

**Revisions**

Rev from	Rev to	ECO #
0108	2010/02	5262-10


**Notes:**

- BD Cat. Number 442003, 442288
- Blank (Sheet) Size : Length: N/A      Width: N/A  
 Number of Pages: N/A    Number of Sheets: N/A  
 Page Size: Length N/A    Width N/A      Final Folded Size: N/A
- Style (see illustrations below): # N/A



- See Specification Control Number VS-13-7270-0PR for Material Information
- Ink Colors: Printed two sides  Yes     No  
 No. of Colors: 1      PMS #199 Red
- 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: PP162JAA		Category and Description Package Insert, BACTEC Myco/F Lytic Blood Culture	Sheet: 1 of 39 Scale: N/A	<b>A</b>

# **BD BACTEC™ Myco/F Lytic Culture Vials**

## Supplemented Middlebrook 7H9 and Brain Heart Infusion Broth

### For Use with BACTEC Fluorescent Series Instruments

English: pages 1 – 5    Italiano: pagine 14 – 18    Português : páginas 27 – 31  
 Français : pages 5 – 9    Español: páginas 18 – 22    Svenska: sidan 32 – 36  
 Deutsch : Seiten 10 – 14    Dansk: side 23 – 27

 PP162JAA  
2010/02

Pokyny vám poskytnú 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 képviselőtől. / 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. / Instrukcije získate 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. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Для получения инструкций свяжитесь с местным представителем компании BD. / Өзіндіздің жергілікті БД өкіліне жүгініп нұсқау алыңыз. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute.

#### INTENDED USE

BACTEC™ Myco/F Lytic culture medium when used with the BACTEC fluorescent series instruments is a nonselective culture medium to be used as an adjunct to aerobic blood culture media for the recovery of mycobacteria, yeast and fungi from blood. This medium may also be used for the culture of sterile body fluids when yeast or fungi are suspected.

#### SUMMARY AND EXPLANATION

Since the mid-1980s and expanding size of the immunocompromised patient population, the incidence of septicemia caused by opportunistic pathogens such as yeast, fungi and 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%.<sup>1</sup> It has also been noted that the incidence of fungemia has steadily increased since the early 1980s. This has increased the need for the clinical laboratory to have effective diagnostic procedures for fungemia and mycobacteremia.

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.<sup>2-4</sup>

The BACTEC fluorescent series instruments are designed for the rapid detection of microorganisms 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 and yeast and fungi from blood and sterile body fluids. Specific modifications were made to enhance the growth and recovery of mycobacteria, yeast and fungi. These modifications include ferric ammonium citrate to provide an iron source for specific strains of mycobacteria and fungi, 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 fluorescent series instrument 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, and yeast and fungi in blood and sterile body fluids. 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 fluorescent series instrument and is continuously agitated and incubated at 35°C for maximum recovery. The default testing protocol is 42 days. The recommended testing protocol for the following organisms are 7 days for yeast, 30 days for fungi and 42 days for mycobacteria. 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 fluorescent series instrument 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 35°C. The medium is not selective and will support the growth of other aerobic organisms including bacteria which may interfere, if present, with the recovery of slower growing mycobacteria, yeast and fungi. Culture vials which remain negative after the completion of protocol 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
Polysorbate 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

Composition may have been adjusted to meet specific performance requirements.

This BACTEC medium is dispensed with added CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub>.

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 should be clear and light amber in color.

## Warnings and Precautions

For *in vitro* Diagnostic Use.

This Product Contains Dry Natural Rubber.

**Pathogenic microorganisms, including hepatitis viruses and Human Immunodeficiency Virus, may be present in clinical specimens. "Standard Precautions"<sup>5-8</sup> and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood and other body fluids.**

If recovery of mycobacteria is intended, CDC-NIH guidelines strongly recommend that the test instrument be placed in the mycobacteria laboratory where the additional safety issues that the recovery of mycobacteria present can be addressed.<sup>9</sup>

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

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.<sup>9</sup>

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.

**Positive culture vials for subculturing or staining, etc.:** Before sampling it is necessary to release gas which often builds up due to microbial metabolism. Sampling and venting of vials 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, "Standard Precautions" should be employed. Vials should be discarded in an appropriate manner.

If 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. BD Diagnostics should be notified by calling 1-800-638-8663 in the USA or the appropriate BD 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.<sup>9</sup>

## Storage Instructions

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

DO NOT use after expiration date.

## SPECIMEN COLLECTION

**NOTE: It is recommended that this procedure be reviewed with the appropriate personnel prior to use of medium to ensure 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 mL to 5 mL, with optimum recovery obtained at 3 mL to 5 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; *Candida glabrata*, ATCC 15545; *Cryptococcus neoformans*, ATCC 13690), microscope and materials for staining slides and subculturing vials.

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 fluorescent series instruments 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. The default testing protocol is 42 days. The recommended testing protocol for the following organisms are 7 days for yeast, 30 days for fungi and 42 days for mycobacteria. See the appropriate BACTEC User's Manual, to set protocol length. If at the end of the protocol, a negative BACTEC Myco/F Lytic vial appears visually positive (i.e., bulging septum), it should be subcultured, AFB and Gram stained and treated as a presumptive positive.
5. Positive vials will be identified by the BACTEC fluorescent series instrument. The sensor inside the vial may not appear visibly different in positive or negative vials; however, the BACTEC fluorescent series instrument can determine a difference in sensor fluorescence. **All positive vials should be handled in a Biological Safety Cabinet. Biosafety Level 3 practices, containment equipment and facilities are recommended.**

Positive vials should be subcultured and an appropriate smear prepared.

Processing an instrument-positive vial

- a) Remove the vial from the instrument and place in a biological safety cabinet.
- b) Invert vial to mix contents.
- c) 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.

**Subculturing:** 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 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.

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>Candida glabrata</i> , ATCC 15545	< 3
<i>Cryptococcus neoformans</i> , ATCC 13690	< 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 BD Technical Services (in the U.S only: 1-800-638-8663) or your local BD Representative for further assistance.

For information on quality control for the BACTEC System, refer to the appropriate BACTEC User's Manual.

#### Reporting of RESULTS

An instrument positive vial must 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 or Gram stain positive, subculture to solid media and report as: instrument-positive, AFB or Gram stain positive, 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 3 h 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

BACTEC Myco/F Lytic vials are not selective and will support the growth of other aerobic organisms besides mycobacteria, yeast and fungi. 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, yeast and fungi. Subculture and additional procedures are required. The consistency of microscopic morphology in BACTEC Myco/F Lytic has not been established.

Inoculation of blood volumes of 1 – 5 mL are acceptable, but optimum recovery is obtained with 3 – 5 mL. During internal studies with less than 3 mL of blood, *M. intracellulare*, *M. malmoense*, *M. haemophilum* and *M. xenopi* exhibited detection delays and/or compromised recovery with BACTEC Myco/F Lytic. False positivity most likely will increase when the blood volume is above 5 mL.

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.

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

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

BACTEC Myco/F Lytic vials are incubated at 35°C potentially precluding the recovery of mycobacteria requiring other incubation temperatures (e.g., *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). Recovery of such organisms may require additional culture methods.

*Penicillium purpurescens* and *Blastomyces dermatitidis* were not detectable in the BACTEC Myco/F Lytic culture medium. *Hansenula anomala*, *Exophiala jeamselmei*, *Actinomyces bovis*, *Rhodotorula rubra*, and *Mucor ramosissimus* exhibited inconsistent results at low inoculum levels (<10 CFU/vial) with seeded culture studies. Recovery of such organisms may require additional culture methods.

The following isolates were detected as positive in the BACTEC 9240 instrument using BACTEC Myco/F Lytic medium during internal seeded studies and/or clinical trials:

<i>Mycobacterium terrae</i>	<i>Mycobacterium abscessus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium xenopi</i>	<i>Histoplasma capsulatum</i>
<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Mycobacterium malmoense</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Mycobacterium haemophilum</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Noctardia asteroides</i>
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Malassezia furfur</i>
<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
<i>Mycobacterium szulgai</i>	<i>Candida krusei</i>	
<i>Mycobacterium simiae</i>	<i>Candida tropicalis</i>	
<i>Mycobacterium celatum</i>	<i>Ajellomyces dermatitidis</i>	

## EXPECTED RESULTS

1,488 blood cultures obtained from patients suspected of mycobacterial, yeast or fungal infections were evaluated in the BACTEC Myco/F Lytic culture vial with the BACTEC 9240 Blood Culture System. There were 315 positive cultures with 243 clinically significant organisms recovered, of which 131 (53.9%) were mycobacteria, 35 (14.4%) were yeast or fungi and 77 (31.7%) were other bacteria. Of the 1,488 blood specimens tested in the clinical study, eleven BACTEC Myco/F Lytic culture vials (0.7%) were determined to be false positive (instrument-positive, smear and/or subculture-negative). Of the 315 instrument positive Myco/F Lytic vials, 11 (3.5%) were determined to be false positive. Of the 1,488 blood specimens tested in the clinical study, one (1) BACTEC Myco/F Lytic culture vial (0.07%) was determined to be false negative (instrument-negative, smear and/or subculture-positive). Of the 1,173 instrument negative BACTEC Myco/F Lytic culture vials, one (0.08%) was determined to be false negative. The contamination rate during this evaluation was 3.3%.

Frequency distribution of clinical trial specimens positive in the BACTEC Myco/F Lytic culture vials with the BACTEC 9000 Blood Culture System are illustrated in FIGURE 1 for times to detection (TTD) for mycobacteria and FIGURE 2 for TTD for yeast and fungi.

FIGURE 1

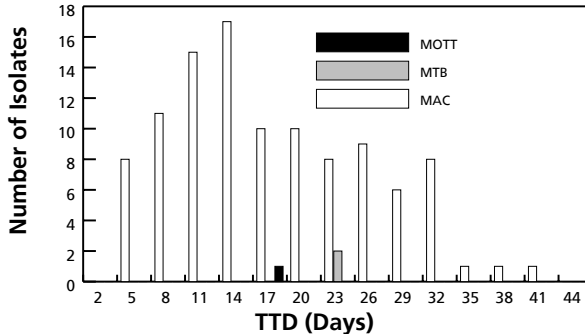
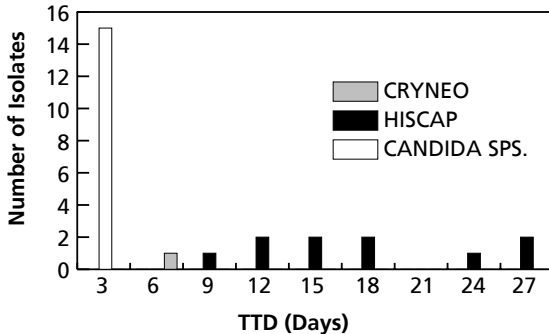


FIGURE 2



## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The BACTEC Myco/F Lytic medium was evaluated with the BACTEC 9240 instrument at two clinical sites considered large tertiary care teaching hospitals in geographically diverse areas. The site populations included patients infected with HIV, immunocompromised patients, transplant patients, and patients suspected of a mycobacterial infection. The BACTEC Myco/F Lytic medium was compared to the BACTEC 13A medium for the recovery and detection of mycobacteria from blood. A total of 1,100 blood culture specimens were tested during the evaluation. The total number of pathogenic mycobacteria isolates recovered in the study was 111 (See TABLE 1). Of these positives, ten (9%) were recovered in the BACTEC Myco/F Lytic medium only and three (3%) were recovered by BACTEC 13A medium only.

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
<b>All Pathogenic Mycobacteria:</b>				
<i>Mycobacterium avium</i>	108	10	3	95
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2	0	0	2
<i>Mycobacterium celatum</i>	1	0	0	1
<b>Total</b>	<b>111</b>	<b>10</b>	<b>3</b>	<b>98</b>

The BACTEC Myco/F Lytic medium was evaluated with the BACTEC 9240 instrument at four clinical sites considered large tertiary care teaching hospitals. The site populations included patients infected with HIV, immunocompromised patients, transplant patients, and patients suspected of a fungal infection. The BACTEC Myco/F Lytic medium was compared to the ISOLATOR™ System (Wampole Laboratories, Cranbrook, NJ) for the recovery and detection of yeast and fungi from blood. BACTEC Myco/F Lytic vials were inoculated with 1 – 5 mL of blood and ISOLATOR tubes were inoculated with 3 – 10 mL of blood. The ISOLATOR sediment was plated to Chocolate Agar, Brain Heart Infusion Agar with 5% sheep blood, and Sabouraud Dextrose Agar. A total of 748 specimens were tested during the evaluation. The total number of pathogenic yeast and fungal isolates recovered in the study was 32 (See TABLE 2). Of these positives, seven (22%) were recovered in the BACTEC Myco/F Lytic medium only and six (19%) were recovered in the ISOLATOR system only.

**TABLE 2: SUMMARY OF MYCO/F LYTIC MEDIUM ISOLATE RECOVERY DURING CLINICAL TRIAL**

Organism	Total Isolates	Myc/F Lytic Medium Only	Isolator Only	Both
<b>All Pathogenic Fungi:</b>				
<i>Candida albicans</i>	10	3	3	4
<i>Candida glabrata</i>	5	0	1	4
<i>Candida krusei</i>	2	2	0	0
<i>Candida parapsilosis</i>	1	1	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	1	1	0	0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1	0	0	1
<i>Fusarium</i> species	1	0	1	0
<i>Histoplasma capsulatum</i>	11	0	1	10
Total	32	7	6	19

**AVAILABILITY**

Cat. No.	Description
442003	BACTEC™ Myco/F Lytic Culture Vials, case of 25 vials
442288	BACTEC™ Myco/F Lytic Culture Vials, case of 50 vials

**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.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
- 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.
- U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
- 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.*
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service/Centers for Disease Control, Atlanta, GA, May 1988 pp. 63-64.

# **BD Flacons de culture BACTEC Myco/F Lytic** **Bouillon Middlebrook 7H9 enrichi et bouillon cœur-cervelette** **A utiliser avec les appareils BACTEC de la série à fluorescence**

Français

**APPLICATION**

Le milieu de culture BACTEC Myco/F Lytic lorsqu'il est utilisé avec les appareils BACTEC de la série à fluorescence est un milieu de culture non sélectif servant de complément aux milieux d'hémoculture aérobie pour la mise en évidence des mycobactéries, levures et champignons du sang. Ce milieu peut aussi servir à la culture de liquides organiques stériles lorsque la présence de levures ou de champignons est suspectée.

**RESUME ET EXPLICATION**

Depuis le milieu des années 1980 et l'accroissement de la population des personnes dont le système immunitaire est compromis, la fréquence des cas de septicémie causée par pathogènes opportunistes tels que des levures, des champignons et des mycobactéries 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. En 1990, l'augmentation des cas confirmés d'infections mycobactériennes non tuberculeuses se traduisait par une incidence cumulée de 7,6 %.<sup>1</sup> On a aussi constaté que l'incidence des mycoses a augmenté de façon régulière depuis le début des années 1980. Ces faits rendent plus pressant le besoin de mettre à la disposition des laboratoires d'analyses cliniques des procédures efficaces de diagnostic des mycoses et des bactériémies.

Les U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ont recommandé que les laboratoires fassent tous les efforts possibles pour utiliser les méthodes les plus rapides actuellement disponibles pour établir un diagnostic des mycobactéries. Ces recommandations font état de l'utilisation d'un milieu liquide pour la culture des mycobactéries.<sup>2,4</sup>

Les appareils BACTEC de la série à fluorescence sont conçus pour la détection rapide de microorganismes dans des échantillons cliniques. Le milieu de culture BACTEC Myco/F Lytic correspond à une combinaison bouillon Middlebrook 7H9 et bouillon cœur-cervelette pour la mise en évidence des mycobactéries à partir d'échantillons sanguins et pour celle des levures et des champignons à partir du sang ou des liquides physiologiques stériles. Des modifications spécifiques ont été effectuées afin d'améliorer la croissance et la mise en évidence des mycobactéries, des levures et des champignons. Ces modifications comprennent l'addition de citrate d'ammonium ferrique comme source de fer pour des mycobactéries et des champignons spécifiques, 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 capteur 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 détecteur est surveillé par l'appareil BACTEC de la série à fluorescence afin de détecter une augmentation de la fluorescence, laquelle est proportionnelle à la diminution de l'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 pour la détection rapide des mycobactéries dans le sang et celle des levures et des champignons dans le sang et les liquides physiologiques stériles. Les échantillons 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 un appareil **BACTEC** de la série à fluorescence et il est agité en permanence et incubé à 35 °C afin d'obtenir un taux de mise en évidence maximal. La durée du protocole d'analyse de défaut est de 42 jours. La durée recommandée du protocole d'analyse pour les organismes suivants est 7 jours pour les levures, 30 jours pour les champignons et 42 jours pour les mycobactéries. 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 détecteur est lu par l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence toutes les 10 minutes. L'analyse du taux de réduction de l'oxygène, tel que l'a mesuré 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 35 °C. Le milieu n'est pas sélectif et permet la croissance d'autres organismes aérobies tels que les bactéries lesquelles peuvent, si elles sont présentes, affecter la mise en évidence des mycobactéries, des levures et des champignons à croissance plus lente. Les flacons de culture qui restent négatifs une fois l'analyse achevée 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 :

Liste des composants

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

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

Ce milieu **BACTEC** est fourni enrichi en CO<sub>2</sub> et O<sub>2</sub>.

Le milieu **BACTEC Myco/F Lytic** ne requiert aucune addition de supplément. Chaque flacon de 40 mL du 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 et précautions

Pour le diagnostic *in vitro*.

Ce produit contient du caoutchouc naturel sec.

**Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »<sup>5-8</sup> et les consignes en vigueur dans l'établissement en vigueur pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques.**

Si l'objectif est de mettre en évidence des mycobactéries, les directives du CDC-NIH conseillent vivement de placer l'appareil d'analyse dans un laboratoire pour mycobactéries où les questions de sécurité supplémentaires que pose la mise en évidence des mycobactéries peuvent être traitées.<sup>9</sup>

Les flacons **Myco/F Lytic** peuvent accepter plus que les 5 mL de volume maximum recommandés pour l'échantillon. Il faut donc surveiller le volume de remplissage.

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.<sup>9</sup>

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 piqûres accidentelles.

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

**Les flacons de culture positifs pour les repiquages ou les colorations, etc. :** Avant d'effectuer un prélèvement, il est nécessaire de relâcher le gaz qui s'accumule d'habitude du fait du métabolisme microbien. Les prélèvements et les remises à la pression du flacon doivent être effectués dans une hotte biologique de sécurité et il convient de porter des vêtements protecteurs appropriés y compris masque et gants. Voir la section **METHODE** pour plus d'informations sur le repiquage.

## Flacons cassés ou qui fuient

**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, respecter les « Précautions standard ». Eliminer les flacons de façon adéquate.

Si 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. Communiquer avec 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 **BD Diagnostics** en contactant le représentant local de **BD** approprié. Des recommandations 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.<sup>9</sup>

## Instructions pour la conservation

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

NE PAS utiliser au-delà de la date de péremption.

## PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

**NOTA : Il est conseillé de répéter cette procédure avec le personnel concerné avant de l'utiliser avec 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 mL à 5 mL, 3 mL à 5 mL donnant la mise en évidence optimale. 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 désirés, 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 PSS 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 ; *Candida glabrata*, ATCC 15545 ; *Cryptococcus neoformans*, ATCC 13690), un microscope et les matériels nécessaires pour la coloration des lames et le repiquage des flacons.

