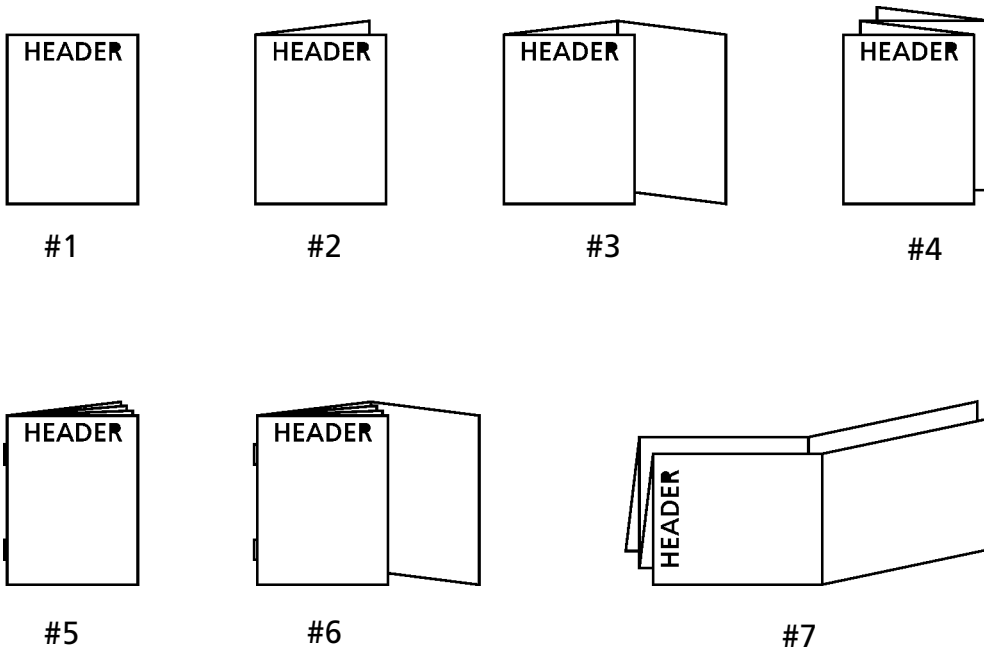


Revisions


Rev from	Rev to	ECO #
0703	0604	2891-04

Notes:

- BD Cat. Number 231741, 231735
- Blank (Sheet) Size : Length: 9" Width: 32"
 Number of Pages: 16 Number of Sheets: 1
 Page Size: Length 9" Width 4" Final Folded Size: 2.25" x 4"
- Style (see illustrations below): # 4



- See Specification Control Number L000171 for Material Information
- Ink Colors: Printed two sides Yes No
 No. of Colors: 1 PMS# Black
- Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level.

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: L000171		Category and Description Package Insert, Taxo TB Niacin	Sheet: 1 of 17 <hr/> Scale: 1:1	A

 **BD BBL™ Taxo™ TB Niacin Test Reagents**

English: pages 1 – 4
Français : pages 4 – 6
Deutsch: Seiten 7 – 9

Italiano: pagine 10 – 12
Español: páginas 13 – 15



L000171
 2004/06

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

Contact your local BD representative for instructions. / Pokyny vám poskytne místní zástupce společnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Becton Dickinson-representant för anvisningar.

INTENDED USE

BBL™ Taxo™ TB Niacin Test Strips are paper strips containing reagents for the detection of niacin production by mycobacteria.

BBL Taxo TB Niacin Test Control is used as a positive control in the niacin test.

SUMMARY AND EXPLANATION

Konno¹ first devised the standard niacin test, which was modified by Runyon et al.² Niacin produced by the organism reacts with cyanogen bromide and a primary or secondary amine (usually aniline).

Kilburn and Kubica³ further modified the niacin test, using a single strip impregnated with the reagents. Acidified potassium thiocyanate mixed with chloramine T releases cyanogen chloride, which reacts in the presence of niacin to produce a yellow color. If niacin is not present, no color appears.

