cyro Correia Pereira 550, Curitiba – Paraná-Brasil
CNPJ 21.551.379/0013-31
Registro ANVISA nº 10033430123
Serviço de Suporte Técnico (11) 5185-9961
Centro de Relacionamento com o Cliente: 0800 0555 654



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



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 / Използвайте до / A se utiliza până la / Son kullanna tarihi

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 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 = mēnesio 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) /
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца) /
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii) /
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)



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 / Καταложен номер / Număr de catalog / Katalog numarası



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 / Valtuutettu 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 / Reprezentante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Reprezentante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизиран представител в EU / Reprezentant autorizat în Uniunea Europeană / Аврупа Топилуугу Yetkilli Temsilcisi



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 -diagnostiikkalaitte / 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 prietaisai / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicinska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik / Медицински уред за диагностика ин витро / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Diagnostik Tibbi Cihaz



Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturlimit / Temperatuurlimit / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning / Температурни ограничения / Limitare de temperatură / Sicaklık sınırlaması



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) / Код (Партида) / Număr lot (Lotul) / Parti Kodu (Lot)



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 / Направете справка в инструкциите за употреба / Consultați instrucțiunile de utilizare / Kullanım Talimatları'na başvurun



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

BD, BD Logo, BBL, BACTEC, MGIT and MycoPrep are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2007 BD.