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

1. Retirer la capsule de protection du flacon **BACTEC** et l'inspecter pour 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.
2. 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.
3. 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 METHODE). Les flacons ensemencés doivent être placés dans les appareils **BACTEC** de la série à fluorescence dès que possible pour être incubés et suivis.
4. Les flacons introduits dans l'appareil seront automatiquement analysés pour toute la durée du protocole d'analyse. La durée du protocole d'analyse de défaut est 42 jours. La durée recommandée de ce protocole d'analyse pour les organismes suivants est 7 jours pour les levures, 30 jours pour les champignons et 42 jours pour les mycobactéries. Se reporter au manuel d'utilisation de l'appareil **BACTEC** approprié pour établir la durée du protocole. Si un flacon **BACTEC Myco/F Lytic** négatif, présente un aspect visuel positif (par exemple septum protubérant) une fois le protocole d'analyse achevé, il doit être repiqué, soumis à une coloration de Gram et acido résistante et présumé positif et traité comme tel.
5. Les flacons positifs seront identifiés par l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence. Le détecteur à l'intérieur du flacon n'apparaîtra pas visiblement différent dans les flacons positifs et les flacons négatifs ; mais l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence sera lui capable de déterminer une différence dans la fluorescence du détecteur. **Tous les flacons positifs doivent être manipulés dans une hotte de sécurité biologique. Les pratiques de sécurité biologique de niveau 3 ainsi que les équipements et les installations de contention sont recommandés.**

Il est nécessaire de repiquer toute culture positive et de préparer un frottis pour la coloration de Gram/acido-résistante.

Analyser un flacon positif selon l'appareil

- a) Retirer le flacon de l'appareil et le placer dans une hotte de sécurité biologique.
- b) Inverser le flacon pour mélanger le contenu.
- c) Dans la hotte de sécurité biologique, aérer le flacon pour le remettre à la pression atmosphérique.
- d) Prélever une fraction aliquote (environ 0,1 mL) pour les colorations (AFB et Gram).
- e) Inspecter le frottis et noter les résultats préliminaires seulement après avoir évalué le frottis.

**Repiquage et retour du flacon dans l'appareil** : 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 d'un 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 manière 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.**

Organisme	Temps nécessaire pour la détection (jours)
<i>Mycobacterium intracellulare</i> , ATCC 13950	8 à 16
<i>Candida glabrata</i> , ATCC 15545	< 3
<i>Cryptococcus neoformans</i> , ATCC 13690	< 3

## CONTROLE DE QUALITE

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

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

Il convient d'inoculer le flacon positif avec une dilution à 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 détecté 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 BD pour une assistance supplémentaire.

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

## RAPPORTER LES RESULTATS

Le statut positif établi par l'appareil doit 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 ou de Gram est positif, repiquer sur milieu solide et noter pour résultat : positif selon l'appareil, positif pour la coloration acido-résistante ou la coloration de Gram, 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 3 h qui suivent sa sortie de l'appareil et lui laisser terminer le protocole d'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

Les flacons BACTEC Myco/F Lytic ne sont pas sélectifs et permettent la croissance d'autres organismes aérobies en plus des levures, des champignons et 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, levures et champignons 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.

Inoculer un volume de sang compris entre 1 – 5 mL est acceptable, mais des volumes de 3 – 5 mL donnent la mise en évidence optimale. Lors d'études internes avec moins de 3 mL de sang, *M. intracellulare*, *M. malmoense*, *M. haemophilum* et *M. xenopi* ont montré des retards dans la détection et/ou une mise en évidence compromise sur BACTEC Myco/F Lytic. De faux positifs ont plus de chance d'être obtenus lorsque le volume de sang est supérieur à 5 mL.

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 mais n'indiquera 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.

La coloration des mycobactéries acido-résistantes peut varier en fonction de la souche, de l'âge de la culture et de diverses autres variables. 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 35 °C ce qui exclut potentiellement la mise en évidence de mycobactéries nécessitant des températures d'incubation différentes (soit *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). L'obtention de ces organismes demande des méthodes de culture supplémentaires.

*Penicillium purpurescens* et *Blastomyces dermatitidis* n'ont pas pu être décelés sur le milieu BACTEC Myco/F Lytic. *Hansenula anomala*, *Exophiala jeamselmei*, *Actinomyces bovis*, *Rhodotorula rubra*, et *Mucor ramosissimus* ont donné des résultats aberrants pour les petites quantités d'inoculum (<10 UFC/flacon) lors des études d'ensemencement. La mise en évidence de ces organismes peut nécessiter des méthodes de culture supplémentaires.

Les isolats suivants ont été reconnus comme positifs par l'appareil BACTEC 9240 sur milieu BACTEC Myco/F Lytic lors d'études internes de culture ensemencées et/ou d'essais cliniques :

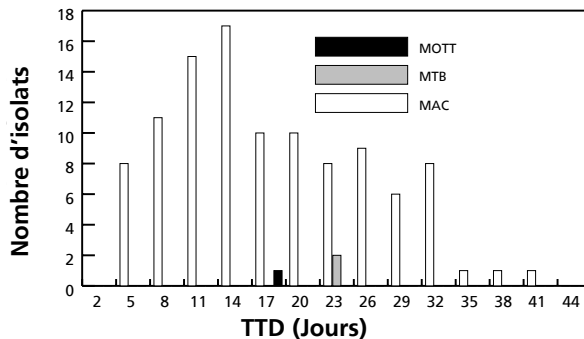
<i>Mycobacterium terrae</i>	<i>Mycobacterium abscessus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium xenopi</i>	<i>Histoplasma capsulatum</i>
<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Mycobacterium malmoense</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Mycobacterium haemophilum</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Nocardia asteroides</i>
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Malassezia furfur</i>
<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
<i>Mycobacterium szulgai</i>	<i>Candida krusei</i>	
<i>Mycobacterium simiae</i>	<i>Candida tropicalis</i>	
<i>Mycobacterium celatum</i>	<i>Jellomyces dermatitidis</i>	

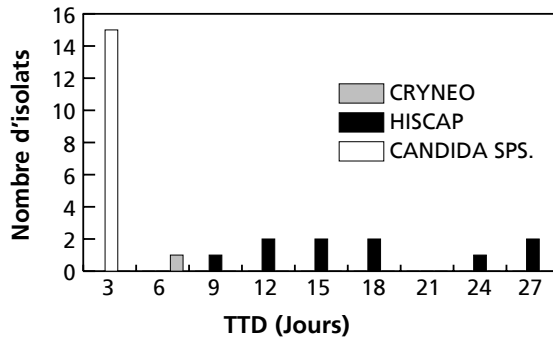
#### RESULTATS ESCOMPTEs

1 488 hémocultures provenant de patients suspectés souffrir d'infections à mycobactéries, à levures ou à champignons ont été évaluées sur milieu de culture BACTEC Myco/F Lytic par le système BACTEC 9240 pour l'hémoculture. Des 315 cultures positives, 243 ont donné des organismes cliniquement significatifs, parmi lesquels 131 (53,9 %) étaient des mycobactéries, 35 (14,4 %) étaient des levures ou des champignons et 77 (31,7 %) étaient d'autres bactéries. Des 1 488 échantillons sanguins analysés pendant l'étude clinique, onze (0,7%) ont été déterminés comme étant des faux positifs sur milieu BACTEC Myco/F Lytic (positif selon l'appareil, frottis et/ou repiquage négatifs). Des 315 flacons Myco/F Lytic jugés positifs par l'appareil, 11 (3,5 %) se sont révélés être des faux positifs. Des 1 488 échantillons sanguins analysés pendant l'étude clinique, un seul (1) a été déterminé comme étant un faux négatif (0,07 %) sur milieu BACTEC Myco/F Lytic (négatif selon l'appareil, frottis et/ou repiquage positifs). Des 1 173 flacons de culture BACTEC Myco/F Lytic jugés négatifs par l'appareil, 1 (0,08 %) s'est révélé être un faux négatif. Le taux de contamination pendant cette étude a été estimé à 3,3 %.

La distribution de la fréquence des échantillons déterminés positifs sur milieu de culture BACTEC Myco/F Lytic avec le système BACTEC de la série 9000 pour hémoculture lors des essais cliniques est représentée dans la FIGURE 1 pour le temps nécessaire à la détection (TTD) des mycobactéries et dans la FIGURE 2 pour le TTD des levures et des champignons.

FIGURE 1





**CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE**

Le milieu de culture BACTEC Myco/F Lytic a été évalué avec l'appareil BACTEC 9240 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 infectés par le SIDA, des patients dont le système immunitaire était compromis, des patients ayant reçu une greffe et des patients présumés atteints d'une infection mycobactérienne. Le milieu de culture BACTEC Myco/F Lytic a été comparé au milieu de culture BACTEC 13A pour la mise en évidence et la détection de mycobactéries à partir des échantillons sanguins. Un total de 1 100 échantillons sanguins ont été analysés pendant cette étude. Le nombre total d'isolats de mycobactéries pathogènes mis en évidence dans cette étude était de 111 (voir tableau 1). De ceux-ci, dix (9 %) ont été isolés seulement sur le milieu de culture BACTEC Myco/F Lytic tandis que trois (3 %) n'ont été mis en évidence que sur le milieu de culture BACTEC 13A.

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

Organisme	Isolats totaux	Myco/F Lytic sur milieu	Sur milieu 13A seulement	Sur les deux milieux
<b>Toutes les mycobactéries pathogènes :</b>				
<i>Mycobacterium avium</i>	108	10	3	95
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2	0	0	2
<i>Mycobacterium celatum</i>	1	0	0	1
<b>Total</b>	<b>111</b>	<b>10</b>	<b>3</b>	<b>98</b>

Le milieu de culture BACTEC Myco/F Lytic a été évalué avec l'appareil BACTEC 9240 sur quatre sites cliniques considérés comme des grands hôpitaux d'enseignement de soins tertiaires. Les populations sur chaque site comprenaient des patients infectés du SIDA, des patients dont le système immunitaire était compromis, des patients ayant reçu une greffe et des patients suspectés souffrir d'une mycose. Le milieu de culture BACTEC Myco/F Lytic a été comparé au système ISOLATOR (Wampole Laboratories, Cranbrook, NJ) pour la mise en évidence et la détection des levures et des champignons à partir des échantillons sanguins. Les flacons BACTEC Myco/F Lytic ont été inoculés avec 1 – 5 mL de sang tandis que les tubes ISOLATOR étaient inoculés avec 3 – 10 mL de sang. Le sédiment provenant d'un tube ISOLATOR a été mis en culture en boîte de pétri sur une gélose-chocolat, une gélose-bouillon coeur-cerveille contenant 5 % de sang de mouton et une gélose-dextrose de Sabouraud. Un total de 748 échantillons ont été analysés pendant cette étude. Le nombre total d'isolats de levures et champignons pathogènes mis en évidence dans cette étude était de 32 (voir tableau 2). De ceux-ci, sept (22 %) ont été isolés seulement sur le milieu de culture BACTEC Myco/F Lytic tandis que six (19 %) n'ont été mis en évidence que par le système ISOLATOR.

**Tableau 2 : 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	Isolator seulement	Avec les deux systèmes
<b>Tous les champignons pathogènes :</b>				
<i>Candida albicans</i>	10	3	3	4
<i>Candida glabrata</i>	5	0	1	4
<i>Candida krusei</i>	2	2	0	0
<i>Candida parapsilosis</i>	1	1	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	1	1	0	0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1	0	0	1
<i>Fusarium species</i>	1	0	1	0
<i>Histoplasma capsulatum</i>	11	0	1	10
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>19</b>

**AVAILABILITY**

N° réf.	Description
442003	BACTEC Myco/F Lytic Culture Vials (flacons de culture), cartons de 25 flacons
442288	BACTEC Myco/F Lytic Culture Vials (flacons de culture), cartons de 50 flacons

REFERENCES : voir la rubrique "References" du texte anglais

# **BD BACTEC Myco/F Lytic-Kulturfläschchen** **Angereicherte Middlebrook 7H9- und Hirn-Herz-Infus-Bouillon** **Zur Verwendung mit BACTEC-Geräten der Fluoreszenz-Serie**

Deutsch

## VERWENDUNGSZWECK

**BACTEC Myco/F Lytic-Kulturmedium** ist bei Verwendung mit **BACTEC-Geräten** der Fluoreszenz-Serie ein nicht selektives Kulturmedium, das als Zusatz für aerobe Blutkulturmedien für die Isolierung von Mykobakterien, Hefepilzen und Pilzen aus Blut verwendet wird. Dieses Medium kann auch zur Kultivierung steriler Körperflüssigkeiten eingesetzt werden, wenn Verdacht auf Hefepilze oder Pilze besteht.

## ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Seit Mitte der achtziger Jahre und der Zunahme der Anzahl abwehrgeschwächter Patienten ist das Auftreten von Septikämien aufgrund von opportunistischen Pathogenen wie Hefen, Pilzen und 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 nichttuberkulöser Infektionen mit Mykobakterien bereits auf 7,6 % angestiegen.<sup>1</sup> Seit Anfang der achtziger Jahre ist außerdem ein beständiger Anstieg von Fällen mit Pilzinfektionen zu verzeichnen. Daher ist der Bedarf klinischer Labors an effektiven diagnostischen Verfahren für Pilz- und Mykobakterieninfektionen gestiegen.

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.<sup>2,4</sup>

Die **BACTEC-Geräte** der Fluoreszenz-Serie sind für den schnellen Nachweis von Mikroorganismen in klinischen Proben vorgesehen. **BACTEC Myco/F Lytic** ist ein Kulturmedium aus Middlebrook 7H9- und Hirn-Herz-Infus-Bouillon zur Isolierung von Mykobakterien aus Blutproben sowie von Hefen und Pilzen aus Blut und sterilen Körperflüssigkeiten. Zur Verbesserung des Wachstums und der Isolierung von Mykobakterien, Hefen und Pilzen wurde das Kulturmedium mit verschiedenen Zusätzen modifiziert. Diese Zusätze umfassen Ammoniumeisen(III)-citrat als Eisenquelle für spezifische Stämme von Mykobakterien und Pilzen, 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-Gerät** der Fluoreszenz-Serie überprüft, ob der Sensor einen Fluoreszenzanstieg anzeigt, der proportional zur Abnahme des Sauerstoffgehalts ist. Eine positive Messung deutet auf das vermutliche Vorhandensein lebensfähiger Mikroorganismen im betreffenden Fläschchen hin.

## VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Das **BACTEC Myco/F Lytic-Kulturmedium** dient zum schnellen Nachweis von Mykobakterien in Blut sowie von Hefen und Pilzen in Blut und sterilen Körperflüssigkeiten. Proben 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-Gerät** der Fluoreszenz-Serie gestellt, wo es kontinuierlich geschüttelt und bei 35 °C inkubiert wird, um eine maximale Isolierung zu erzielen. Die vorgegebene Testdauer beträgt 42 Tage. Die für die verschiedenen Organismen empfohlene Testdauer beträgt 7 Tage für Hefen, 30 Tage für Pilze und 42 Tage für Mykobakterien. Jedes Fläschchen enthält einen Sensor, der die durch Metabolismus und Wachstum von Mikroorganismen hervorgerufene Abnahme der Sauerstoffkonzentration im Fläschchen nachweist. Der Sensor wird alle zehn Minuten vom **BACTEC-Gerät** der Fluoreszenz-Serie überprüft. 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 35 °C zum Wachstum fähig sind. Das Medium ist nicht selektiv und unterstützt das Wachstum anderer aerober Organismen, einschließlich Bakterien, die bei Vorhandensein die Isolierung von langsamer wachsenden Mykobakterien, Hefen und Pilzen beeinträchtigen können. Kulturfläschchen, die am Ende der gesamten Testdauer negativ sind und keine sichtbare Zeichen von Positivität aufweisen, werden aus 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 % (Gew./Vol. %)
Hirn-Herz-Infus	0,5 % (Gew./Vol. %)
Casein-Hydrolysat	0,10 % (Gew./Vol. %)
Supplement H	0,10 % (Gew./Vol. %)
Inosit	0,05 % (Gew./Vol. %)
Glycerol	0,10 % (Gew./Vol. %)
Natriumpolyanetholsulfonat	0,025 % (Gew./Vol. %)
Polysorbat 80	0,0025 % (Gew./Vol. %)
Pyridoxal-HCl	0,0001 % (Gew./Vol. %)
Ammoniumeisen(III)-citrat	0,006 % (Gew./Vol. %)
Kaliumphosphat	0,024 % (Gew./Vol. %)
Saponin	0,24 % (Gew./Vol. %)
Anti-Schaummittel	0,01 % (Gew./Vol. %)

Die Zusammensetzung kann gemäß speziellen Leistungsanforderungen abgeändert worden sein.

Dieses **BACTEC-Medium** ist mit CO<sub>2</sub>- und O<sub>2</sub>-Zusatz abgefüllt.

**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.

## Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

*In-vitro*-Diagnostikum.

Dieses Produkt enthält Naturkautschuk (getrocknet).

**Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen wie Hepatitis-Viren und HIV enthalten. Beim Umgang mit allen durch Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“<sup>5-8</sup> sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten.**

Wenn eine Isolierung von Mykobakterien vorgesehen ist, wird gemäß den Richtlinien der CDC-NIH dringend empfohlen, das Testgerät im Mykobakterienlabor aufzustellen, in dem die zusätzlichen Sicherheitsvorkehrungen, die bei der Isolierung von Mykobakterien erforderlich sind, getroffen werden können.<sup>9</sup>

Die **BACTEC Myco/F Lytic**-Fläschchen können mehr als das empfohlene maximale Probenvolumen von 5 mL aufnehmen. Daher sollte das Füllvolumen genau überwacht 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.<sup>9</sup>

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 Myco/F Lytic-Fläschchen autoklaviert 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. Probenentnahme und Entlüftung der Fläschchen müssen in einer biologischen Sicherheitswerkbank durchgeführt werden, und Schutzkleidung, einschließlich Handschuhen und Gesichtsmaske, sollte getragen werden. Der Abschnitt **VERFAHREN** enthält weitere Informationen zur Subkultivierung.

#### **Undichte oder zerbrochene Fläschchen**

**ACHTUNG:** Die Fläschchen müssen vorsichtig gehandhabt werden, da undichte oder zerbrochene inokulierte Fläschchen ein Aerosol mit Mykobakterien, einschließlich *M. tuberculosis* oder 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. Die Fläschchen sind ordnungsgemäß zu entsorgen.

Sollte der Inhalt eines Fläschchens in das Gerät selbst ausgelaufen oder ein Fläschchen versehentlich zerbrochen worden sein, 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 raumluftechnischen 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. Setzen Sie sich unbedingt mit Ihrer örtlichen BD-Vertretung in Verbindung, um BD Diagnostics über einen solchen Fall in Kenntnis zu setzen. Richtlinien zur ordnungsgemäßen Handhabung von Mykobakterienkontamination durch zerbrochene Kulturfläschchen oder Bouillonsuspensionen wurden von den CDC erstellt.<sup>9</sup>

#### **Aufbewahrung**

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

NICHT nach dem Verfallsdatum verwenden.

#### **PROBENTENNAHME**

**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 Probe muß unter Beachtung aseptischer Kautelen entnommen werden, um die Möglichkeit einer Kontamination zu reduzieren. Zur Kultivierung können Blutvolumina zwischen 1 mL und 5 mL verwendet werden. Eine optimale Ausbeute wird mit 3 mL bis 5 mL erzielt. 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 anderes Schlauchset mit Butterfly-Griffplatte verwendet werden. Bei Verwendung eines Kanülens-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 Probenentnahme 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, um den Blutfluß zu stoppen, und die Kanüle vom **BACTEC**-Fläschchen entfernen. Das **BACTEC**-Fläschchen sollte 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 so schnell wie möglich 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, Entlüftungsrichtung, mykobakterielles Desinfektionsmittel, 70%iger Isopropylalkohol, Qualitätskontrollorganismen (*Mycobacterium intracellulare*, ATCC 13950; *Candida glabrata*, ATCC 15545; *Cryptococcus neoformans*, ATCC 13690), Mikroskop und das zur Objektträgerfärbung und Subkultivierung der Fläschchen benötigte Material.