BBL Taxo Niacin Test Strips are patterned with some modifications after the Kilburn and Kubica Niacin Test Strip. Kilburn and Kubica³ and Morse et al.⁴ found that the strip test was as sensitive and specific as the classical test.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

All mycobacteria produce nicotinic acid, or niacin, which plays a vital role in oxidation-reduction reactions. Because of a blocked metabolic pathway, *M. tuberculosis* and some isolates of *M. simiae* and *M. chelonae* produce the largest amounts. The niacin accumulates in the culture medium on which the organisms are growing and can be extracted from the medium.

REAGENTS

BBL Taxo TB Niacin Test Strips are absorbent paper strips impregnated with potassium thiocyanate, chloramine T, citric acid and sodium aminosalicylate. **BBL Taxo** TB Niacin Test Control paper discs are impregnated with nicotinamide; the discs, when used according to directions, will yield a yellow solution equivalent to approximately 5 µg niacin.

Warnings and Precautions:

For *in vitro* Diagnostic Use.

Only a 3 – 4 weeks old culture containing at least 50 – 100 colonies should be used in the test for niacin production. Fewer colonies may yield questionable or negative results.

The usual precautions for handling *M. tuberculosis* must be followed in performing this test.

The stoppered tubes must be autoclaved after completion of the test and before discarding.

Storage Instructions: Store **BBL Taxo** TB Niacin Test Reagents at 2 – 8°C. The expiration date applies to the product in its intact container when stored as directed.

Product Deterioration: Do not use a product if it fails to meet specifications for identity and performance.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Collect specimens in sterile containers or with sterile swabs and transport immediately to the laboratory in accordance with recommended guidelines.⁵⁻⁷ Process each specimen as appropriate for that specimen.⁵⁻⁷

An extract of the *Mycobacterium* culture is employed in the test and is prepared using the following methods. NOTE: While cultures grown on egg-based media are reported to yield the most consistent results, satisfactory results are achieved with Middlebrook and Cohn Agar supplemented with 0.1% aspartic acid.⁸

Culture on Egg Media:

1. Use a 3 – 4 weeks old culture having at least 50 – 100 colonies on Lowenstein-Jensen, Petragrani or other coagulated egg medium.
2. To prepare an extract of the *Mycobacterium* culture, add 1.5 mL of sterile distilled or deionized water or saline to the culture. Using a pipette, gently scrape off surface growth. Stab a 1 mL sterile pipette through the growth into the medium to permit extraction of the niacin. Do not use contaminated cultures that show “blued or bleached” slants.
3. Slant the tube so that the surface of the medium is in the horizontal position and is covered with the liquid. Allow to remain in this position for 20 – 30 min.
4. Carefully remove approximately 0.6 mL of the extract with a sterile capillary pipette fitted with a bulb and transfer to the bottom of a 13 x 75 mm test tube. Stopper the tube.

Cultures on BBL Middlebrook and Cohn 7H10 Agar Slants with Aspartic Acid:

1. Use a 3 – 4 weeks old culture having at least 50 – 100 colonies.
2. To prepare an extract of the *Mycobacterium* culture, add 1.5 mL of sterile distilled or deionized water or saline to the culture. Using a pipette, gently scrape off surface growth. Stab a 1 mL sterile pipette through the growth into the medium to permit extraction of the niacin.
3. Allow the fluid to remain in contact with the culture medium for 20 – 30 min. Place in a slanted position so that fluid layers over the colonies.
4. Remove 0.6 mL of the liquid extract from the culture with a sterile capillary pipette and place in a labeled, clean 13 x 75 mm test tube. Stopper the tube.

PROCEDURE

Materials Provided: BBL Taxo TB Niacin Test Strips and/or BBL Taxo TB Niacin Test Control.

Materials Required But Not Provided: Sterile distilled or deionized water or saline (0.85% NaCl), sterile capillary pipette, sterile 1 mL pipette, 13 x 75 mm test tubes, test tube stoppers, forceps, culture media and quality control organisms.