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 Septums 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 mit einer Spritze injizieren oder direkt entnehmen (siehe "Verfahrensbeschränkungen"). Inokulierte Fläschchen sollten so schnell wie möglich zur Inkubation und Überwachung in die **BACTEC**-Geräte der Fluoreszenz-Serie gestellt werden.
4. Im Gerät befindliche Fläschchen werden für die Gesamtdauer der Testprotokollaufnahme automatisch getestet. Die vorgegebene Testdauer beträgt 42 Tage. Die für die verschiedenen Organismen empfohlene Testdauer beträgt 7 Tage für Hefen, 30 Tage für Pilze und 42 Tage für Mykobakterien. Informationen zum Festlegen des Protokollierungszeitraums finden Sie im Benutzerhandbuch des entsprechenden **BACTEC**-Geräts. Falls am Ende der Testdauer ein negatives **BACTEC Myco/F Lytic**-Fläschchen positiv erscheint (z. B., Wölbung des Septums), sollte eine Subkultur angelegt, ein säurefester Ausstrich und eine Gramfärbung durchgeführt und das Fläschchen als vermutlich positiv behandelt werden.
5. Positive Fläschchen werden vom **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie ermittelt. Bei positiven und negativen Fläschchen ist am Sensor im Fläschchen kein sichtbarer Unterschied zu erkennen. Das **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie kann jedoch einen Unterschied bei der Sensorfluoreszenz feststellen. **Alle positiven Fläschchen sollten in einer biologischen Sicherheitswerkbank gehandhabt werden. Arbeitsmethoden und physikalische Sicherheitsvorkehrungen sollten den Vorschriften der Biologischen Sicherheitsstufe 3 entsprechen.**

Von allen positiven Kulturen sollte eine Subkultur angelegt und ein entsprechender Ausstrich angefertigt werden.

Verarbeitung eines Geräte-positiven Fläschchens

- Das Fläschchen aus dem Gerät nehmen und in eine biologische Sicherheitswerkbank stellen.
- Fläschchen kippen, um den Inhalt zu mischen.
- Das Fläschchen entlüften, um den Überdruck abzulassen.
- Dem Fläschchen eine kleine Probenmenge (etwa 0,1 mL) zur Anfertigung von Färbungen (säurefester Ausstrich oder Gram-Färbung) entnehmen.
- Ausstrich prüfen und nach der Auswertung einen vorläufigen Bericht erstellen.

**Subkultivierung und Rückgabe des Fläschchens:** Das Anlegen von Subkulturen muß in einer biologischen Sicherheitswerkbank durchgeführt werden, und Schutzkleidung, einschließlich Handschuhen und Gesichtsmaske, sollte getragen werden. Die Fläschchen vor der Subkultivierung aufrecht stellen und das Septum dabei mit einem Alkoholtupfer abdecken. Um Überdruck im Fläschchen 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 Kompressen 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

Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Anwendern wird geraten, sich über geeignete Maßnahmen zur Qualitätskontrolle an die einschlägigen CLSI-Richtlinien (ehemals NCCLS) und CLIA-Vorschriften zu halten.

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

Organismus	Tage bis zum Nachweis
<i>Mycobacterium intracellulare</i> , ATCC 13950	8 bis 16
<i>Candida glabrata</i> , ATCC 15545	< 3
<i>Cryptococcus neoformans</i> , ATCC 13690	< 3

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

Informationen bezüglich der Qualitätskontrolle für das **BACTEC**-System finden Sie im Benutzerhandbuch des betreffenden **BACTEC**-Geräts.

#### DOKUMENTATION DER TESTERGEBNISSE

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

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

**Wenn keine Mikroorganismen** in den Ausstrichen vorliegen, eine Subkultur auf festem Medium anlegen, das Fläschchen innerhalb von 3 h nach der Entnahme als laufendes negatives Fläschchen in das Gerät zurück stellen und das Testprotokoll bis zum Ende durchlaufen lassen. Kein Ergebnis zu dokumentieren.

Vom dem Myco/F Lytic-Fläschchen Subkulturen zur Durchführung von Identifizierungs- und Empfindlichkeitstests anlegen.

#### VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

**BACTEC Myco/F Lytic**-Fläschchen sind nicht selektiv und unterstützen nicht nur das Wachstum von Mykobakterien, Hefen und Pilzen, sondern auch von anderen aeroben Organismen. Positive Kulturfläschchen können eine oder mehrere Mykobakterien-Spezies und/oder andere nicht-mykobakterielle Spezies enthalten. Schnell-wachsende Organismen können den Nachweis von langsamer wachsenden Mykobakterien, Hefen und Pilzen 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.

Zur Inokulation können Blutvolumina von 1 – 5 mL verwendet werden, eine maximale Ausbeute wird jedoch mit 3 – 5 mL erzielt. Bei internen Studien mit weniger als 3 mL Blut war der Nachweis von *M. intracellulare*, *M. malmoense*, *M. haemophilum* und *M. xenopi* mit dem **BACTEC Myco/F Lytic**-Kulturmedium verzögert und/oder die Isolierung beeinträchtigt. Wenn das Blutvolumen 5 mL übersteigt, nimmt die Möglichkeit für falsch-positive Ergebnisse wahrscheinlich zu.

Eine Kontamination der Probe während der Probenentnahme und der Inokulation in das **BACTEC**-Fläschchen 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.

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

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

**BACTEC Myco/F Lytic**-Kulturfläschchen werden bei 35 °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.

*Penicillium purpurescens* und *Blastomyces dermatitidis* waren mit dem **BACTEC Myco/F Lytic**-Kulturmedium nicht nachweisbar. *Hansenula anomala*, *Exophiala jeikei*, *Actinomyces bovis*, *Rhodotorula rubra* und *Mucor ramosissimus* lieferten in Studien mit beimpften Kulturen bei niedrigen Koloniezahlen (< 10 KBE/Fläschchen) inkonsistente Ergebnisse. Die Isolierung derartiger Organismen erfordert u.U. zusätzliche Kulturverfahren.

Die folgenden Isolate wurden in internen Studien und/oder klinischen Tests mit beimpften Kulturen im **BACTEC 9240**-Gerät bei der Verwendung von **BACTEC Myco/F Lytic**-Medium nachgewiesen:

<i>Mycobacterium terrae</i>	<i>Mycobacterium abscessus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium xenopi</i>	<i>Histoplasma capsulatum</i>
<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Mycobacterium malmoense</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Mycobacterium haemophilum</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Nocardia asteroides</i>
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Malassezia furfur</i>
<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
<i>Mycobacterium szulgai</i>	<i>Candida krusei</i>	
<i>Mycobacterium simiae</i>	<i>Candida tropicalis</i>	
<i>Mycobacterium celatum</i>	<i>Ajellomyces dermatitidis</i>	

## ZU ERWARTENDE ERGEBNISSE

1.488 Blutkulturen von Patienten mit Verdacht auf Mykobakterien-, Hefe- oder Pilzinfektion wurden unter Verwendung von **BACTEC Myco/F Lytic-Kulturfläschchen** im **BACTEC 9240-Blutkultursystem** beurteilt. Aus 243 der 315 positiven Kulturen wurden klinisch signifikante Organismen mit folgender Verteilung isoliert: 131 (53,9 %) Mykobakterien, 35 (14,4 %) Hefen oder Pilze und 77 (31,7 %) andere Bakterien. Von den 1.488 in der klinischen Studie getesteten Blutproben wurden elf **BACTEC Myco/F Lytic-Kulturfläschchen** (0,7 %) als falsch-positiv beurteilt (Geräte-positiv, Ausstrich und/oder Subkultur negativ). Von den 315 Geräte-positiven Myco/F Lytic-Fläschchen wurden 11 (3,5 %) als falsch-positiv beurteilt. Von den 1.488 in der klinischen Studie getesteten Blutproben wurde ein (1) **BACTEC Myco/F Lytic-Kulturfläschchen** (0,07 %) als falsch-negativ beurteilt (Geräte-negativ, Ausstrich und/oder Subkultur positiv). Von den 1.173 Geräte-negativen **BACTEC Myco/F Lytic-Kulturfläschchen** wurde ein Fläschchen (0,08 %) als falsch-negativ beurteilt. Die Kontaminationsrate während dieser Beurteilung betrug 3,3 %.

Die Verteilung der Proben, die in klinischen Tests mit den **BACTEC Myco/F Lytic-Kulturfläschchen** im **BACTEC 9000-Blutkultursystem** positiv waren, ist in **ABBILDUNG 1** nach Tagen bis zum Nachweis von Mykobakterien und in **ABBILDUNG 2** nach Tagen bis zum Nachweis von Hefen und Pilzen dargestellt.

ABBILDUNG 1

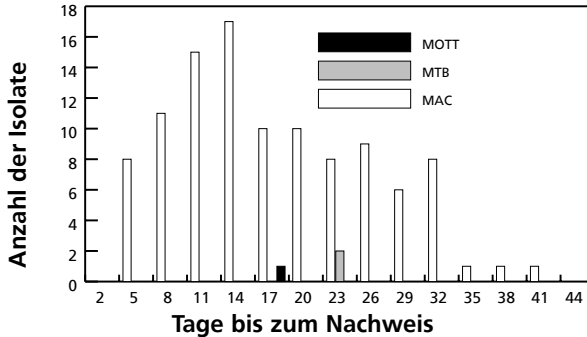
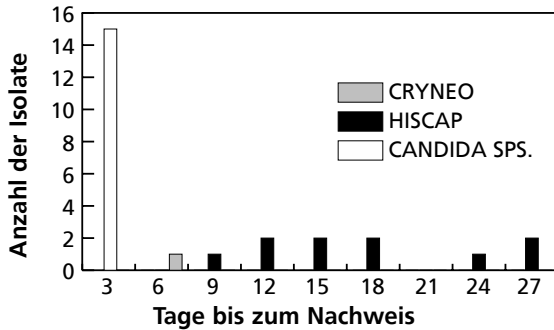


ABBILDUNG 2



## LEISTUNGSMERKMALE

Das **BACTEC Myco/F Lytic-Medium** wurde mit dem **BACTEC 9240-Gerät** in zwei großen Lehrkrankenhäusern der Maximalversorgung an geographisch unterschiedlichen Standorten beurteilt. Die Patientenpopulation an den Krankenhäusern umfaßte Patienten mit HIV-Infektion, Patienten mit Immundefekten, Transplantatempfänger und Patienten mit Verdacht auf Mykobakterieninfektion. Das **BACTEC Myco/F Lytic-Medium** wurde mit dem **BACTEC 13A-Medium** zur Isolierung und zum Nachweis von Mykobakterien in Blutproben verglichen. Im Verlauf der Studie wurden insgesamt 1.100 Blutkulturproben getestet. Die Gesamtzahl der in der Studie gewonnenen pathogenen Mykobakterienisolate betrug 111 (Siehe TABELLE 1). Von diesen positiven Kulturen wurden zehn (9 %) ausschließlich mit dem **BACTEC Myco/F Lytic-Medium** und drei (3 %) ausschließlich mit dem **BACTEC 13A-Medium** isoliert.

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

Organismus	Gesamtzahl der Isolate	Nur Myco/F LYTIC-Medium	Nur 13A-Medium	Beide
<b>Alle pathogenen Mykobakterien:</b>				
<i>Mycobacterium avium</i>	108	10	3	95
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2	0	0	2
<i>Mycobacterium celatum</i>	1	0	0	1
<b>Gesamt</b>	<b>111</b>	<b>10</b>	<b>3</b>	<b>98</b>

Das **BACTEC Myco/F Lytic-Medium** wurde mit dem **BACTEC 9240-Gerät** in vier großen Lehrkrankenhäusern der Maximalversorgung beurteilt. Die Patientenpopulation an den Krankenhäusern umfaßte Patienten mit HIV-Infektion, Patienten mit Immundefekten, Transplantatempfänger und Patienten mit Verdacht auf Pilzinfektion. Das **BACTEC Myco/F Lytic-Medium** wurde mit dem **ISOLATOR-System** (Wampole Laboratories, Cranbrook, NJ) zur Isolierung und zum Nachweis von Hefen und Pilzen in Blutproben verglichen. Die Myco/F Lytic-Fläschchen wurden mit 1 – 5 mL Blut und die **ISOLATOR-Röhrchen** mit 3 – 10 mL Blut inokuliert. Das Sediment in den **ISOLATOR-Röhrchen** wurde auf Schokoladenagar, Hirn-Herz-Infus-Agar mit 5 % Schafsblood und Sabouraud-

Dextrose-Agar ausgestrichen. Im Verlauf der Studie wurden insgesamt 748 Proben getestet. Die Gesamtzahl der in der Studie gewonnenen pathogenen Hefe- und Pilzisolat betrug 32 (Siehe TABELLE 2). Von diesen positiven Kulturen wurden sieben (22 %) ausschließlich mit dem BACTEC Myco/F Lytic-Medium und sechs (19 %) ausschließlich mit dem ISOLATOR-System isoliert.

TABELLE 2: ZUSAMMENFASSUNG DER IN KLINISCHEN STUDIEN MIT DEM MYCO/F LYTIC-MEDIUM GEWONNENEN ISOLATE

Organismus	Gesamtzahl der Isolate	Nur Myco/F Lytic-Medium	Nur Isolator	Beide
<b>Alle pathogenen Pilze:</b>				
<i>Candida albicans</i>	10	3	3	4
<i>Candida glabrata</i>	5	0	1	4
<i>Candida krusei</i>	2	2	0	0
<i>Candida parapsilosis</i>	1	1	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	1	1	0	0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1	0	0	1
<i>Fusarium</i> -Spezies	1	0	1	0
<i>Histoplasma capsulatum</i>	11	0	1	10
Gesamt	32	7	6	19

#### LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr.	Beschreibung
442003	BACTEC Myco/F Lytic Culture Vials (Kulturfläschchen), Packung mit 25 Fläschchen
442288	BACTEC Myco/F Lytic Culture Vials (Kulturfläschchen), Packung mit 50 Fläschchen

LITERATUR: S. "References" im englischen Text.

## BD Flacons di coltura BACTEC Myco/F Lytic Brodo Middlebrook 7H9 arricchito e Infuso di Cuore e Cervello Per utilizzo con gli strumenti BACTEC della serie fluorescente

Italiano

#### USO PREVISTO

Il terreno di coltura BACTEC Myco/F Lytic, quando usato con gli strumenti BACTEC della serie fluorescente, è un terreno non selettivo da utilizzare come integratore dei terreni di emocoltura in aerobiosi per il recupero di micobatteri, lieviti e funghi da campioni ematici. Questo terreno può essere usato anche per la coltura di fluidi biologici sterili, in caso di sospetta presenza di lieviti o funghi.

#### SOMMARIO E SPIEGAZIONE

A partire dalla metà degli anni 80, con l'aumento di popolazione dei pazienti immuno-compromessi, è aumentata l'incidenza della setticemia causata da agenti patogeni opportunisti, quali lieviti, funghi e micobatteri. 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. Giunti al 1990, l'incidenza complessiva dei casi di infezioni micobatteriche non tubercolari disseminate era del 7,6%.<sup>1</sup> Per tale motivo si è reso necessario per i laboratori clinici adottare procedure diagnostiche efficaci per la fungemia e la micobatteremia.

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.<sup>2,4</sup>

Gli strumenti BACTEC della serie fluorescente sono destinati alla rilevazione rapida di microrganismi in campioni clinici. Il terreno di coltura BACTEC Myco/F Lytic è una formula contenente Brodo Middlebrook 7H9 e Infuso di cuore e cervello appositamente creata per il recupero di micobatteri da campioni di sangue e di lieviti e funghi da sangue e liquidi biologici sterili. Vi sono state apportate modifiche specifiche allo scopo di potenziare la crescita e l'isolamento di micobatteri, lieviti e funghi. 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. Il sensore è monitorato dallo strumento BACTEC della serie fluorescente per rilevare l'aumento di fluorescenza proporzionalmente 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 previsto per il rilevamento rapido di micobatteri dal sangue, e di lieviti e funghi da sangue e liquidi biologici sterili. I campioni vengono inoculati nel flacone BACTEC Myco/F Lytic mediante siringa o prelievo diretto con ago e cannula. Il flacone è introdotto nello strumento BACTEC della serie fluorescente ed è tenuto in agitazione e incubato a 35 °C per consentire il massimo recupero. La durata preimpostata del protocollo del test è di 42 giorni. La durata di protocollo consigliata per gli organismi elencati a seguito è di 7 giorni per i lieviti, 30 giorni per i funghi e 42 giorni per i micobatteri. 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 è monitorato dallo strumento BACTEC della serie fluorescente 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 35 °C. Il terreno non è selettivo e favorisce anche la crescita di altri organismi aerobi fra cui batteri che, se presenti, possono interferire con l'isolamento di lieviti, funghi e micobatteri a crescita più lenta. I flaconi di coltura che rimangono negativi per tutta la durata del protocollo 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:

Elenco degli ingredienti

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

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

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

Questo terreno di coltura **BACTEC** è fornito con supplemento di CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>.

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 ambrato chiaro e trasparente.

## Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Questo prodotto contiene gomma naturale secca.

**I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle linee guida e alle "Precauzioni standard" dettate dagli Organi Istituzionali.<sup>5-8</sup>**

Se si intende procedere al recupero di micobatteri, le norme CDC-NIH (U.S. National Institutes of Health) raccomandano vivamente che lo strumento d'analisi sia posto in un laboratorio per micobatteri in cui vengano adottate procedure di sicurezza addizionali predisposte per il recupero dei micobatteri.<sup>9</sup>

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

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.<sup>9</sup>

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 perduto. 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 Myco/F Lytic inoculati, prima di eliminarli.

**Flaconi positivi da usare per subcoltura, colorazione, etc.:** Prima di effettuare il campionamento, è necessario dar sfogo al gas che spesso si accumula dentro in seguito al metabolismo microbico. Il campionamento e la ventilazione 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 rotti o con perdite

**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 perduto o viene accidentalmente rotto in fase di raccolta o trasporto, usare la normale prassi di laboratorio per le fuoriuscite micobatteriche. In ogni caso, attenersi quanto meno alle "precauzioni standard". Eliminare i flaconi nel modo appropriato.

Nei casi in cui si riscontrino fuoriuscite di liquido dal flacone all'interno dello strumento, o se un flacone viene rotto accidentalmente, spegnere lo strumento immediatamente. Sgombrare 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 alla BD Diagnostics contattando il rappresentante BD di zona. Il CDC ha emanato delle linee guida da seguire in caso di contaminazione micobatterica accidentale dovuta alla rottura delle provette di coltura o delle sospensioni in brodo.<sup>6</sup>

## Istruzioni per la conservazione

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

NON usare oltre la data di scadenza.

## 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 mL e 5 mL; l'isolamento ottimale si ottiene comunque con campioni tra 3 mL e 5 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-agoi Vacutainer e un set di raccolta del sangue Vacutainer, un set di raccolta del sangue Vacutainer Safety-Lok oppure 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 con il 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 al più presto, 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; *Candida glabrata*, ATCC 15545; *Cryptococcus neoformans*, ATCC 13690), microscopio e materiali per la colorazione di vetrini e la coltura secondaria dei flaconi.

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

1. Togliere il tappo dal flacone **BACTEC** e assicurarsi che il flacone non sia incrinato, 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). Non appena possibile, collocare i flaconi inoculati nello strumento **BACTEC** della serie fluorescente per l'incubazione e il monitoraggio.
4. I flaconi dentro allo strumento saranno analizzati automaticamente per tutta la durata del protocollo del test. La durata preimpostata del protocollo del test è di 42 giorni. La durata consigliata del protocollo del test per gli organismi elencati a seguito è di 7 giorni per i lieviti, 30 giorni per i funghi e 42 giorni per i micobatteri. Per definire la durata del protocollo, consultare il manuale d'uso dello strumento **BACTEC** appropriato. Se alla fine del periodo di protocollo un flacone **BACTEC Myco/F Lytic** negativo appare positivo all'esame visivo (diaframma rigonfio) si deve eseguire una subcoltura, una colorazione Gram e per l'acido-resistenza e considerarlo presuntivamente positivo.
5. I flaconi positivi vengono identificati dallo strumento **BACTEC** della serie fluorescente. Il sensore all'interno del flacone non appare visibilmente diverso nei flaconi positivi e negativi; tuttavia, lo strumento **BACTEC** della serie fluorescente è in grado di determinare la differenza di fluorescenza. **Tutti i flaconi positivi devono essere maneggiati in una cappa di sicurezza biologica. Si raccomandano le pratiche di sicurezza biologica di Livello 3 e tutte le apparecchiature idonee.**

I flaconi positivi vanno sottoposti a coltura secondaria e si deve allestire un vetrino apposito.

Trattamento dei flaconi positivi per lo strumento

- a) Togliere il flacone dallo strumento e porlo in una cappa di sicurezza biologica.
- b) Capovolgere il flacone per miscelare il contenuto.
- c) 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.

**Subcoltura e re-inserimento del flacone:** 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

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 corretta esecuzione delle procedure relative al controllo di qualità, si consiglia di consultare le linee guida CLSI (già NCCLS) e le norme CLIA in materia.

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>Candida glabrata</i> , ATCC 15545	< 3
<i>Cryptococcus neoformans</i> , ATCC 13690	< 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 BD per assistenza tecnica.

Per informazioni sul controllo di qualità per il sistema **BACTEC**, consultare il manuale d'uso dello strumento **BACTEC** appropriato.

## RAPPORTO DEI RISULTATI

La positività in coltura di un campione deve venir 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 o alla colorazione Gram**, eseguire una subcoltura su terreno solido e segnalare come: positivo per lo strumento, positivo al vetrino per l'acido-resistenza o alla colorazione Gram, 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 3 h dalla precedente rimozione, per il completamento del periodo di protocollo. Non va dato alcun risultato.

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

## LIMITI DEL PROCEDIMENTO

I flaconi **BACTEC Myco/F Lytic** non sono selettivi e favoriscono la crescita anche di altri organismi aerobi, oltre che di micobatteri, lieviti e funghi. 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 lieviti, funghi e micobatteri a crescita più lenta. In questo caso è necessario eseguire una subcoltura e altre analisi supplementari. La coerenza della morfologia al microscopio nel **BACTEC Myco/F Lytic** non è stata stabilita.

Sono accettabili inoculi con un volume di sangue di 1 – 5 mL, per quanto il recupero ottimale avviene con 3 – 5 mL. Durante studi interni compiuti con meno di 3 mL di sangue e utilizzando il **BACTEC Myco/F Lytic**, si sono verificati ritardi nel rilevamento di *M. intracellulare*, *M. malmoeense*, *M. haemophilum* e *M. xenopi* e/o il recupero ha subito delle compromissioni. Con volumi superiori a 5 mL si può verificare più facilmente la falso-positività.

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.

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

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 35 °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.

*Penicillium purpurescens* e *Blastomyces dermatitidis* non sono stati rilevati nel terreno di coltura **BACTEC Myco/F Lytic**. *Hansenula anomala*, *Exophiala jeamselmei*, *Actinomyces bovis*, *Rhodotorula rubra* e *Mucor ramosissimus* hanno dato risultati contraddittori con livelli bassi di inoculo (<10 UFC/flacone) nel corso di studi con colture eseguite mediante semina. Il recupero di tali organismi può richiedere metodi di coltura supplementari.

Nel corso di studi interni con semine e/o di prove cliniche, i seguenti isolati sono stati rilevati come positivi nello strumento **BACTEC 9240**, utilizzando il terreno di coltura **BACTEC Myco/F Lytic**:

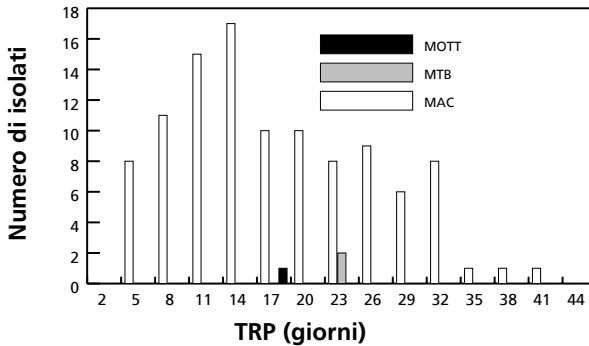
<i>Mycobacterium terrae</i>	<i>Mycobacterium abscessus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium xenopi</i>	<i>Histoplasma capsulatum</i>
<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Mycobacterium malmoense</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Mycobacterium haemophilum</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Nocardia asteroides</i>
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Malassezia furfur</i>
<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
<i>Mycobacterium szulgai</i>	<i>Candida krusei</i>	
<i>Mycobacterium simiae</i>	<i>Candida tropicalis</i>	
<i>Mycobacterium celatum</i>	<i>Ajellomyces dermatitidis</i>	

#### RISULTATI PREVISTI

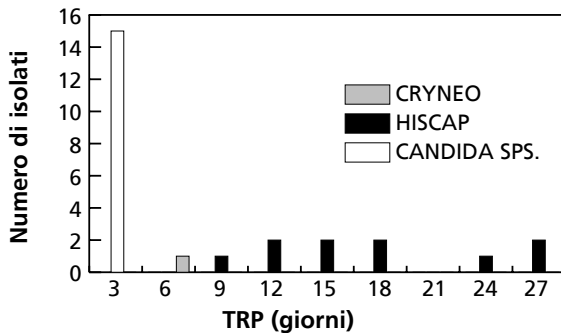
1.488 colture ematiche ottenute da campioni di pazienti sospetti di infezioni da micobatteri, lieviti o funghi sono state analizzate nel flacone di coltura **BACTEC Myco/F Lytic** mediante il sistema per emocoltura **BACTEC 9240**. Le colture risultate positive sono state 315, tra cui 243 hanno evidenziato organismi rilevanti dal punto di vista clinico: 131 (53,9%) contenevano cioè micobatteri, 35 (14,4%) lieviti o funghi e 77 (31,7%) altri batteri. Dei 1.488 flaconi contenenti i campioni di sangue testati nello studio clinico, undici flaconi di coltura **BACTEC Myco/F Lytic** (0,7%) sono stati determinati come falsi positivi (positivi per lo strumento, negativi a striscio e/o subcoltura). Dei 315 flaconi **BACTEC Myco/F Lytic** positivi per lo strumento, 11 (3,5%) sono stati determinati come falsi positivi. Dei 1.488 flaconi contenenti i campioni di sangue testati nello studio clinico, un (1) flacone di coltura **BACTEC Myco/F Lytic** (0,07%) è stato determinato come falso negativo (negativo per lo strumento, positivo a striscio e/o subcoltura). Dei 1.173 flaconi di coltura **BACTEC Myco/F Lytic** negativi per lo strumento, uno (0,08%) è stato determinato come falso negativo. Il tasso di contaminazione determinato durante questa valutazione è stato del 3,3%.

La **FIGURA 1** 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**. La **FIGURA 2** mostra lo stesso (TRP) per lieviti e funghi.

**FIGURA 1**



**FIGURA 2**



## CARACTERISTICAS DE PERFORMANCE

El terreno BACTEC Myco/F Lytic es estado sottoposto a valutazione con lo strumento BACTEC 9240 in due sedi cliniche ospedaliere importanti situate in località geografiche diverse. La popolazione in esame nelle due sedi comprendeva pazienti infetti da HIV, pazienti immuno-compromessi o che avevano subito trapianti e pazienti sospetti di infezioni micobacteriche. Il terreno BACTEC Myco/F Lytic es estado messo a confronto con il terreno BACTEC 13A per la cultura e l'isolamento di micobatteri da campioni di sangue. Durante lo studio sono stati testati in totale 1.100 campioni per emocoltura. Il numero totale di isolati micobacterici patogeni recuperati nel corso dello studio es estado 111 (vedere TABELLA 1). Di questi positivi, dieci (9%) sono stati recuperati solo nel terreno di coltura BACTEC Myco/F Lytic e tre (3%) sono stati recuperati solo col terreno di coltura BACTEC 13A.

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

Organismo	Totale Isolati	Terreno Myco/F LYTIC solamente	Terreno 13A solamente	Entrambi
<b>Tutti micobatteri patogeni:</b>				
<i>Mycobacterium avium</i>	108	10	3	95
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2	0	0	2
<i>Mycobacterium celatum</i>	1	0	0	1
Totale	111	10	3	98

Il terreno BACTEC Myco/F Lytic es estado sottoposto a valutazione con lo strumento BACTEC 9240 in quattro sedi cliniche ospedaliere importanti. La popolazione in esame nelle due sedi comprendeva pazienti infetti da HIV, pazienti immuno-compromessi o che avevano subito trapianti e pazienti sospetti di infezioni micotiche. Il terreno BACTEC Myco/F Lytic es estado messo a confronto con il sistema ISOLATOR (Laboratori Wampole, Cranbrook, NJ, USA) per il rilevamento e l'isolamento di lieviti e funghi dal sangue. I flaconi Myco/F Lytic sono stati inoculati con 1 - 5 mL di sangue e le provette ISOLATOR sono state inoculate con 3 - 10 mL di sangue. Il sedimento dell'ISOLATOR es estado seminato su piastra di Agar Cioccolato, Agar di Infuso cuore e cervello con 5% di sangue di montone e Agar Destrosio Sabouraud. Durante lo studio sono stati testati in totale 748 campioni. Il numero totale di isolati di lieviti e funghi patogeni, recuperati nel corso dello studio, es estado 32 (vedere TABELLA 2). Di questi positivi, sette (22%) sono stati recuperati solo nel terreno di coltura BACTEC Myco/F Lytic e sei (19%) sono stati recuperati solo nel sistema ISOLATOR.

TABELLA 2: PROSPETTO RIASSUNTIVO DEL RECUPERO DI ISOLATI NEL TERRENO DI CULTURA MYCO/F LYTIC DURANTE LE PROVE CLINICHE

Organismo	Totali Isolati	Terreno MYCO/F LYTIC solamente	ISOLATOR solamente	Entrambi
<b>Tutti funghi patogeni:</b>				
<i>Candida albicans</i>	10	3	3	4
<i>Candida glabrata</i>	5	0	1	4
<i>Candida krusei</i>	2	2	0	0
<i>Candida parapsilosis</i>	1	1	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	1	1	0	0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1	0	0	1
Specie <i>Fusarium</i>	1	0	1	0
<i>Histoplasma capsulatum</i>	11	0	1	10
Totale	32	7	6	19

## DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
442003	BACTEC Myco/F Lytic Culture Vials (flaconi di coltura), confezione da 25 flaconi
442288	BACTEC Myco/F Lytic Culture Vials (flaconi di coltura), confezione da 50 flaconi

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

# BD Frascos de cultivo BACTEC Myco/F Lytic Caldo Middlebrook 7H9 suplementado y caldo de infusión de cerebro y corazón Para uso con instrumentos BACTEC de la serie fluorescente

Español

## USO PREVISTO

El medio de cultivo BACTEC Myco/F Lytic, cuando se utiliza con los instrumentos BACTEC de la serie fluorescente es un medio de cultivo no selectivo para utilizarse como un complemento de los medios de hemocultivo aerobio para la recuperación de micobacterias, levaduras y hongos en la sangre. Este medio también puede emplearse para el cultivo de líquidos corporales estériles cuando se sospecha la presencia de levaduras u hongos.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Desde mediados de la década de los años 1980 y la expansión del tamaño de la población de pacientes inmunocomprometidos, ha aumentado la incidencia de septicemia producida por patógenos oportunistas, tales como levaduras, hongos y micobacterias. 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 tenían infecciones micobacterianas no tuberculosas diseminadas, como por ejemplo, por MAC. En 1990, el aumento en el número de casos de infección micobacteriana no tuberculosa diseminada había producido una incidencia acumulativa del 7,6%.<sup>1</sup> También se ha advertido un aumento progresivo de la incidencia de micetemia desde principios de la década de los años 1980. Esto ha aumentado la necesidad de procedimientos efectivos para el diagnóstico de la micetemia y micobacteremia en el laboratorio clínico.

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.<sup>2,4</sup>

Los instrumentos BACTEC de la serie fluorescente se han diseñado para la detección rápida de microorganismos en las muestras clínicas. El medio de cultivo BACTEC Myco/F Lytic es una formulación de Middlebrook 7H9 y caldo de infusión de cerebro y corazón que se utiliza para la recuperación de

micobacterias en muestras de sangre y de levaduras y hongos en sangre y fluidos corporales estériles. Se han hecho modificaciones específicas para mejorar el crecimiento y recuperación de micobacterias, levaduras y hongos. Estas modificaciones incluyen la adición de citrato férrico amónico como una fuente de hierro para cepas específicas de micobacterias y hongos, 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 instrumento BACTEC de la serie fluorescente supervisa el sensor para detectar el aumento en la fluorescencia, que es proporcional a la disminución del 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, y de levaduras y hongos en la sangre y fluidos corporales estériles. Las muestras se inoculan en el frasco BACTEC Myco/F Lytic utilizando una jeringa o por toma directa con una aguja y tubo. El frasco se coloca en el instrumento BACTEC de la serie fluorescente, se agita continuamente y se incuba a 35 °C para lograr la máxima recuperación. El protocolo de análisis predeterminado dura 42 días. Los protocolos de análisis recomendados para los siguientes organismos duran 7 días para las levaduras, 30 días para los hongos y 42 días para las micobacterias. 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 instrumento BACTEC de la serie fluorescente supervisa el sensor cada diez minutos. El análisis del nivel de disminución de oxígeno medido por el aumento en la fluorescencia permite al instrumento BACTEC de la serie fluorescente determinar si el frasco es positivo en el instrumento. 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 35 °C. El medio de cultivo no es selectivo y permite el crecimiento de otros organismos aerobios, incluyendo bacterias cuya presencia puede interferir en la recuperación de micobacterias, levaduras y hongos de crecimiento más lento. Los frascos de cultivo que permanecen negativos después de completar el protocolo 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 componentes activos:

Lista de ingredientes

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
Polisorbato 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

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

Este medio BACTEC se suministra con CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> añadidos.

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.

## Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Este producto contiene goma natural seca.

**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 artículos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"<sup>5-8</sup> y las directrices del centro.**

Si se utiliza sobre todo para recuperar micobacterias, las pautas de los CDC-NIH recomiendan fuertemente que el instrumento de análisis sea colocado en el laboratorio de micobacterias, donde pueden ser abordados otros problemas de seguridad que la recuperación de micobacterias supone.<sup>9</sup>

Los frascos Myco/F Lytic acogerán un volumen superior al máximo recomendado de 5 mL para el volumen de la muestra. El volumen de llenado debe ser controlado.

Para las actividades que involucren la propagación y manipulación de *Mycobacterium tuberculosis* o *Mycobacterium bovis* en medios de cultivo, se recomienda el uso de prácticas de bioseguridad de nivel 3, laboratorio y equipo de prevención.<sup>9</sup>

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 refluirse 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 inoculados con Myco/F Lytic deben esterilizarse en el autoclave antes de desecharse.

**Frascos de cultivo positivo para subcultivos o para teñir, etc.:** Antes de tomar una muestra es necesario liberar el gas que frecuentemente se acumula debido al metabolismo microbiano. La toma de muestras y ventilación del frasco deben 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 con pérdidas

**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 emplearse las "Precauciones estándar". Los frascos deben desecharse de la manera apropiada.

Si se encuentra una fuga del contenido de un frasco en el instrumento propiamente dicho o se produce 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 BD Diagnostics contactando al representante apropiado de BD 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 en caldo.<sup>9</sup>

#### Instrucciones para el almacenamiento

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

NO UTILIZAR pasada la fecha de caducidad.

#### 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 mL a 5 mL con una recuperación óptima entre 3 mL y 5 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, un 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 tubo 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; *Candida glabrata*, ATCC 15545; *Cryptococcus neoformans*, ATCC 13690), microscopio y materiales para la tinción de portaobjetos y la realización de subcultivos de los frascos.

Inoculación de los frascos de cultivo BACTEC Myco/F Lytic

- Quite el tapón a presión del frasco BACTEC e inspeccione el frasco para ver si hay roturas, contaminación, turbidez excesiva o tapón hinchado o hundido. NO UTILIZAR si se observa cualquier defecto.
- 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.
- Antes de inocular, limpie el tapón con alcohol. Inyecte, asépticamente con una jeringa o mediante toma directa, una muestra de 1 – 5 mL por frasco guiándose por las líneas de graduación en la etiqueta del frasco (véase la sección de «Limitaciones del procedimiento»). Los frascos inoculados deben colocarse en los instrumentos BACTEC de la serie fluorescente lo antes posible para la incubación y la monitorización.
- Los frascos que se ponen en el instrumento serán analizados automáticamente durante el período de protocolo de análisis. El protocolo de análisis predeterminado dura 42 días. El protocolo de análisis recomendado para los siguientes organismos dura 7 días para levaduras, 30 días para hongos y 42 días para micobacterias. Consulte el manual del usuario de BACTEC correspondiente para determinar la duración del protocolo. Si al final del protocolo, un frasco BACTEC Myco/F Lytic negativo parece positivo a simple vista (es decir, con tapón hinchado), se debe efectuar un subcultivo, preparar una tinción de bacilos acidorresistentes y considerar el frasco como presuntamente positivo.
- El instrumento BACTEC de la serie fluorescente identificará los frascos positivos. El sensor en el interior del vial no tendrá un aspecto visiblemente diferente en los frascos positivos y negativos, no obstante el instrumento BACTEC de la serie fluorescente puede determinar una diferencia en la fluorescencia del sensor. **Todos los frascos positivos deben ser manipulados en una cámara de seguridad biológica. Se recomienda el uso de prácticas de bioseguridad de nivel 3, laboratorio y equipo de prevención.**

Se debe efectuar un subcultivo de los frascos positivos y preparar un frotis apropiado.

Procesamiento de un frasco positivo en el instrumento

- Saque el frasco del instrumento e introdúzcalo en una cámara de seguridad biológica.
- Invierta el frasco para mezclar el contenido.
- Ventile el frasco para equilibrar la presión dentro del frasco con la presión atmosférica.
- Extraiga una alícuota del frasco (aprox. 0,1 mL) para la preparación de tinciones (bacilos acidorresistentes y Gram).
- Inspeccione el frotis y comunique los resultados preliminares sólo después de la evaluación del frotis.

**Subcultivos y reapertura de los frascos:** 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

El control de calidad se debe llevar 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 pertinentes del CLSI (antes NCCLS) y la normativa de la CLIA para obtener información acerca de las prácticas adecuadas 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>Candida glabrata</i> , ATCC 15545	< 3
<i>Cryptococcus neoformans</i> , ATCC 13690	< 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 del 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 BD para obtener más ayuda.

Para obtener información sobre el control de calidad del sistema BACTEC, consulte el manual del usuario de BACTEC correspondiente.

## INFORME DE RESULTADOS

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

Si la tinción es positiva para bacilos acidorresistentes o la tinción de Gram del frotis, haga un subcultivo en medios sólidos y comuníquelo como: positivo en el instrumento, tinción de bacilos acidorresistentes o de Gram positiva, identificación pendiente.

Si no hay microorganismos presentes en los 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 3 h desde haberlo sacado y deje completarse el protocolo de análisis. No hay resultado comunicable.

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

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Los frascos BACTEC Myco/F Lytic no son selectivos y permiten el crecimiento de otros organismos aerobios además de micobacterias, levaduras y hongos. 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, levaduras y hongos 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.