Test Procedure:

A positive control using BBL Taxo TB Niacin Test Control should be run with each series of tests and is prepared as follows:

1. Place 0.6 mL of sterile distilled or deionized water or saline into a 13 x 75 mm test tube.
2. Add one BBL Taxo TB Niacin Control disc, stopper and shake gently three times during 15 min. Allow tube to remain at room temperature.

A negative control is prepared by adding 0.6 mL of the same diluent to a 13 x 75 mm test tube in place of the extract.

1. Process the culture being tested for presence of niacin as stated under “Specimen Collection and Preparation” and place 0.6 mL extract in a 13 x 75 mm test tube as directed.
2. Have on hand a corresponding negative control in a 13 x 75 mm test tube and a positive control prepared as stated above.
3. Using a pair of flamed forceps, drop a BBL Taxo TB Niacin Test Strip with arrow downward into each tube (positive control, negative control and test culture) and stopper immediately.
4. Shake tubes gently to mix the fluid with the reagent on the bottom of the strip, but do not tilt. Repeat this gentle shaking after 5 – 10 min.
5. After 12 – 15 min, but no more than 30 min, compare the color of the extracts.
6. Autoclave the above stoppered tubes after completion of the test.

User Quality Control:

Identity Specifications –

TB Niacin Test Strips - White paper strips which may have slight coloration due to the placement of solutions on the strips. Paper strips approximately 2 1/2” x 1/4” with arrows printed in black.

TB Niacin Test Control – white, round 1/4” paper discs with “N” over “C” printed on both sides.

Cultural Response – Perform the test following the above procedure with the positive and negative control cultures listed. The TB Niacin Test Control should give the appropriate positive reaction when tested with a TB Niacin Test Strip.

Organism	ATCC™	Niacin Production
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra	25177	+
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	13950	-

+ yellow color in the extract
 - no color in the extract

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 NCCLS guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

RESULTS

A positive test for niacin is indicated by the appearance of a yellow color in the extract of the test culture and positive control, and no color in the negative control.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Although a strong positive niacin test on non-chromogenic mycobacteria is strongly indicative of *M. tuberculosis*, it is considered only preliminary identification of this organism. Complete and final identification of *M. tuberculosis* and other clinically significant mycobacteria is based upon results obtained from a battery of information, which includes biochemical tests, drug susceptibility patterns and morphological characteristics. For more information on these tests refer to appropriate texts.^{5-7,9}

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Prior to release, all lots of **BBL Taxo** TB Niacin Test Strips are tested for specific product specifications. Dilutions of 100, 20, 10, 8, 6, 4 and 2 µg/mL of nicotinic acid (niacin) in deionized water are prepared in tubes. To each dilution a TB Test Strip is added with the arrow pointing down. The tubes are gently shaken and allowed to sit for 5-10 min after which they are gently shaken again. The color of the extract is compared to a reference control after 12-15 min and again after 20-25 min.

Additionally, extracts of the following cultures are prepared using sterile saline: *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra (ATCC 25177), *M. tuberculosis* (ATCC 27294 and 25618), *M. avium* (ATCC 25291) and *M. intracellulare* (ATCC 13950). Samples of the lot of TB Niacin Test Strips are placed in the culture extract with the arrow on the strip pointed downward. The culture extract tubes are gently shaken and allowed to sit for 5-10 min after which they are gently shaken again. The color of the extract is observed after 12-15 min and again after 20-25 min. A positive (yellow color in the liquid) is observed in all the culture extracts of *M. tuberculosis*. No color change in the liquid (a negative reaction) is observed with *M. intracellulare* or *M. avium*.

All lots of TB Niacin Test Control discs are also tested for specific product specifications. Samples of the lot are placed in tubes containing processed water. The tubes are gently shaken and allowed to sit for 15 min to allow the niacin to extract from the discs. A TB Niacin Test Strip is added to each tube and the tubes are capped. The tubes are gently shaken 3 times in the next 15 min.

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
231741	BBL™ Taxo™ TB Niacin Test Strips, 1 vial, (25 strips per vial).
231735	BBL™ Taxo™ TB Niacin Test Control, 50 discs per hand-dispensing cartridge.

REFERENCES

- Konno, K. 1956. New chemical method to differentiate human-type tubercle bacilli from other mycobacteria. *Science*, 124: 985.
- Runyon, E.H., M. J. Selin, and H.W. Harris. 1959. Distinguishing mycobacteria by the niacin test: a modified procedure. *Am. Rev. Tuberc.* 79: 663-665.
- Kilburn, J. O., and G. P. Kubica. 1968. Reagent-impregnated paper strips for detection of niacin. *Am. J. Clin. Pathol.* 50: 530-532.
- Morse, W.C., et al. 1968. Laboratory Report #317. *Mycobacteriology methods*. U.S. Army Medical Research and Nutrition Laboratory, Fitzsimons General Hospital, Denver.
- Nolte, F. S., and B. Metchock. 1995. *Mycobacterium*, p. 400-437. In P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Baron, E.J., L. R. Peterson, and S. M. Finegold. 1994. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis.

7. Master, R. N. 1994. Mycobacteriology, p. 3.0.1.-3.16.4. In H. D. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Kilburn, J. O., K. D. Stottmeier, and G. P. Kubica. 1968. Aspartic acid as a precursor for niacin synthesis by tubercle bacilli grown on 7H10 agar medium. Am. J. Clin. Pathol. 50: 582-586.
9. Kent, P. T., and G. P. Kubica. 1985. Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. USDHHS. Centers for Disease Control, Atlanta.

BD Réactifs du test de la niacine tuberculeuse BBL Taxo

Français

APPLICATION

Les bandelettes réactives à la niacine tuberculeuse **BBL Taxo** sont des bandelettes de papier contenant des réactifs permettant la détection de la niacine produite par des mycobactéries.

Le témoin niacine tuberculeuse **BBL Taxo** est utilisé comme témoin positif pour le test de la niacine.

RESUME ET EXPLICATION

Konno¹ a le premier conçu le test de la niacine standard, qui a été modifié par Runyon et al.² La niacine produite par le microorganisme réagit avec le bromure de cyanogène et une amine primaire ou secondaire (habituellement l'aniline).

Kilburn et Kubica³ ont modifié plus encore le test de la niacine en utilisant une bandelette unique imprégnée de réactifs. Le thiocyanate de potassium acidifié mélangé à la chloramine T libère du chlorure de cyanogène, lequel réagit en présence de niacine pour produire une coloration jaune. En absence de niacine, aucune coloration n'apparaît.

Les bandelettes réactives à la niacine **BBL Taxo** sont profilées avec des modifications d'après la bandelette réactive à la niacine de Kilburn et Kubica. Kilburn et Kubica³ et Morse et al.⁴ ont montré que le test à bandelette est aussi sensible et spécifique que le test classique.

PRINCIPES DE LA METHODE

Toutes les mycobactéries produisent de l'acide nicotinique (ou niacine) qui joue un rôle crucial dans les réactions d'oxydoréduction. En raison d'une voie métabolique bloquée, *M. tuberculosis* et certains isolats de *M. simiae* et *M. chelonae* en produisent les plus grandes quantités. La niacine s'accumule dans le milieu de culture sur lequel croissent les microorganismes et peut être extraite du milieu.

REACTIFS

Les bandelettes réactives à la niacine tuberculeuse **BBL Taxo** sont des bandelettes de papier absorbant imprégnées de thiocyanate de potassium, de chloramine T, d'acide citrique et d'aminosalicylate de sodium. Les disques de témoin niacine tuberculeuse **BBL Taxo** sont imprégnés de nicotinamide ; utilisés conformément aux instructions, ces disques donneront naissance à une solution de couleur jaune, équivalente à 5 µg de niacine environ.

Avertissements et précautions :

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Utiliser impérativement une culture âgée de 3 à 4 semaines contenant au moins 50 à 100 colonies pour effectuer le test de production de niacine. Un nombre plus petit de colonies est susceptible de donner des résultats douteux ou négatifs.