Es aceptable inocular volúmenes de sangre de 1 – 5 mL, pero se logra la recuperación óptima con 3 – 5 mL. Durante estudios internos realizados con menos de 3 mL de sangre, *M. intracellulare*, *M. malmoense*, *M. haemophilum* y *M. xenopi* evidenciaron una detección tardía y/o recuperación comprometida con el medio de cultivo BACTEC Myco/F Lytic. La frecuencia de los casos de falsos positivos probablemente aumentará cuando el volumen de sangre supera los 5 mL.

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.

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

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 35 °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.

*Penicillium purpurescens* y *Blastomyces dermatitidis* no pudieron detectarse en el medio de cultivo BACTEC Myco/F Lytic. *Hansenula anomala*, *Exophiala jeikei*, *Actinomyces bovis*, *Rhodotorula rubra* y *Mucor ramosissimus* mostraron resultados irregulares con los niveles bajos de inoculación (<10 UFC/frasco) en estudios de cultivos sembrados. La recuperación de dichos organismos puede requerir métodos de cultivo adicionales.

Los aislados siguientes fueron detectados como positivos en el instrumento BACTEC 9240 utilizando el medio de cultivo BACTEC Myco/F Lytic durante los estudios internos de cultivos sembrados y/o estudios clínicos:

*Mycobacterium terrae*

*Mycobacterium tuberculosis*

*Mycobacterium avium*

*Mycobacterium kansasii*

*Mycobacterium fortuitum*

*Mycobacterium intracellulare*

*Mycobacterium goodii*

*Mycobacterium szulgai*

*Mycobacterium simiae*

*Mycobacterium celatum*

*Mycobacterium abscessus*

*Mycobacterium xenopi*

*Mycobacterium malmoense*

*Mycobacterium haemophilum*

*Candida albicans*

*Candida glabrata*

*Candida parapsilosis*

*Candida krusei*

*Candida tropicalis*

*Ajellomyces dermatitidis*

*Cryptococcus neoformans*

*Histoplasma capsulatum*

*Aspergillus flavus*

*Aspergillus fumigatus*

*Nocardia asteroides*

*Malassezia furfur*

*Trichophyton rubrum*

## RESULTADOS ESPERADOS

Se analizaron 1.488 cultivos de muestras de sangre obtenidas de pacientes con posible infección por micobacterias, levaduras u hongos hechos en el frasco de cultivo BACTEC Myco/F Lytic con el sistema BACTEC 9240 para el cultivo de sangre. Se encontraron 315 cultivos positivos, entre los cuales se recuperaron 243 organismos clínicamente significativos, incluyendo 131 (53,9%) micobacterias, 35 (14,4%) levaduras u hongos y 77 (31,7%) otras bacterias. De las 1.488 muestras de sangre analizadas en el estudio clínico, se determinó que once frascos de cultivo BACTEC Myco/F Lytic (0,7%) fueron falsos positivos (positivos en el instrumento, negativos por el frotis y/o subcultivo). De los 315 frascos de Myco/F Lytic positivos en el instrumento, se determinó que once (3,5%) fueron falsos positivos. De las 1.488 muestras de sangre analizadas en el estudio clínico, se determinó que un (1) frasco de cultivo BACTEC Myco/F Lytic (0,07%) fue un falso negativo (negativo en el instrumento, positivo por el frotis y/o subcultivo). De los 1.173 frascos de cultivo BACTEC Myco/F Lytic negativos en el instrumento, se determinó que uno (0,08%) fue un falso negativo. La frecuencia de contaminación encontrada en esta evaluación fue 3,3%.

En la FIGURA 1 se muestra la distribución de las frecuencias de los tiempos de detección de las muestras recogidas en estudios clínicos que fueron positivas en los frascos de cultivo BACTEC Myco/F Lytic utilizados con el sistema BACTEC 9000 para el cultivo de sangre y en la FIGURA 2 se muestran los tiempos de detección de las levaduras y hongos.

Figura 1

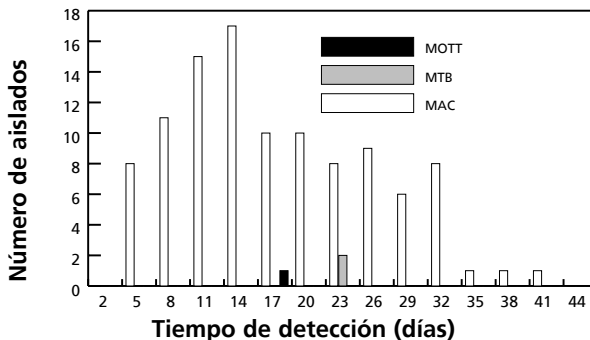
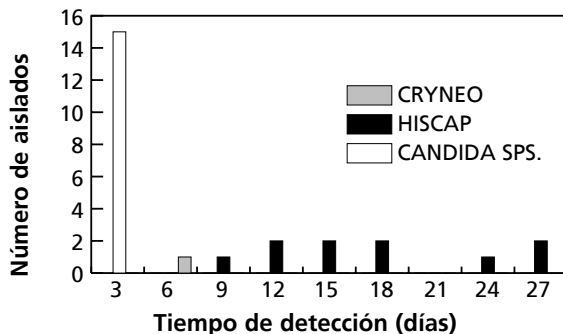


Figura 2



#### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El medio de cultivo BACTEC Myco/F Lytic fue evaluado con el instrumento BACTEC 9240 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 infección por VIH, pacientes inmunocomprometidos, pacientes trasplantados y pacientes con posible infección micobacteriana. El medio de cultivo BACTEC Myco/F Lytic fue comparado con el medio BACTEC 13A para la recuperación y detección de micobacterias en muestras de sangre. Durante el estudio fueron analizadas 1.100 muestras de sangre. El número total de aislados micobacterianos patógenos recuperados en el estudio fue 111 (véase la TABLA 1). De estos aislados positivos, se recuperaron diez (9%) en el medio BACTEC Myco/F Lytic solamente y se recuperaron tres (3%) en el medio BACTEC 13A solamente.

Tabla 1: RESUMEN DE LOS AISLADOS RECUPERADOS POR EL MEDIO DE CULTIVO MYCO/F LYTIC EN EL ESTUDIO CLINICO

Organismo	Total de aislados	Sólo medio Myco/F Lytic	Sólo medio 13A	Ambos
<b>Todas las micobacterias patógenas:</b>				
<i>Mycobacterium avium</i>	108	10	3	95
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2	0	0	2
<i>Mycobacterium celatum</i>	1	0	0	1
<b>Total</b>	<b>111</b>	<b>10</b>	<b>3</b>	<b>98</b>

El medio de cultivo BACTEC Myco/F Lytic fue evaluado con el instrumento BACTEC 9240 en cuatro centros clínicos considerados como grandes hospitales universitarios de atención terciaria. Las poblaciones de estos lugares incluyeron pacientes con infección por VIH, pacientes inmunocomprometidos, pacientes trasplantados y pacientes con posible infección por hongos. El medio de cultivo BACTEC Myco/F Lytic fue comparado con el sistema ISOLATOR (Wampole Laboratories, Cranbrook, NJ) para la recuperación y detección de levaduras y hongos en muestras de sangre. Los frascos Myco/F Lytic fueron inoculados con 1 – 5 mL de sangre y los tubos ISOLATOR fueron inoculados con 3 – 10 mL de sangre. El sedimento ISOLATOR fue sembrado en placas de agar chocolate, de infusión de cerebro y corazón con 5% de sangre de carnero y de agar Sabouraud con dextrosa. Durante el estudio fueron analizadas 748 muestras. El número total de aislados de levaduras y hongos patógenos recuperados en el estudio fue 32 (véase la TABLA 2). De estos aislados positivos, se recuperaron siete (22%) en el medio BACTEC Myco/F Lytic solamente y se recuperaron seis (19%) en el sistema ISOLATOR solamente.

Tabla 2: RESUMEN DE LOS AISLADOS RECUPERADOS POR EL MEDIO MYCO/F LYTIC EN EL ESTUDIO CLINICO

Organismo	Total de aislados	Sólo medio Myco/F Lytic	Sólo Isolator	Ambos
<b>Todos los hongos patógenos:</b>				
<i>Candida albicans</i>	10	3	3	4
<i>Candida glabrata</i>	5	0	1	4
<i>Candida krusei</i>	2	2	0	0
<i>Candida parapsilosis</i>	1	1	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	1	1	0	0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1	0	0	1
Especies de <i>Fusarium</i>	1	0	1	0
<i>Histoplasma capsulatum</i>	11	0	1	10
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>19</b>

#### DISPONIBILIDAD

Nº ref.	Descripción
442003	BACTEC Myco/F Lytic Culture Vials (frascos de cultivo), caja de 25 frascos
442288	BACTEC Myco/F Lytic Culture Vials (frascos de cultivo), caja de 50 frascos

**BIBLIOGRAFIA:** Ver "References" en el texto en inglés.

# BD BACTEC Myco/F Lytic-dyrkningsglas

## Supplementeret Middlebrook 7H9 og hjerne/hjerte-infusionsbouillon Til brug med BACTEC-instrumenter i fluorescensserien

Dansk

### TILSIGTET BRUG

Når **BACTEC Myco/F Lytic**-dyrkningsmediet bruges sammen med **BACTEC**-instrumenter i fluorescensserien, er det et ikke-selektivt dyrkningsmedium, der skal bruges som et supplement til aerobe bloddyrkningsmedier til påvisning af mykobakterier, gær og svampe i blod. Dette medium kan også anvendes til dyrkning af sterile legemsvæsker, når der er mistanke om gær eller svampe.

### RESUMÉ OG FORKLARING

Siden midten af 1980'erne og i takt med det stigende antal immunsvækkede patienter er forekomsten af septicaemia som følge af opportunistiske patogener, såsom gær, fungi og mykobakterier, steget. *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) og andre mykobakterier end tuberkulose (MOTT), især *Mycobacterium avium* complex (MAC), er genopstået. Fra 1985 til 1992 steg antallet af rapporterede tilfælde af MTB med 18%. Mellem 1981 og 1987 viste kontroller af AIDS-tilfælde, at 5,5% af patienter med AIDS havde disseminerede non-tuberkulose mykobakterielle infektioner, f.eks. MAC. I 1990 havde det forøgede antal tilfælde af disseminerede non-tuberkulose mykobakterielle infektioner resulteret i en kumulativ forekomst på 7,6%.<sup>1</sup> Det er ligeledes bemærket, at forekomsten af mycethemia er steget stabilt siden starten af 1980'erne. Dette har forøget behovet for, at det kliniske laboratorium råder over effektive diagnostiske procedurer til påvisning af fungemia og mycobacteraemia.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) har anbefalet, at der gøres en stor indsats for at laboratorierne anvender de hurtigste metoder til diagnosticering af mykobakterier. Disse anbefalinger omfatter anvendelse af et flydende medium til mykobakteriel dyrkning.<sup>2-4</sup>

**BACTEC**-instrumenter i fluorescensserien er konstrueret til hurtig påvisning af mikroorganismer i kliniske prøver. **BACTEC Myco/F Lytic** vækstmedium er en bouillon af Middlebrook 7H9 og Brain Heart Infusion til restitution af mykobakterier fra blodprøver og gær og fungi fra blod og sterile kropsvæsker. Specifikke modifikationer blev foretaget for at forøge væksten og restitutionen af mykobakterier, gær og fungi. Disse modifikationer omfatter jern-ammoniumcitrat for at få en jernkilde for specifikke stammer af mykobakterier og fungi, tilsætning af saponin som blodlyseringsmiddel og tilsætning af specifikke proteiner og sukkerstoffer som kosttilskud. Hvert glas indeholder en sensor, som kan registrere fald i iltindholdet i glasset som følge af mikroorganismers metabolisme og vækst. Sensoren kontrolleres af **BACTEC**-instrumentet i fluorescensserien for stigning i fluorescens, der er proportional med faldet i iltindhold. En positiv tendens indikerer formodentlig forekomst af levedygtige mikroorganismer i glasset.

### PROCEDURENS PRINCIPPER

**BACTEC Myco/F Lytic** vækstglasset er udviklet til hurtig påvisning af mykobakterier i blod og af gær og fungi i blod og sterile kropsvæsker. Prøverne indpodes i **BACTEC Myco/F Lytic** glasset, enten med en sprøjte eller direkte med kanyler og slange. Glasset anbringes i **BACTEC**-instrumentet i fluorescensserien og rystes og inkuberes kontinuert ved 35 °C med henblik på maksimal påvisning. Testprotokollens varighed er som standard 42 dage. Den anbefalede protokolvarighed for følgende organismer er: 7 dage for gær, 30 dage for fungi og 42 dage for mykobakterier. Hvert glas indeholder en sensor, som kan påvise fald i iltindholdet i glasset som følge af mikroorganismers metabolisme og vækst. Sensoren kontrolleres af **BACTEC**-instrumentet i fluorescensserien hvert 10. minut. En analyse af hastigheden af faldet i iltindhold (måles ved stigende fluorescens) gør **BACTEC** instrumentet i stand til at fastlægge, om glasset er instrument-positivt (følge instrumentet positivt). En positiv tendens indikerer formodentlig forekomst af levedygtige mikroorganismer i glasset. Påvisningen er begrænset til mikroorganismer, som vil udvikles i mediet ved 35°C. Mediet er ikke selektivt og vil støtte væksten af andre aerobe organismer, herunder bakterier, som ved deres forekomst kan vanskeliggøre restitutionen af langsommere voksende mykobakterier, gær og fungi. Vækstglas, der endnu er negative, når protokolperioden er gennemført og som ikke viser nogen synlige tegn på positivitet, fjernes fra instrumentet og steriliseres inden bortskaffelse.

### REAGENSER

Hvert **BACTEC Myco/F Lytic** vækstglas indeholder følgende aktive bestanddele inden bearbejdning:

#### Ingrediensoversigt

Behandlet vand .....	40 mL q.s.
7H9 Middlebrook bouillonbasis uden phosphatsalte .....	0,12% v/v
Brain Heart Infusion .....	0,5% v/v
Caseinhydrolysat .....	0,10 v/v
Tilskud H .....	0,10 v/v
Inositol .....	0,05 v/v
Glycerin .....	0,10 v/v
Natriumpolyanetholsulfonat .....	0,025 v/v
Polysorbat 80 .....	0,0025 v/v
Pyridoxal HCl .....	0,0001 v/v
Jern-ammoniumcitrat .....	0,006 v/v
Kaliumphosphat .....	0,024 v/v
Saponin .....	0,24 v/v
Antiskummiddel .....	0,01% v/v

Sammensætningen kan være blevet justeret for at overholde specifikke krav.

Dette **BACTEC** medium dispenseres med tilsætning af CO<sub>2</sub> og O<sub>2</sub>.

**BACTEC Myco/F Lytic** mediet kræver ingen tilsætning af tilskud. Hvert 40 mL glas med **BACTEC Myco/F Lytic** er ved modtagelse klar til anvendelse. Mediet skal ved modtagelsen fremstå klart og lysegult i farven.

### Advarsler og forholdsregler

Til *in vitro* diagnostik.

Dette produkt indeholder tørt naturgummi.

Patogene mikroorganismer, deriblandt hepatitisvira og humant immundefekt virus, kan forekomme i kliniske prøver. "Standard forholdsregler"<sup>5-8</sup> og institutionelle retningslinjer skal følges ved håndteringen af alle materialer, der er kontamineret med blod og andre legemsvæsker.

Hvis det er hensigten, at mykobakterier skal restitueres, anbefales det i retningslinjerne fra CDC-NIH (Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health), at prøveinstrumentet anbringes i et laboratorium, hvor der er mulighed for at løse de ekstra sikkerhedsmæssige problemer, som restitutionen af mykobakterier frembyder.<sup>9</sup>

**BACTEC Myco/F Lytic** glas kan tåle mere end det anbefalede maksimum på 5 mL provemængde. Fyldningen bør overvåges.

I forbindelse med aktiviteter, der involverer formering og håndtering af *Mycobacterium tuberculosis* eller *Mycobacterium bovis*, der udvikles ved dyrkning, anbefales det at følge Biosafety Level 3 hvad angår fremgangsmåde, opbevaringsudstyr og faciliteter.<sup>9</sup>

Inden anvendelse bør hvert glas undersøges for tegn på kontaminering såsom uklarheder, udadhvælvethed eller indsunken membran eller lækager. **ANVEND IKKE** et glas, der udviser tegn på kontaminering, lækage eller beskadigelse. En eventuel kontaminering af glasset er ikke nødvendigvis umiddelbart synlig. Et kontamineret glas kan indeholde overtryk. Hvis et kontamineret glas anvendes til direkte prøvetagning, kan gas eller kontamineret vækstmedium strømme tilbage i patientens åre. I sjældne tilfælde kan glasflaskens hals være revnet og halsen kan gå i stykker, når kapslen fjernes eller under håndtering. Ligeledes i sjældne tilfælde kan det hænde, at et glas ikke er lukket ordentligt. I begge tilfælde kan glassets indhold løbe ud – især hvis glasset vendes om.

For at minimere risikoen for lækage under indpodning med sprøjte af prøven i vækstglas anvendes sprøjter med spidser af mærket **Luer-Lok**. Ved indpodning anvendes en enkelthåndsteknik samt en egnet gasholder for at forhindre, at man stikker sig på kanylen.

Inden bortskaftelse steriliseres alle indpodede **BACTEC Myco/F Lytic** glas ved hjælp af autoklavering.

**Positive vækstglas til videre dyrkning eller farvning m.m.:** Inden prøvetagning er det nødvendigt at frigøre gas, som ofte samler sig på grund af den mikrobielle metabolisme. Prøvetagning og udluftning af glassene skal gennemføres i et biologisk sikkerhedsskab og egnet beskyttelsestøj, herunder handsker og masker, bør anvendes. Flere oplysninger om videre dyrkning findes i afsnittet "PROCEDURE".

#### Utætete eller ødelagte glas

**FORSIGTIG: Da et indpodet glas, som er utæt eller ødelagt, kan producere en aerosol af mykobakterier, herunder MTB og andre bakterier, skal et sådan glas håndteres på forsvarlig vis.**

Hvis det konstateres, at et indpodet glas er utæt eller beskadiget under indsamling eller transport, benyttes den lokalt gældende procedure for håndtering af mykobakterielle udslip. Som et minimum anvendes "Standard forholdsregler". Glassene skal kasseres på forsvarlig vis.

Hvis det konstateres, at indholdet af et glas er kommet ind i selve instrumentet, eller hvis et glas går i stykker, skal der straks slukkes for instrumentet. Det berørte område evakueres. Det lokale sikkerhedspersonale eller infektionskontrolpersonale kontaktes. Der foretages en vurdering af, om ventilations-/klima anlæg i det berørte område skal frakobles eller om indstillingerne af disse skal ændres. Området må ikke tages i brug igen, for eventuelle aerosoler har lagt sig eller er fjernet ved hjælp af den fornødne ventilation. BD Diagnostics bør underrettes ved at kontakte den lokale BD-repræsentant. Retningslinier for korrekt håndtering af mykobakteriel kontaminering som følge af beskadigelse af vækstglas eller bouillonsuspensioner er udstedt af CDC.<sup>9</sup>

#### Opbevaringsinstruktioner

Opbevares ved 2 – 25 °C på et tørt sted og på afstand af direkte lys.

MÅ IKKE BRUGES efter udløbsdatoen.

#### INDSAMLING AF PROVER

**BEMÆRK:** Det anbefales, at denne procedure gennemgås med det relevante personale inden mediet tages i brug for at sikre, at de korrekte prøvetagningsteknikker anvendes, som beskrevet i dette afsnit.