Respecter les précautions habituelles pour la manipulation de *M. tuberculosis* en effectuant ce test.

Autoclaver les tubes à essai bouchés à l'issue du test, avant de les éliminer.

Instructions pour la conservation : Conserver les réactifs du test de la niacine tuberculeuse **BBL Taxo** à une température comprise entre 2 et 8 °C. La date de péremption s'applique au produit contenu dans son emballage intact et conservé conformément aux instructions.

Détérioration du produit : Ne pas utiliser un produit qui ne satisfait pas aux spécifications d'identité et de performances.

RECUEIL ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Recueillir les échantillons dans des récipients stériles ou au moyen d'écouvillons stériles, et les acheminer immédiatement au laboratoire en respectant les procédures en vigueur.⁵⁻⁷

Traiter chaque échantillon comme il convient.⁵⁻⁷

Un extrait de la culture de *Mycobacterium* est employé dans le test, préparé selon les méthodes qui suivent. REMARQUE : Les cultures sur milieux à base d'œuf donneraient les résultats les plus reproductibles, mais des résultats satisfaisants ont été rapportés avec la gélose de Middlebrook et Cohn additionnée de 0,1 % d'acide aspartique.⁸

Culture sur milieux à base d'œuf :

1. Utiliser une culture âgée de 3 à 4 semaines contenant au moins 50 à 100 colonies sur du milieu de Lowenstein-Jensen ou de Petragnani, ou sur un autre milieu à base d'œuf coagulé.
2. Pour préparer un extrait de culture de *Mycobacterium*, ajouter 1,5 mL d'eau distillée ou désionisée stérile ou de sérum physiologique stérile à la culture. À l'aide d'une pipette, gratter doucement la surface de la croissance bactérienne. Passer une pipette stérile de 1 mL à travers la croissance bactérienne dans le milieu de culture pour permettre l'extraction de la niacine. Ne pas utiliser de cultures contaminées qui présentent des géloses inclinées « bleutées » ou « décolorées ».
3. Incliner le tube pour que la surface du milieu se trouve en position horizontale et soit recouverte par le liquide. Laisser reposer dans cette position pendant 20 à 30 min.
4. Prélever délicatement 0,6 mL environ de l'extrait au moyen d'une micropipette capillaire stérile munie d'une cuvette et transférer au fond d'un tube à essai de 13 x 75 mm. Boucher le tube.

Cultures sur gélose inclinée 7H10 de Middlebrook et Cohn BBL avec acide aspartique :

1. Utiliser une culture âgée de 3 à 4 semaines contenant au moins 50 à 100 colonies.
2. Pour préparer un extrait de culture de *Mycobacterium*, ajouter 1,5 mL d'eau distillée ou désionisée stérile ou de sérum physiologique stérile à la culture. À l'aide d'une pipette, gratter doucement la surface de la croissance bactérienne. Passer une pipette stérile de 1 mL à travers la croissance bactérienne dans le milieu de culture pour permettre l'extraction de la niacine.
3. Laisser le liquide en contact avec le milieu de culture pendant 20 à 30 min. Placer en position inclinée afin que le liquide fasse une couche au-dessus des colonies.
4. Prélever 0,6 mL de l'extrait liquide de la culture au moyen d'une micropipette capillaire stérile et transférer dans un tube à essai propre de 13 x 75 mm muni d'une étiquette. Boucher le tube.

METHODE

Matériel fourni : Bandelettes réactives à la niacine tuberculeuse **BBL Taxo** et/ou témoin niacine tuberculeuse **BBL Taxo**.

Matériels requis mais non fournis : Eau distillée ou désionisée stérile ou sérum physiologique stérile (0,85 % NaCl), micropipette capillaire stérile, pipette de 1 mL stérile, tubes à essai de 13 x 75 mm, bouchons pour tube à essai, pinces, milieux de culture et souches de contrôle de qualité.

Mode opératoire du test :

Inclure un témoin positif dans chaque série de tests en utilisant le témoin niacine tuberculeuse **BBL Taxo** préparé comme suit :

1. Introduire 0,6 mL d'eau distillée ou désionisée stérile ou de sérum physiologique stérile dans un tube à essai de 13 x 75 mm.
2. Ajouter un disque de témoin niacine tuberculeuse **BBL Taxo**, boucher et agiter doucement à trois reprises sur une période de 15 min. Laisser reposer le tube à température ambiante.

Un témoin négatif est préparé en ajoutant 0,6 mL du même diluant à un tube à essai de 13 x 75 mm à la place de l'extrait.

1. Traiter la culture testée pour la présence de niacine comme indiqué à « Recueil et préparation des échantillons » et introduire 0,6 mL d'extrait dans un tube à essai de 13 x 75 mm comme indiqué.
2. Avoir à disposition un témoin négatif correspondant dans un tube à essai de 13 x 75 mm et un témoin positif préparé comme indiqué plus haut.
3. À l'aide d'une paire de pinces passées à la flamme, déposer une bandelette réactive à la niacine tuberculeuse **BBL Taxo**, avec la flèche orientée vers le bas, dans chaque tube (témoin positif, témoin négatif et culture testée) et boucher immédiatement.
4. Agiter doucement les tubes pour mélanger le liquide avec le réactif sur le côté inférieur de la bandelette, mais ne pas incliner le tube. Renouveler l'opération 5 à 10 min plus tard.
5. Après 12 à 15 min, sans dépasser 30 min, comparer la couleur des extraits.
6. Autoclaver les tubes bouchés ci-dessus à l'issue du test.

Contrôle de qualité par l'utilisateur :**Spécifications d'identité –**

Bandelettes réactives à la niacine tuberculeuse - Bandelettes de papier blanc, éventuellement légèrement colorées par l'imprégnation avec des solutions. Bandelettes de papier mesurant environ 64 x 6 mm avec des flèches imprimées en noir. Témoin niacine tuberculeuse – disques de papier de 6 mm de diamètre, blancs, avec « N » sur « C » sur chaque face.

Réponse culturale – Effectuer le test suivant la méthode donnée plus haut avec les cultures témoins positives et négatives indiquées. Le témoin niacine tuberculeuse doit donner la réaction positive appropriée lorsqu'il est testé avec une bandelette réactive à la niacine tuberculeuse.

Microorganisme	ATCC	Niacine Production
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra	25177	+
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	13950	-

+ coloration jaune dans l'extrait

- absence de coloration dans l'extrait

Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, 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 NCCLS et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

RESULTATS

Un test positif pour la niacine est indiqué par l'apparition d'une coloration jaune dans l'extrait de la culture testée et dans le témoin positif, en l'absence de coloration dans le témoin négatif.

LIMITES DE LA PROCEDURE

Bien qu'un test de la niacine fortement positif sur des mycobactéries non chromogènes soit fortement indicateur de la présence de *M. tuberculosis*, il est seulement considéré comme une identification préliminaire de ce microorganisme. L'identification complète et définitive de *M. tuberculosis* et d'autres mycobactéries d'importance clinique est basée sur des résultats obtenus à l'aide d'une batterie d'informations, notamment des tests biochimiques, des profils de sensibilité aux antibiotiques et des caractères morphologiques. Pour plus d'informations sur ces tests, consulter les articles appropriés.^{5-7,9}

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Les caractéristiques de performances de chaque lot de **BBL Taxo TB Niacin Test Strips** sont établies en usine. Des dilutions de 100, 20, 10, 8, 6, 4 et 2 µg/mL d'acide nicotinique (niacine) dans de l'eau désionisée sont préparées dans des tubes à essai. Une bandelette réactive à la niacine tuberculeuse TB Test Strip, flèche orientée vers le bas, est ajoutée à chacune des dilutions. Les tubes sont agités délicatement et laissés à reposer pendant 5 à 10 min avant d'être de nouveau agités délicatement. La couleur de l'extrait est comparée à celle du témoin après 12 à 15 min, puis de nouveau après 20 à 25 min.