Prøven skal indsamles ved hjælp af en steril teknik for at reducere risikoen for kontaminering. Den mængde blod, der kan dyrkes, er på mellem 1 mL og 5 mL, hvor optimal restitution opnås ved 3 mL til 5 mL. Det anbefales, at prøven indpodes ved sengekanten. Normalt anvendes en sprøjte med spids af mærket **Luer-Lok** til udtagning af prøven. Man kan anvende en kanyleholder og et blodprøvesæt af mærket **Vacutainer**, et blodprøvesæt af mærket **Vacutainer Safety-Lok** eller et andet slangesæt med vinger. Hvis en kanyle og slange anvendes (direkte prøvetagning), kontrolleres blodstrømmens retning nøje, når prøvetagningen påbegyndes. Inden indpodning forsynes etiketten med oplysninger om den påfyldte mængde medium (med tuschen eller kuglepen) for at markere prøvetagningens udgangspunkt. Vakuumet i flasken vil normalt overstige 5 mL, så brugeren skal holde øje med den indsamlede mængde ved at se på 5 mL-stregen på vækstglassets etiket. Når de ønskede 1 – 5 mL blod er indsamlet, standses blodgennemstrømningen ved at bøje slangen og fjerne kanylen fra **BACTEC** glasset. **BACTEC** glasset bør så hurtigt som muligt transporteres til laboratoriet og anbringes i **BACTEC** instrumentet. Et rør med gul top af mærket **Vacutainer**, som indeholder SPS, kan ligeledes anvendes til udtagning af prøven fra patienten. Røret bør transporteres som normalt til laboratoriet og overføres til **BACTEC** vækstglasset.

#### PROCEDURE

**Materialer vedlagt:** **BACTEC Myco/F Lytic** vækstglas.

**Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt:** Biologisk sikkerhedsskab, autoklave, ventilationsanlæg, mykobakterielt desinfektionsmiddel, 70% isopropylalkohol, organismer til kvalitetskontrol (*Mycobacterium intracellulare*, ATCC 13950; *Candida glabrata*, ATCC 15545; *Cryptococcus neoformans*, ATCC 13690), mikroskop og materialer til farvning af objektglas samt glas til videre dyrkning.

Indpodning af **BACTEC Myco/F Lytic** vækstglas

1. Tag kapslen af **BACTEC** glasset og se efter, at glasset ikke fremstår med revner, lækager, kontaminering eller for kraftig uklarhed og at membranen ikke er udadhvælvethed eller har buler. **ANVEND IKKE** glasset, hvis det på nogen måde er defekt.
2. Sæt etiket på vækstglasset med identifikation af prøven og afmærk inddelingskalaen for mediepåfyldning på glassets etiket.
3. Inden indpodning pensles glassets membran med alkohol. 1 – 5 mL af prøven pr. glas injicerer aseptisk med en sprøjte eller udtages direkte ved hjælp af inddelingskalaen på glassets etiket (se afsnittet "Procedurernes begrænsninger"). Inokulerede dyrkningsglas skal placeres i **BACTEC**-instrumenter i fluorescensserien så hurtigt som muligt til inkubation og registrering.
4. Vækstglas, der er placeret i instrumenterne, kontrolleres automatisk under hele testprotokollens varighed. Testprotokollens varighed er som standard 42 dage. Den anbefalede protokolvarighed for følgende organismer er: 7 dage for gær, 30 dage for fungi og 42 dage for mykobakterier. Oplysninger om valg af protokolvarighed står i den relevante **BACTEC**-brugsanvisning. Hvis et negativt **BACTEC Myco/F Lytic** glas ved protokolperiodens udløb visuelt forekommer positivt (dvs. udadhvælvethed membran), bør det videre dyrkes, AFB- og Gramfarves og behandles som formodentlig positivt.
5. Positive glas bliver identificeret af **BACTEC**-instrumentet i fluorescensserien. Sensoren i glasset ser muligvis ikke anderledes ud i positive end i negative dyrkningsglas, men **BACTEC**-instrumentet i fluorescensserien kan registrere en forskel i fluorescensen. **Alle positive glas skal håndteres i et biologisk sikkerhedsskab. Det anbefales at følge Biosafety Level 3 hvad angår fremgangsmåde, opbevaringsudstyr og faciliteter.**

Positive glas bør videre dyrkes og et passende udstyringspræparat forberedes.

Behandling af et instrument-positivt glas

- a) Tag glasset ud af instrumentet og bring det i et biologisk sikkerhedsskab.
- b) Vend glasset om for at blande indholdet.
- c) Udluft glasset for at udligne trykket i glasset i forhold til den omgivende luft.
- d) Tag en afmåling ud af glasset (ca. 0,1 mL) til farvning (AFB- og Gramfarvning).
- e) Kontrollér udstyringspræparatet og registrér ikke de foreløbige resultater, før præparatet er evalueret.

**Videre dyrkning:** Videre dyrkningen bør gennemføres i et biologisk sikkerhedsskab og egnet beskyttelsestøj, herunder handsker og masker, bør anvendes. Inden videre dyrkning placeres glasset lodret og en serviet med alkohol anbringes over membranen. For at fjerne et eventuelt overtryk i glasset (som kan skyldes væksten af eventuelle kontaminerende emner) indføres en steril 25-gauge (eller mindre) kanyle, der er forsynet med et passende filter eller kom-

pres, igennem den alkoholvædede serviet og membranen. Kanylen tages ud, når et eventuelt tryk er fjernet og inden vækstglasets bruges til videre dyrkning. Indføring og udtagning af kanylen gøres med en bevægelse i en lige linie, idet man undgår bevægelser til siden, som kan forårsage permanent beskadigelse af membranen. **Sæt ikke hættten på kanylen igen. Kanyler og sprøjter kasseres i en kanylebøtte til biologisk risikomateriale.**

#### KVALITETSKONTROL

Krav til kvalitetskontrol skal overholdes i overensstemmelse med gældende lokale og/eller nationale regulativer eller akkrediteringskrav samt laboratoriets standardprocedurer til kvalitetskontrol. Det anbefales at læse de relevante CLSI-retningslinjer (tidligere NCCLS) og CLIA-regulativer mht. relevante procedurer til kvalitetskontrol.

Det anbefales, at hver ny sending eller parti **BACTEC Myco/F Lytic medium** kontrolleres med ATCC kontrolorganismene, der i nedenstående oversigt identificeres som en positiv kontrol, og med et uindpodet glas som en negativ kontrol.

Organisme	"Tid inden påvisning" (dage)
<i>Mycobacterium intracellulare</i> , ATCC 13950	8 til 16
<i>Candida glabrata</i> , ATCC 15545	< 3
<i>Cryptococcus neoformans</i> , ATCC 13690	< 3

De positive glas skal indpodes med anvendelse af en 1:100 fortynding af en McFarland #1 suspension, der er udviklet på fast medium. Glasets indpodes med 0,1 mL af den fortyndede kultur. Glasene og et uindpodet kontrolglas bør scannes ind i instrumentet og kontrolleres. Det indpodede glas bør af instrumentet registreres som positivt inden for testprotokollens varighed. Den negative kontrol bør forblive negativ. Hvis de forventede resultater for kvalitetskontrollen ikke opnås, må mediet ikke anvendes. Den lokale repræsentant for BD kontaktes med henblik på yderligere assistance.

Se den relevante **BACTEC**-brugsanvisning for at få oplysninger om kvalitetskontrol af **BACTEC**-systemet.

#### Rapportering af RESULTATER

Et instrument-positivt glas skal efterprøves ved hjælp af syrefast udstrykningspræparat eller Gramfarvning. Et positivt resultat indikerer formodentlig forekomst af levedygtige mikroorganismer i glasset.

**Hvis AFB-præparatet eller Gramfarvningen er positiv**, videre dyrkes til fast medium og registreres som: instrument-positivt, positivt for AFB- eller Gramfarvning, ID uafgjort.

**Hvis der ikke er nogen mikroorganismer** på udstrykningspræparaterne, videre dyrkes til fast medium og glasset sættes ind i instrumentet igen som et fortsat negativt glas inden for 3 timer efter udtagning. Glasets fuldfører hele testprotokollens varighed. Intet resultat, der kan registreres.

Videre dyrkning fra **BACTEC Myco/F Lytic** glasset gennemføres med henblik på identifikation og kontrol af følsomhed.

#### BEGRÆNSNINGER AF PROCEDUREN

**BACTEC Myco/F Lytic** glassene er non-selektive og støtter væksten af andre aerobe organismer end mykobakterier, gær og fungi. Positive glas kan indeholde en flere arter af mykobakterier og/eller andre non-mykobakterielle arter. Hvis disse forekommer, kan hurtigt voksende organismer maskere påvisningen af langsommere voksende mykobakterier, gær og fungi. Videre dyrkning og yderligere procedurer er påkrævet. Den mikroskopiske morfologi og konsekvens i **BACTEC Myco/F Lytic** er ikke fastlagt.

Indpodning af blodmængder på 1 – 5 mL er acceptable, men optimal restitution opnås med 3 – 5 mL. I interne undersøgelser med mindre end 3 mL blod udviste *M. intracellulare*, *M. malmoense*, *M. haemophilum* og *M. xenopi* forsinkelser i påvisningen og/eller forringet restitution med **BACTEC Myco/F Lytic**. Falsk positivitet vil sandsynligvis være forøget, når blodmængden er over 5 mL.

Der skal udvises forsigtighed for at undgå kontaminering af prøven under indsamling og indpodning i **BACTEC** glasset. Et kontamineret glas vil give en positiv måling på instrumentet, men vil ikke være en indikation af det relevante kliniske resultat. En sådan evaluering skal foretages af brugeren på baggrund af faktorer som farvningsresultater, typen af restituerede organismer, forekomsten af den samme organisme i flere kulturer, sygdomsforløb, osv.

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

Blod kan indeholde antimikrobielle emner eller andre hæmmere, som kan forsinke eller forhindre væksten af mikroorganismer.

**BACTEC Myco/F Lytic** glassene er indpodet ved 35°C, hvilket udelukker restitution af mykobakterier, der kræver andre indpodningstemperaturer (f.eks. *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). Restitution af sådanne organismer kræver andre dyrkningsmetoder.

*Penicillium purpurescens* og *Blastomyces dermatitidis* kunne ikke påvises i **BACTEC Myco/F Lytic** vækstmedium. *Hansenula anomala*, *Exophiala jeamensei*, *Actinomyces bovis*, *Rhodotorula rubra* og *Mucor ramosissimus* udviste inkonsekvente resultater ved lave niveauer af podestof (<10 CFU/glas) i undersøgelser af podede kulturer. Restitution af sådanne organismer kan nødvendiggøre andre dyrkningsmetoder.

Følgende isolater blev påvist som positive i **BACTEC 9240** instrumentet med anvendelse af **BACTEC Myco/F Lytic** mediet under interne podede undersøgelser og/eller kliniske forsøg:

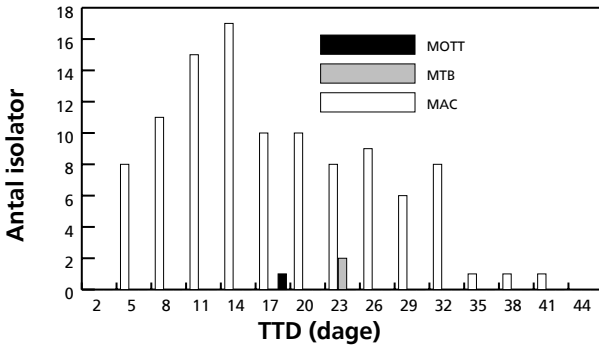
<i>Mycobacterium terrae</i>	<i>Mycobacterium abscessus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium xenopi</i>	<i>Histoplasma capsulatum</i>
<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Mycobacterium malmoense</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Mycobacterium haemophilum</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Nocardia asteroides</i>
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Malassezia furfur</i>
<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
<i>Mycobacterium szulgai</i>	<i>Candida krusei</i>	
<i>Mycobacterium simiae</i>	<i>Candida tropicalis</i>	
<i>Mycobacterium celatum</i>	<i>Ajellomyces dermatitidis</i>	

#### Forventede resultater

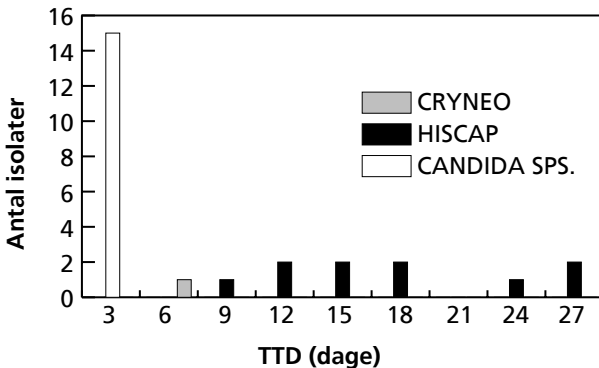
1.488 blodprøver, der var indhentet fra patienter, hvor der var mistanke om mykobakteriel, gær- eller fungusinfektion, blev evalueret i **BACTEC Myco/F Lytic** vækstglas med **BACTEC 9240** bloddyrkningsystem. Der var 315 positive kulturer med restitution af 243 klinisk markante organismer, hvoraf 131 (53,9%) var mykobakterier, 35 (14,4%) var gær eller fungi og 77 (31,7%) var andre bakterier. Af de 1.488 blodprøver, der blev evalueret i den kliniske undersøgelse, fastslag man, at 11 **BACTEC Myco/F Lytic** vækstglas (0,7%) var falsk positive (instrument-positive, negative for udstrykningspræparat og/eller subkultur). Af de 315 instrument-positive **BACTEC Myco/F Lytic** glas var 11 (3,5%) falsk positive. Af de 1.488 blodprøver, der blev evalueret i den kliniske undersøgelse, var ét **BACTEC Myco/F Lytic** vækstglas (0,07%) falsk negativt (instrument-negativt, positivt for udstrykningspræparat og/eller subkultur). Af de 1.173 instrument-negative **BACTEC Myco/F Lytic** vækstglas var ét (0,08%) falsk negativt. Kontamineringsfrekvensen under denne evaluering var 3,3%.

Fordelelingen af hyppigheden af de prøver, der i den kliniske undersøgelse var positive i BACTEC Myco/F Lytic vækstglassene med BACTEC 9000 bloddyrkningsystem, vises på FIGUR 1 for "tid inden påvisning" (TTD) for mykobakterier og på FIGUR 2 for TTD for gær og fungi.

FIGUR 1



FIGUR 2



#### YDELSESKARAKTERISTIKA

BACTEC Myco/F Lytic mediet blev evalueret med BACTEC 9240 instrumentet på to kliniske undersøgelsessteder, der anses for at være universitetshospitaler af betydning, i geografisk forskelligartede områder. Undersøgelsesstedernes forsøgspopulationer omfattede HIV-smittede patienter, immunsvækkede patienter, transplantatpatienter og patienter, hvor der var mistanke om mykobakteriel infektion. BACTEC Myco/F Lytic mediet blev sammenlignet med BACTEC 13A mediet hvad angår restitution og påvisning af mykobakterier i blod. I alt 1.100 blodprøver blev undersøgt under evalueringen. Det samlede antal patogene mykobakterieisolater, der blev restitueret i undersøgelsen, var 111 (se TABEL 1). Af disse positive blev 10 (9%) kun restitueret i BACTEC Myco/F Lytic mediet og 3 (3%) blev kun restitueret i BACTEC 13A mediet.

TABEL 1: OVERSIGT OVER MYCO/F LYTIC VÆKSTMEDIUMS RESTITUTION AF ISOLATER UNDER KLINISKE FORSØG

Organisme	Isolater i alt	Kun Myco/F Lytic medium	Kun 13A medium	Begge
<b>Alle patogene mykobakterier:</b>				
<i>Mycobacterium avium</i>	108	10	3	95
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2	0	0	2
<i>Mycobacterium celatum</i>	1	0	0	1
I alt	111	10	3	98

BACTEC Myco/F Lytic mediet blev evalueret med BACTEC 9240 instrumentet på fire kliniske undersøgelsessteder, der anses for at være universitetshospitaler af betydning. Undersøgelsesstedernes forsøgspopulationer omfattede HIV-smittede patienter, immunsvækkede patienter, transplantatpatienter og patienter, hvor der var mistanke om fungusinfektion. BACTEC Myco/F Lytic mediet blev sammenlignet med ISOLATOR systemet (Wampole Laboratories, Cranbrook, NJ, USA) hvad angår restitution og påvisning af gær og fungi i blod. BACTEC Myco/F Lytic glassene blev indpodet med 1 – 5 mL blod og ISOLATOR rørene blev indpodet med 3 – 10 mL blod. ISOLATOR sedimentet blev fraktioneret til Chocolate Agar, Brain Heart Infusion Agar med 5% færeblood og Sabouraud Dextrose Agar. I alt 748 prøver blev undersøgt under evalueringen. Det samlede antal patogene gær- og fungusisolater, der blev restitueret i undersøgelsen, var 32 (se TABEL 2). Af disse positive blev 7 (22%) kun restitueret i BACTEC Myco/F Lytic mediet og 6 (19%) blev kun restitueret i ISOLATOR systemet.

TABEL 2: OVERSIGHT OVER MYCO/F LYTIC VÆKSTMEDIUMS RESTITUTION AF ISOLATER UNDER KLINISKE FORSØG

Organisme	Isolater i alt	Kun Myco/F Lytic medium	Kun 13A medium	Begge
<b>Alle patogene fungi:</b>				
<i>Candida albicans</i>	10	3	3	4
<i>Candida glabrata</i>	5	0	1	4
<i>Candida krusei</i>	2	0	0	0
<i>Candida parapsilosis</i>	1	1	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	1	1	0	0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1	0	0	1
<i>Fusarium-arter</i>	1	0	1	0
<i>Histoplasma capsulatum</i>	11	0	1	10
	I alt	32	6	19

#### BESTILLING

Kat.- nr.	Beskrivelse
442003	BACTEC Myco/F Lytic Culture Vials (dykrningsglas), æske med 25 glas
442288	BACTEC Myco/F Lytic Culture Vials (dykrningsglas), æske med 50 glas

REFERENCER: Se afsnittet "References" i den engelske tekst.

## BD Frascos de Cultura BACTEC Myco/F Lytic Middlebrook 7H9 Suplementado e Meio Líquido de Infusão Cérebro Coração Para utilizar com Instrumentos da Série Fluorescente BACTEC

Português

#### UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

Quando utilizado com o instrumento da série fluorescente BACTEC, o meio de cultura BACTEC Myco/F Lytic é um meio de cultura não selectivo que deverá ser utilizado como um auxiliar dos meios de hemocultura aeróbia para o isolamento de micobactérias, leveduras e fungos. Este meio pode igualmente ser utilizado para a cultura de líquidos corporais estéreis quando existe suspeita de leveduras ou fungos.

#### RESUMO E EXPLICAÇÃO

Desde os meados dos anos 80 e o aumento da população de doentes imunocomprometidos, a incidência de septicémia provocada por agentes patogénicos oportunistas, tais como leveduras, fungos e micobactérias, tem aumentado. O *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) e outras micobactérias para além da tuberculose (MOTT), especialmente o complexo do *Mycobacterium avium* (MAC), 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%.<sup>1</sup> Tem sido igualmente verificado que a incidência de fungémia tem aumentado continuamente desde o início dos anos 80. Isto tem aumentado a necessidade de os laboratórios clínicos possuírem procedimentos de diagnóstico eficazes relativamente a fungémia e micobacteriémia.

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.<sup>2-4</sup>

Os instrumentos da série fluorescente BACTEC foram concebidos para a detecção rápida de microorganismos em amostras clínicas. O meio de Cultura BACTEC Myco/F Lytic 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, e de leveduras e fungos a partir de sangue e fluidos corporais estéreis. Foram efectuadas modificações específicas para potenciar o crescimento e o isolamento de micobactérias, leveduras e fungos. Estas modificações incluem o citrato de amónia férrico como fonte de ferro para estirpes específicas de micobactérias e fungos, a adição de saponina como um agente de lise do 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 instrumento da série fluorescente BACTEC relativamente ao aumento da fluorescência, o qual é proporcional à diminuição do oxigénio. Uma determinação positiva indica a presença presuntiva de microorganismos viáveis no frasco.

#### PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O frasco de cultura BACTEC Myco/F Lytic foi concebido para a detecção rápida de micobactérias no sangue, e de leveduras e fungos a partir de sangue e fluidos corporais estéreis. As amostras são inoculadas dentro do frasco BACTEC Myco/F Lytic, com uma seringa ou através da colheita directa com uma agulha e tubagem. O frasco é colocado no instrumento da série fluorescente BACTEC e é continuamente agitado e incubado a 35°C para obter um isolamento óptimo. O protocolo de teste habitual dura 42 dias. O protocolo de teste recomendado para os seguintes organismos é de: 7 dias para as leveduras, 30 dias para fungos e 42 dias para as micobactérias. 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 instrumento da série fluorescente 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 presuntiva de microorganismos viáveis no frasco. A detecção é limitada aos organismos que cresçam no meio a 35°C. O meio não é selectivo e sustentará o crescimento de outros organismos aeróbios, incluindo bactérias, os quais, se estiverem presentes, podem interferir com o isolamento de micobactérias, fungos e leveduras de crescimento mais lento. Os frascos de cultura que se mantenham negativos após o fim do protocolo e que não apresentem sinais visíveis de positividade, são retirados do instrumento e esterilizados antes de serem eliminados.

## REAGENTES

Antes do processamento, cada frasco de cultura **BACTEC Myco/F Lytic** 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
Hidusão 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
Polisorbato 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

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

Este meio **BACTEC** é distribuído com CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> adicionados.

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

### Advertências e Precauções

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Este produto contém borracha natural desidratada.

**Podem existir microrganismos patogénicos nas amostras clínicas, incluindo os vírus da hepatite e o vírus da imunodeficiência humana. Na manipulação de todos os itens contaminados com sangue e outros líquidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções Padrão"<sup>5-8</sup> e as linhas de orientação institucional.**

Se pretender isolar micobactérias, as normas do CDC-NIH recomendam veemente que o instrumento do teste seja colocado no laboratório de estudo das mesmas, no qual as regras de segurança suplementares que o isolamento das micobactérias acarreta possam ser cumpridas.<sup>9</sup>

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

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.<sup>9</sup>

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 **BACTEC Myco/F Lytic** inoculados em autoclave.

**Frascos de cultura positivos para repicagem ou coloração, etc.:** Antes da colheita de amostras, é necessário libertar o gás frequentemente produzido devido ao metabolismo microbiano. A colheita de amostras e ventilação dos frascos 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 Partidos ou com Fugas

**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 Padrão". Os frascos devem ser eliminados de uma forma apropriada.

Se ocorrer alguma 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 regresso à área afectada até os potenciais aerossóis terem assentado ou sido removidos através de uma ventilação apropriada. A BD Diagnostics deverá ser notificada através do contactando com o representante apropriado da BD na sua área. Foram publicadas pelo CDC normas para o tratamento adequado de contaminações acidentais por micobactérias, resultantes da quebra de tubos de cultura ou de suspensões de meio líquido.<sup>9</sup>

### Instruções de Armazenamento

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

NÃO utilize após o fim do prazo de validade.

### COLHEITA DE AMOSTRAS

**NOTA:** Antes da utilização do meio, recomenda-se que este procedimento seja revisto pelo 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 mL a 5 mL, sendo o isolamento óptimo obtido entre 3 mL e 5 mL. Recomenda-se que a inoculação da amostra seja efectuada na cabeceira 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 BACTEC Myco/F Lytic.

**Materiais Necessários Mas Não Fornecidos:** Câmara de Segurança Biológica, autoclave, unidade de ventilação, desinfetante micobactericida, álcool isopropílico a 70%, Organismos de Controlo de Qualidade (*Mycobacterium intracellulare*, ATCC 13950; *Candida glabrata*, ATCC 15545; *Cryptococcus neoformans*, ATCC 13690), microscópio e materiais para a coloração de lâminas e para a repicagem dos frascos.

Inoculação dos Frascos de Cultura BACTEC Myco/F Lytic

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 colha 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, nos instrumentos da série fluorescente 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. O protocolo de teste habitual dura 42 dias. O protocolo de teste recomendado para os seguintes organismos é de: 7 dias para as leveduras, 30 dias para fungos e 42 dias para as micobactérias. Consulte o Manual do Utilizador BACTEC apropriado para definir a duração do protocolo. Se, no fim do período de teste, um frasco BACTEC Myco/F Lytic negativo apresentar sinais visíveis de positividade (ou seja, abaulamento do septo), deverá ser efectuada uma repicagem, AFB e coloração Gram, devendo o frasco ser manipulado como um frasco presuntivamente positivo.
5. Os frascos positivos serão identificados pelo instrumento da série fluorescente BACTEC. O sensor no interior do frasco poderá não apresentar diferenças visíveis entre os frascos positivos e negativos; no entanto, o instrumento da série fluorescente BACTEC consegue detectar diferenças na fluorescência do sensor. **Todos os frascos positivos devem ser manipulados numa câmara de segurança biológica. Recomenda-se a adopção de práticas, bem como a utilização de equipamentos de contenção e instalações do Nível 3 de Segurança Biológica.**

Deverá ser efectuada uma repicagem, seguida de um esfregaço apropriado, a partir dos frascos positivos.

Processamento de um frasco positivo detectado pelo instrumento

- a) Retire o frasco do instrumento e coloque-o dentro de uma câmara de segurança biológica.
- b) Inverta o frasco para misturar o conteúdo.
- c) 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 esfregaço e efectue o relatório dos resultados preliminares apenas após a avaliação do esfregaço.

**Repicagem:** 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

Os requisitos de controlo da qualidade têm de ser realizados de acordo com os regulamentos ou as exigências de acreditação aplicáveis locais, estatais e/ou federais [EUA] e os procedimentos de Controlo da Qualidade em vigor no laboratório. Recomenda-se ao utilizador que consulte as normas CLSI (anteriormente NCCLS) e os regulamentos CLIA relevantes sobre as práticas correctas de Controlo da Qualidade.

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

Organismo	Intervalo de Tempo até à Detecção (dias)
<i>Mycobacterium intracellulare</i> , ATCC 13950	8 a 16
<i>Candida glabrata</i> , ATCC 15545	< 3
<i>Cryptococcus neoformans</i> , ATCC 13690	< 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 o Representante local da BD, para obter assistência.

Para obter informações sobre o controlo de qualidade para o Sistema BACTEC, consulte o Manual do Utilizador BACTEC apropriado.

## 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 AFB ou a coloração Gram for positiva,** efectue uma repicagem para um meio sólido e descreva como: positivo no instrumento, AFB ou coloração Gram positivo, 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 3 horas após a remoção, e deixe terminar o protocolo do teste. Sem resultado a relatar.

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

## LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Os frascos BACTEC Myco/F Lytic não são selectivos e sustentarão o crescimento de outros organismos aeróbios, para além de micobactérias, leveduras e fungos. 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, leveduras ou fungos com crescimento mais lento. São necessárias replicações e procedimentos adicionais. A consistência da morfologia microscópica no BACTEC Myco/F Lytic ainda não foi estabelecida.

A inoculação de volumes de sangue entre 1 e 5 mL é aceitável, mas o isolamento óptimo é obtido com volumes entre 3 e 5 mL. Durante os estudos internos efectuados com volumes de sangue inferiores a 3 mL, o *M. intracellulare*, *M. malmoense*, *M. haemophilum* e *M. xenopi* apresentaram atrasos na detecção e/ou comprometeram o isolamento com o BACTEC Myco/F Lytic. A probabilidade de falsa positividade será maior quando o volume de sangue for superior a 5 mL.

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.

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

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

Os frascos BACTEC Myco/F Lytic são incubados a 35°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.

O *Penicillium purpurescens* e o *Blastomyces dermatitidis* não foram detectados no meio de cultura BACTEC Myco/F Lytic. A *Hansenula anomala*, *Exophiala jeamselmei*, *Actinomyces bovis*, *Rhodotorula rubra* e *Mucor ramosissimus* apresentaram resultados inconsistentes com níveis de inoculação baixos (<10 UFC/frasco) em estudos de culturas semeadas. O isolamento desses organismos poderá necessitar de métodos de cultura suplementares.

Durante os estudos com culturas internas e/ou ensaios clínicos efectuados no instrumento 9240 BACTEC utilizando o meio BACTEC Myco/F Lytic, foram detectados como positivos os seguintes isolados:

*Mycobacterium terrae*  
*Mycobacterium tuberculosis*  
*Mycobacterium avium*  
*Mycobacterium kansasii*  
*Mycobacterium fortuitum*  
*Mycobacterium intracellulare*  
*Mycobacterium gordonae*  
*Mycobacterium szulgai*  
*Mycobacterium simiae*  
*Mycobacterium celatum*

*Mycobacterium abscessus*  
*Mycobacterium xenopi*  
*Mycobacterium malmoense*  
*Mycobacterium haemophilum*  
*Candida albicans*  
*Candida glabrata*  
*Candida parapsilosis*  
*Candida krusei*  
*Candida tropicalis*  
*Ajellomyces dermatitidis*

*Cryptococcus neoformans*  
*Histoplasma capsulatum*  
*Aspergillus flavus*  
*Aspergillus fumigatus*  
*Nocardia asteroides*  
*Malassezia furfur*  
*Trichophyton rubrum*

## RESULTADOS ESPERADOS

1.488 culturas de sangue obtidas a partir de doentes com suspeita de infecções por micobactérias, leveduras ou fungos, foram avaliadas no frasco de cultura BACTEC Myco/F Lytic, com o Sistema de Cultura de Sangue 9240 BACTEC. 315 culturas foram positivas, tendo sido isolados 243 microorganismos clinicamente significativos, dos quais 131 (53,9%) eram micobactérias, 35 (14,4%) leveduras ou fungos, e 77 (31,7%) outras bactérias. Das 1.488 amostras de sangue testadas no estudo clínico, onze frascos de cultura BACTEC Myco/F Lytic (0,7%) foram determinados como sendo falsos positivos (positivos no instrumento, negativos no esfregaço e/ou na repicagem). Dos 315 frascos BACTEC Myco/F Lytic positivos no instrumento, 11 (3,5%) foram determinados como sendo falsos positivos. Das 1.488 amostras de sangue testadas no estudo clínico, um (1) frasco de cultura BACTEC Myco/F Lytic (0,07%) foi determinado como sendo falso negativo (negativo no instrumento, positivo no esfregaço e/ou na repicagem). Dos 1.173 frascos BACTEC Myco/F Lytic negativos no instrumento, 1 (0,08%) foi determinado como sendo falso negativo. Durante esta avaliação, a taxa de contaminação foi de 3,3%.

A distribuição das frequências das amostras do ensaio clínico positivas nos frascos de cultura BACTEC Myco/F Lytic, com o Sistema de Cultura de Sangue 9000 BACTEC, encontram-se ilustradas na FIGURA 1, relativamente aos tempos de detecção (TTD) para as micobactérias, e na FIGURA 2, relativamente aos TTD para as leveduras e fungos.

FIGURA 1

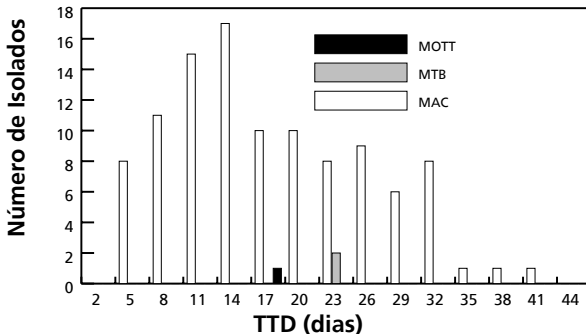
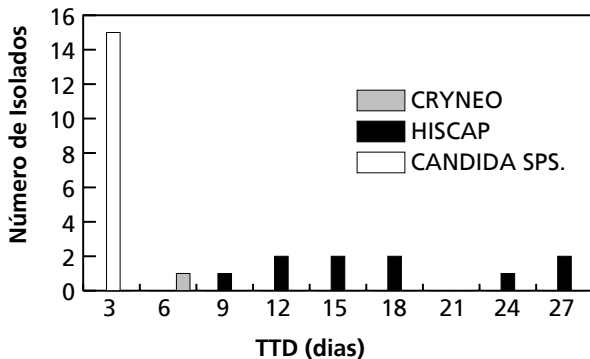


FIGURA 2



**CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO**

O meio de cultura BACTEC Myco/F Lytic foi avaliado com o instrumento 9240 BACTEC em dois locais clínicos considerados como grandes hospitais de cuidados terciários e universitários, em áreas geográficas diferentes. As populações locais incluíram doentes infectados com o VIH, doentes imunodeprimidos, doentes transplantados e doentes com suspeita de infecção por micobactérias. O meio de cultura BACTEC Myco/F Lytic foi comparado com o meio de cultura BACTEC 13A para o isolamento e detecção de micobactérias a partir do sangue. Durante o estudo, foram testadas um total de 1.100 amostras de culturas de sangue. O número total de isolados de micobactérias patogénicas detectados no estudo foi de 111 (Consulte o QUADRO 1). Dos positivos, dez (9%) foram isolados apenas no meio de cultura BACTEC Myco/F Lytic e três (3%) foram isolados apenas no meio de cultura BACTEC 13A.

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

Organismo	Total de Isolados	Apenas no Meio Myco/F Lytic	Apenas no Meio 13A	Ambos
<b>Todas as Micobactérias Patogénicas:</b>				
<i>Mycobacterium avium</i>	108	10	3	95
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2	0	0	2
<i>Mycobacterium celatum</i>	1	0	0	1
<b>Total</b>	<b>111</b>	<b>10</b>	<b>3</b>	<b>98</b>

O meio de cultura BACTEC Myco/F Lytic foi avaliado com o instrumento 9240 BACTEC em quatro locais clínicos considerados como grandes hospitais de cuidados terciários e universitários. As populações locais incluíram doentes infectados com o VIH, doentes imunodeprimidos, doentes transplantados e doentes com suspeita de infecção por fungos. O meio de cultura BACTEC Myco/F Lytic foi comparado com o sistema ISOLATOR (Wampole Laboratories, Cranbrook, NJ) para o isolamento e detecção de leveduras e fungos a partir do sangue. Os frascos BACTEC Myco/F Lytic foram inoculados com 1 – 5 mL de sangue e os tubos ISOLATOR foram inoculados com 3 – 10 mL de sangue. O sedimento do ISOLATOR foi semeado em Agár de Chocolate, Agár de Infusão de Cérebro Coração com 5% de sangue de carneiro, e Agár de Dextrose Sabouraud. Durante a avaliação, foram testadas um total de 748 amostras. O número total de isolados de leveduras e fungos patogénicos detectados no estudo foi de 32 (Consulte o QUADRO 2). Dos positivos, sete (22%) foram isolados apenas no meio de cultura BACTEC Myco/F Lytic e seis (19%) foram isolados apenas no sistema ISOLATOR.

**QUADRO 2: RESUMO DA DETECÇÃO DE ISOLADOS NO MEIO MYCO/F LYTIC DURANTE O ENSAIO CLÍNICO**

Organismo	Total de Isolados	Apenas no Meio Myco/F Lytic	Apenas Isolator	Ambos
<b>Todos os Fungos Patogénicos:</b>				
<i>Candida albicans</i>	10	3	3	4
<i>Candida glabrata</i>	5	0	1	4
<i>Candida krusei</i>	2	2	0	0
<i>Candida parapsilosis</i>	1	1	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	1	1	0	0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1	0	0	1
Espécies de <i>Fusarium</i>	1	0	1	0
<i>Histoplasma capsulatum</i>	11	0	1	10
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>19</b>

**APRESENTAÇÃO**

Nº. de cat.	Descrição
442003	BACTEC Myco/F Lytic Culture Vials (frascos de cultura), caixa de 25 frascos
442288	BACTEC Myco/F Lytic Culture Vials (frascos de cultura), caixa de 50 frascos

**BIBLIOGRAFIA:** Consulte "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  
 Serviço de Suporte Técnico (11) 5185-9961  
 Registro ANVISA nº 10033430177  
 Centro de Relacionamento com o Cliente: 0800 0555 654

# BD BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaskor

## Supplementerad Middlebrook 7H9 oth hjärt-hjärninfusionsbuljong

### För användning med BACTEC-instrument i fluorescenserien

Svenska

#### ANVÄNDNINGSSOMRÅDE

BACTEC Myco/F Lytic odlingsmedium är ett icke-selektivt odlingsmedium som används som komplement till aeroba blododlingsmedier i kombination med BACTEC-instrument i fluorescenserien, för påvisning av mykobakterier, jästsvampar och andra svampar i blod. Detta medium kan också användas för odling av sterila kroppsvätskor vid misstanke på förekomst av jästsvampar eller andra svampar.

#### SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Sedan mitten av 1980-talet och ökningen av den immunkomprometterade patientpopulationen, har incidensen av sepsis orsakad av opportunistiska patogener, såsom jästsvampar, andra svamparter samt mykobakterier ökat. *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) och andra mykobakterier än *M. tuberculosis* (MOTT), i synnerhet *Mycobacterium avium*-komplex (MAC), är åter på frammarsch. Mellan 1985 och 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. 1990 hade ökningen av fallen med disseminerade, icke-tuberkulösa mykobakterieinfektioner resulterat i en kumulativ incidens på 7,6%.<sup>1</sup> Sedan början av 1980-talet har också noterats en stadig ökning av incidensen fungemier. Detta har ökat behovet av effektiva diagnostiska laboratoriemetoder för påvisning av svamp och mykobakterier i blod.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) rekommenderar alla laboratorier att använda de snabbaste metoder som finns tillgängliga för diagnostisk mykobakterietestning. Dessa rekommendationer innefattar användning av ett flytande medium för odling av mykobakterier.<sup>2-4</sup>

BACTEC-instrumenten i fluorescenserien är konstruerade för snabb detektion av mikroorganismer i kliniska prover. BACTEC Myco/F Lytic odlingsmedium är en Middlebrook 7H9- och hjärt-hjärninfusionsbuljong, avsedd för påvisning av mykobakterier i blodprover, och av jästsvampar och andra svampar i blod och sterila kroppsvätskor. Särskilda modifieringar har gjorts för att främja tillväxt och möjlighet till påvisning av mykobakterier, jästsvampar och andra svampar. Dessa modifieringar innefattar tillsats av järnammونیumcitrat i syfte att förse vissa mykobakteriestammar och svampar med en järnkälla, tillsats av saponin som hemolyserande agens och tillsats av specifika proteiner och sockerarter som extra näringstillätsater. I varje flaska finns en sensor som kan detektera minskningar i flaskans syrekonzentration, som resultat av mikroorganismernas metabolism och tillväxt. BACTEC-instrumentet i fluorescenserien kontrollerar om sensorn uppvisar någon fluorescensökning, vilken i så fall är proportionell mot minskningen av halten oxygen. En positiv avläsning indikerar att flaskan kan innehålla viabla mikroorganismer.

#### PRINCIPER FÖR METODEN

BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaska är framtagen för snabb detektion av mykobakterier i blod, samt av jästsvampar och andra svampar i blod och sterila kroppsvätskor. Proverna ympas på BACTEC Myco/F Lytic-flaskan antingen med hjälp av en injektionspruta eller genom direkt dragning av prov med hjälp av nål och slang. Flaskan sätts in i BACTEC-instrumentet i fluorescenserien och skakas och inkuberas kontinuerligt vid 35 °C, för maximalt utbyte. Standardtestperioden är 42 dygn. Rekommenderade testperioder är 7 dygn för jästsvampar, 30 dygn för övriga svamparter och 42 dygn för mykobakterier. I varje flaska finns en sensor som kan detektera minskningar i flaskans syrekonzentration, som resultat av mikroorganismernas metabolism och tillväxt. Sensorn avläses av BACTEC-instrumentet i fluorescenserien var tionde minut. Via analys av graden av minskad syrehalt, mått såsom en fluorescensökning, kan BACTEC-instrumentet ur fluorescenserien fastställa om flaskan är positiv. En positiv avläsning indikerar att flaskan kan innehålla viabla mikroorganismer. Detektionsmöjligheterna begränsas till sådana mikroorganismer som kan växa vid 35 °C i detta medium. Mediet är oselektivt varför även andra aeroba organismer, inklusive bakterier, kan växa i mediet och interferera med möjligheten till påvisning av långsammare växande mykobakterier, jästsvampar och andra svampar. Odlingsflaskor som fortfarande är negativa efter avslutad testperiod 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 fosfsalter .....	0,12% v/v
Hjärt-hjärninfusion .....	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
Polysorbat 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

Sammansättningen kan ha justerats för att uppfylla specifika funktionskrav.

Detta BACTEC-medium dispenseras med tillsats av CO<sub>2</sub> och O<sub>2</sub>.

BACTEC Myco/F Lytic odlingsmedium kräver ingen ytterligare supplementering. Varje BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaska, 40 mL, levereras färdig för användning. Vid leveransen skall mediet vara klart och just bärnstensfärgat.

#### Varningar och försiktighetsbeaktanden

Avsedd för *in vitro*-diagnostik.

Denna produkt innehåller torrt naturgummi.

**Patogena mikroorganismer, inklusive hepatitvirus och humant immunbristvirus, kan förekomma i kliniska prover. "Allmänna försiktighetsbeaktanden"<sup>5-8</sup> och institutionens riktlinjer ska följas vid hantering av alla föremål som är kontaminerade med blod eller andra kroppsvätskor.**

Om testutrustningen används för påvisning av mykobakterier, rekommenderas starkt i riktlinjerna från CDC-NIH att testinstrumentet placeras på en sådan plats i mykobakterielaboratoriet där de särskilda säkerhetsrisker som föreligger vid odling av mykobakterier kan åtgärdas.<sup>9</sup>

BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaskor rymmer mer än den rekommenderade maximala provvolymen på 5 mL. Storleken på den ympade provvolymen bör därför kontrolleras.

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 3.<sup>9</sup>

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 alltid 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 flaskan vänds upp och ned.

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.

**Positiva odlingsflaskor för fortsatt odling eller färgning, m.m.:** Före uttagning av prov ur flaskan måste man släppa ut den gas som ofta bildas av den mikrobiella metabolismen. Uttagning av prov och luftning av odlingsflaskor måste utföras i biologiska säkerhetsskåp, och lämplig skyddsklädsel, inklusive handskar och ansiktsskydd, skall bäras. Se avsnittet FÖRFARANDE för ytterligare information om fortsatt odling.

#### Trasiga eller läckande flaskor

**OBS!** En inokulerad flaska som läcker eller har gått sönder kan alstra en aerosol av mykobakterier, inklusive *M. tuberculosis* eller andra bakterier. En sådan flaska skall därför hanteras 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 "Allmänna försiktighetsbeaktanden" beskrivna åtgärderna är minimikrav. Odlingsflaskorna skall bortskaffas på försvarligt sätt.

Om 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 slä av eller modifiera installationerna på den ventilationsutrustning som försörjer det berörda området. Återvänd ej till området förrän all eventuell aerosol har sjunkit eller avlägsnats genom lämplig ventilation. BD Diagnostics skall informeras genom uppringning av närmaste BD-representant. CDC har utfärdat riktlinjer för adekvata åtgärder vid accidentell kontamination med mykobakterier orsakad av skadade odlingsflaskor eller buljongsuppspensioner.<sup>9</sup>

#### Förvaringsanvisningar

Förvaras torrt, vid 2 – 25 °C, skyddade från direkt ljus.

FÅR EJ användas efter utgångsdatum.

#### 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. Blodvolymerna mellan 1 och 5 mL kan odlas; optimala påvisningsbetingelser föreligger dock vid användning av provvolym på 3 – 5 mL. 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 blodprovtagningssett, Vacutainer Safety-Lok blodprovtagningssett eller annan typ av "butterfly"-sett användas. Vid användning av nål- och slangset (provat dras direkt), skall blodflödets riktning noga observeras i starten av provtagningen. Före inokulering skall mediets volym markeras på etiketten med en penna eller tuschpenna 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; *Candida glabrata*, ATCC 15545; *Cryptococcus neoformans*, ATCC 13690); mikroskop och material för färgning av preparat och fortsatt odling från odlingsflaskorna.

Inokulation av BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaskor

1. Dra av locket på BACTEC-flaskan och kontrollera att flaskan inte uppvisar sprickor, läckage, kontamination, kraftig grumling eller buktande eller indraget membran. Flaskan FÅR EJ användas om någon defekt noteras.
2. Märk odlingsflaskan med data för identifiering av provet 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 placeras i ett BACTEC-instrument i fluorescenseriet, för inkubering och avläsning.
4. De flaskor som sätts in i instrumentet testas automatiskt under hela testprotokollperioden. Standardtestperioden är 42 dygn. Rekommenderade testperioder är 7 dygn för jästsvampar, 30 dygn för övriga svamparter och 42 dygn för mykobakterier. Se relevant bruksanvisning till BACTEC för att ställa in protokollängden. Om en negativ BACTEC Myco/F Lytic-flaska vid okulärbesiktning i slutet av testperioden förefaller positiv (dvs. buktande membran), bör flaskan genomgå fortsatt odling, färgning för syrafasta stavar och Gram-färgning, samt behandlas som presumptivt positiv.
5. Positiva flaskor identifieras av BACTEC-instrumentet i fluorescenseriet. Sensorerna i positiva respektive negativa flaskor uppvisar inte säkert några synliga skillnader; en skillnad i fluorescens kan dock detekteras av BACTEC-instrument i fluorescenseriet. **Handhavande av positiva flaskor skall alltid ske i biologiskt säkerhetsskåp. Förfaranden, spridningsskyddande utrustning och anläggningar enligt biosäkerhetsnivå 3 rekommenderas.**

Positiva flaskor bör genomgå fortsatt odling och ett lämpligt utstryk beredas.

#### Behandling av en instrumentpositiv flaska

- a) Avlägsna flaskan från instrumentet och sätt in den i ett biologiskt säkerhetsskåp.
- b) Vänd upp och ned på flaskan så att innehållet blandas.
- c) Lufta flaskan 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 preliminärsvår förrän utstrykspreparatet har hunnit bedömas.

**Fortsatt odling:** Fortsatt odling skall utföras i biologiskt säkerhetsskåp och lämplig skyddsklädsel, inklusive handskar och munskydd, skall bäras. Innan fortsatt odling utförs skall flaskan ställas upprikt 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 nålsyddet på nålen igen. Kasta nålar och sprutor i en sticksäker behållare för biologiskt riskfall.**

## KVALITETSKONTROLL

Kvalitetskontroll måste utföras i enlighet med gällande bestämmelser och/eller ackrediteringskrav samt laboratoriets standardrutiner för kvalitetskontroll. Det rekommenderas att användaren konsulterar tillämpliga CLSI- (tidigare NCCLS) riktlinjer och CLIA-föreskrifter för lämpliga kvalitetskontrollförfaranden.

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 oinkulerad flaska som negativ kontroll.

Organism	Intervall för tid-till-detektion (dygn)
<i>Mycobacterium intracellulare</i> , ATCC 13950	8 till 16
<i>Candida glabrata</i> , ATCC 15545	< 3
<i>Cryptococcus neoformans</i> , ATCC 13690	< 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 oinkulerad kontrollflaska bör skannas in i instrumentet och testas. Den inokulerade flaskan bör av instrumentet detekteras såsom positiv inom testprotokolperioden. Den negativa kontrollen bör förbli negativ. Om kvalitetskontrollen inte ger förväntat resultat, får odlingsmedierna ej användas. Kontakta i så fall lokal BD-representant för assistans.

För information om kvalitetskontroll av **BACTEC**-systemet hänvisas till relevant bruksanvisning till **BACTEC**-instrumentet.

## RAPPORTERING AV RESULTAT

En instrumentpositiv flaska måste verifieras via en färgning för syrafasta stavar eller Gram-färgat preparat. Ett positivt resultat indikerar att flaskan kan innehålla viabla mikroorganismer.

Om färgningen för syrafasta stavar eller Gram-färgningen är positiv, utförs fortsatt odling på fasta medier och resultatet rapporteras som: instrumentpositiv, positiv för syrafasta stavar eller positiv Gram-färgning, identifiering pågår.

Om inga mikroorganismer upptäckts i utstryken, utförs fortsatt odling på fasta medier, flaskan sätts in igen i instrumentet som en pågående negativ flaska inom 3 timmar efter uttagning ur instrumentet och testprotokollet fullföres. Inga rapporterbara resultat.

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

## METODENS BEGRÄNSNINGAR

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

Blodvolymen mellan 1 och 5 mL kan ympas; optimala påvisningsbetingelser föreligger dock vid användning av provvolym på 3 – 5 mL. Vid interna studier där mindre än 3 mL blod användes, sågs försenad detektion och/eller minskad påvisning av *M. intracellulare*, *M. malmoense*, *M. haemophilum* och *M. xenopi* vid användning av **BACTEC Myco/F Lytic**. Falskt positiva resultat erhålls sannolikt oftare vid blodprovsvolymer över 5 mL.

Försiktighet skall iakttagas 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 åligger 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.

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

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

**BACTEC Myco/F Lytic** odlingsflaskor inkuberas vid 35 °C, vilket möjliggör en förhindring av mykobakterier som kräver andra inkubationstemperaturer (exempelvis *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). För påvisning av sådana organismer krävs ytterligare odlingsmetoder.

*Penicillium purpurescens* och *Blastomyces dermatitidis* kunde ej detekteras i **BACTEC Myco/F Lytic** odlingsmedium. För *Hansenula anomala*, *Exophiala jeamselmei*, *Actinomyces bovis*, *Rhodotorula rubra* och *Mucor ramosissimus* erhöles ojämnt resultat vid låga inokulativnivåer (<10 CFU/flaska) vid studier med insädda odlingar. För påvisning av sådana organismer kan ytterligare odlingsmetoder krävas.

Följande isolat detekterades som positiva i **BACTEC 9240**-instrumentet vid användning av **BACTEC Myco/F Lytic** odlingsmedium, i både interna studier med insädda odlingar och/eller kliniska prövningar:

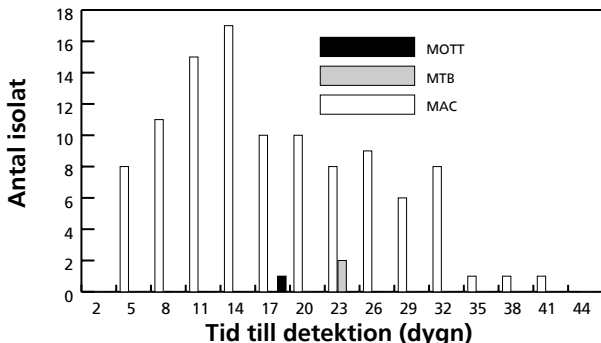
<i>Mycobacterium terrae</i>	<i>Mycobacterium abscessus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium xenopi</i>	<i>Histoplasma capsulatum</i>
<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Mycobacterium malmoense</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Mycobacterium haemophilum</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Nocardia asteroides</i>
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Malassezia furfur</i>
<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
<i>Mycobacterium szulgai</i>	<i>Candida krusei</i>	
<i>Mycobacterium simiae</i>	<i>Candida tropicalis</i>	
<i>Mycobacterium celatum</i>	<i>Ajellomyces dermatitidis</i>	

## FÖRväNTADE RESULTAT

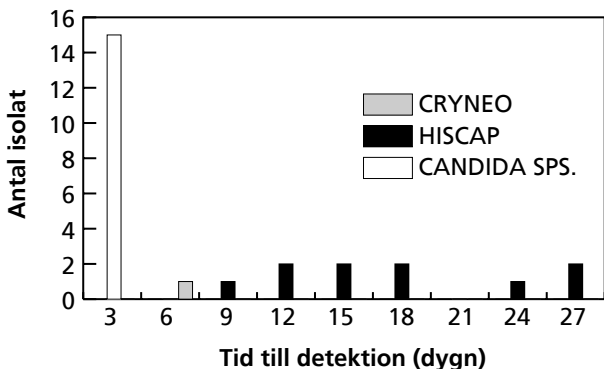
1 488 blododlingar från patienter med misstänkta mykobakteriella, jästsvamp- eller svampinfektioner utvärderades i **BACTEC Myco/F Lytic** odlingsflaska och **BACTEC 9240** blododlingssystem. 315 odlingar var positiva med 243 kliniskt signifikanta organismer påvisade, av vilka 131 (53,9%) utgjordes av mykobakterier, 35 (14,4%) av jästsvampar eller andra svampar och 77 (31,7%) av andra bakterier. Av de 1 488 blodprover som testades i denna kliniska studie, bedömdes elva **BACTEC Myco/F Lytic** odlingsflaskor (0,7%) vara falskt positiva (instrumentpositiva, men utstryk och/eller fortsatt odling negativa). Av de 315 instrumentpositiva **BACTEC Myco/F Lytic**-flaskorna, bedömdes 11 (3,5%) vara falskt positiva. Av de 1 488 blodprover som testades i denna kliniska studie, bedömdes en (1) **BACTEC Myco/F Lytic**-flaska (0,07%) vara falskt negativ (instrumentnegativ, men utstryk och/eller fortsatt odling positiv). Av de 1 173 instrumentnegativa **BACTEC Myco/F Lytic**-flaskorna, bedömdes en (0,08%) vara falskt negativ. Kontaminationsfrekvensen under denna utvärdering var 3,3%.

Frekvensdistributionen för positiva prover i den kliniska prövningen vid användning av BACTEC Myco/F Lytic odlingsflaskor och BACTEC 9000 blododlingssystem illustreras i FIGUR 1 för tid till detektion av mykobakterier och i FIGUR 2 för tid till detektion av jästsvampar och andra svampar.

FIGUR 1



FIGUR 2



#### FUNKTIONSEGENSKAPER

BACTEC Myco/F Lytic odlingsmedium utvärderades med BACTEC 9240 instrument vid två kliniska institutioner, vilka utgjordes av stora undervisningsjukhus på geografiskt skilda orter. Patientpopulationerna vid de olika platserna innefattade patienter infekterade med HIV, immunkomprometterade patienter, transplanterade patienter och patienter med misstänkta mykobakteriella infektioner. BACTEC Myco/F Lytic odlingsmedium jämfördes med BACTEC 13A odlingsmedium med avseende på påvisning och detektion av mykobakterier i blod. Totalt 1 100 blododlingsprover testades under utvärderingen. Totalt påvisades 111 patogena mykobakterieisolat (se TABELL 1). Av dessa positiva prover påvisades tio (9%) endast i BACTEC Myco/F Lytic odlingsmedium och tre (3%) endast i BACTEC 13A odlingsmedium.

TABELL 1: ÖVERSIKT ÖVER ISOLAT PÅVISADE I MYCO/F LYTIC ODLINGSMEDIUM VID KLINISK PRÖVNING

Organism	Isolat, totalt	Endast i Myco/F Lytic odlingsmedium	Endast i odlingsmedium 13A	Bägge
<b>Samtliga patogena mykobakterier:</b>				
<i>Mycobacterium avium</i>	108	10	3	95
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2	0	0	2
<i>Mycobacterium celatum</i>	1	0	0	1
Summa	111	10	3	98

BACTEC Myco/F Lytic odlingsmedium utvärderades med BACTEC 9240 instrument vid fyra kliniska institutioner, vilka utgjordes av stora undervisningsjukhus. Patientpopulationerna vid de olika platserna innefattade patienter infekterade med HIV, immunkomprometterade patienter, transplanterade patienter och patienter med misstänkta svampinfektioner. BACTEC Myco/F Lytic odlingsmedium jämfördes med ISOLATOR-systemet (Wampole Laboratories, Cranbrook, NJ) med avseende på påvisning och detektion av jästsvampar och andra svampar i blod. BACTEC Myco/F Lytic-flaskorna inokulerades med 1 – 5 mL blod och ISOLATOR-rören inokulerades med 3 – 10 mL blod. ISOLATOR-sedimenten överfördes till plattor med chokladagar, agar med hjärt-hjärninfusionsbuljong och 5% färblood och Sabouraud-dextrosagar. Totalt 748 prover testades under utvärderingen. Totalt påvisades 32 patogena jästsvamps- och svampisolat (se TABELL 2). Av dessa positiva prover påvisades sju (22%) endast i BACTEC Myco/F Lytic odlingsmedium och sex (19%) endast i ISOLATOR-systemet.

TABELL 2: ÖVERSIKT ÖVER ISOLAT PÅVISADE I MYCO/F LYTIC ODLINGSMEDIUM VID KLINISK PRÖVNING

Organism	Isolat, totalt	Endast i Myco/F Lytic odlingsmedium	Endast i Isolator	Bägge
<b>Samtliga patogena svampar:</b>				
<i>Candida albicans</i>	10	3	3	4
<i>Candida glabrata</i>	5	0	1	4
<i>Candida krusei</i>	2	2	0	0
<i>Candida parapsilosis</i>	1	1	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	1	1	0	0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1	0	0	1
<i>Fusarium-species</i>	1	0	1	0
<i>Histoplasma capsulatum</i>	11	0	1	10
Summa	32	7	6	19

**TILLGÄNGLIGHET**

Kat. nr.	Beskrivning
442003	<b>BACTEC</b> Myco/F Lytic Culture Vials (odlingsflaskor), låda à 25 flaskor
442288	<b>BACTEC</b> Myco/F Lytic Culture Vials (odlingsflaskor), låda à 50 flaskor

**REFERENSER:** Se avsnittet "References" i den engelska texten.



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



Use by / Spottebujtje 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 / Použít do / Usar antes de / Använd före / Исполняйте до / A se utiliza până la / Son kullanna tarihi / Uпотребити до / Исползовать до / дейиң пайдаланура / Uпотријебити до /  
 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 mesiacu) /  
 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) /  
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca) /  
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца) /  
 ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА (АА = айдың соңы) /  
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)



Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalognummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalógové číslo / Número de catálogo / Каталоген номер / Număr de catalog / Katalog numarası / Kataloški broj / Номер по каталогу / Каталог нөмірі



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. / Autorisierter 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 / Оторизирован представитель в EU / Représentant autorizat în Uniunea Europeană / Автура Топлулугу Yetkilisi / Ovlašćeni predstavnik u Evropskoj zajednici / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / Autorizuirani predstavnik u 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 -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnostikai orvosi eszközök / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietaisais / 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 / Медицински уред за диагностика ин витро / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Diagnostic Tibbi Cihaz / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Жасанды жағдайда жүргізетін медициналық диагностика аспабы / Medicinska pomagala za in Vitro Dijagnostiku




Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturlimitet / Temperaturi piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenje teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrensning / Температури ограничения / Limitare de temperatură / Sicaklık sınırlaması / Ograničenje temperature / Ограничение температуры / Температураны шектеу / Dozvoljena temperatura



Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch code (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) / Kod serije / Код партии (лот) / Төптөма коды / Lot (код)

 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 / Contêmo suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Conține suficient pentru <n> teste / <n> testleri için yeterli miktarda içerir / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Достаточно для <n> тестов(а) / <n> тесттері үшін жеткілікті / Sadržaj za (n) testova

 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 / Pogledajte uputstvo za upotrebu / См. руководство по эксплуатации / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Koristi upute za upotrebu



Becton, Dickinson and Company  
7 Loveton Circle  
Sparks, Maryland 21152 USA  
800-638-8663  
[www.bd.com/ds](http://www.bd.com/ds)



Benex Limited  
Rineanna House  
Shannon Free Zone  
Shannon County Clare, Ireland