En outre, des extraits des cultures ci-dessous sont préparés dans du sérum physiologique stérile : *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra (ATCC 25177), *M. tuberculosis* (ATCC 27294 et 25618), *M. avium* (ATCC 25291) et *M. intracellulare* (ATCC 13950). Des échantillons du lot de TB Niacin Test Strips sont déposés, flèche orientée vers la bas, dans l'extrait de culture. Les tubes contenant les extraits de culture sont agités délicatement et laissés à reposer 5 à 10 min avant d'être de nouveau agités délicatement. La couleur de l'extrait est contrôlée après 12 à 15 min puis à nouveau après 20 à 25 min. Une réaction positive (apparition d'une couleur jaune dans le liquide) est constatée dans la totalité des extraits de culture de *M. tuberculosis*. *M. intracellulare* ou *M. avium* ne présentent aucun changement de couleur du liquide (réaction négative).

Les caractéristiques de performances de tous les lots de TB Niacin Test Control discs sont également établies en usine. Des échantillons du lot sont placés dans des tubes contenant de l'eau traitée. Les tubes sont agités délicatement et laissés à reposer pendant 15 min afin de permettre à la niacine de s'extraire des disques. Une TB Niacin Test Strip est insérée dans chacun des tubes et ces derniers sont bouchés. Les tubes sont agités délicatement 3 fois au cours des 15 min suivantes.

CONDITIONNEMENT

Réf.	Description
231741	Bandelettes réactives à la niacine tuberculeuse BBL Taxo ; 1 flacon (25 bandelettes par flacon).
231735	Témoin niacine tuberculeuse BBL Taxo ; 50 disques par cartouche distributrice manuelle.

BIBLIOGRAPHIE : voir la rubrique « References » du texte anglais.

BD BBL Taxo-TB-Niacin-estreakenzien

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Die **BBL Taxo-TB-Niacin-Teststreifen** sind Papierstreifen mit Reagenzien zum Nachweis der Niacinproduktion durch Mykobakterien.

Die **BBL Taxo-TB-Niacin-Kontrollen** dienen als positive Kontrolle für den Niacintest.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Konno¹ war der erste Entwickler eines Standard-Niacintests, der dann von Runyon und Mitarbeitern² modifiziert wurde. Das vom Mikroorganismus produzierte Niacin reagiert mit Cyanbromid und einem primären oder sekundären Amin (gewöhnlich Anilin).

Kilburn und Kubica³ nahmen weitere Modifikationen des Niacintests vor, indem sie einen einzelnen Teststreifen verwendeten, der mit den Reagenzien imprägniert war. Sauer eingestelltes Kaliumthiocyanat setzt zusammen mit Chloramin T Cyanchlorid frei, das in Anwesenheit von Niacin mit diesem reagiert und eine gelbe Färbung hervorruft. Wenn kein Niacin vorliegt, bildet sich keine Färbung.

BBL Taxo-Niacin-Teststreifen sind – mit kleineren Veränderungen – entsprechend den Niacin-Teststreifen von Kilburn und Kubica aufgebaut. Kilburn und Kubica³ fanden ebenso wie Morse und Mitarbeiter⁴, daß der Streifentest ebenso empfindlich und spezifisch ist, wie der klassische Test.

VERFAHRENSPRINZIPIEN

Alle Mykobakterien produzieren Nicotinsäure (Niacin), die bei Redoxvorgängen eine wichtige Rolle spielt. Wegen eines blockierten metabolischen Pfades produzieren *M. tuberculosis* und einige Isolate von *M. simiae* und *M. chelonae* die größten Mengen Niacin. Das Niacin reichert sich im Nährboden an, auf dem die Mikroorganismen wachsen, und kann diesem entzogen werden.

REAGENZIEN

BBL Taxo-TB-Niacin-Teststreifen sind absorbierende Papierstreifen, die mit Kaliumthiocyanat, Chloramin T, Zitronensäure und Natriumaminosalicylat imprägniert sind. **BBL Taxo-TB-Niacin-Kontrollen** sind mit Nicotinamid imprägnierte Papierscheiben. Bei Verwendung gemäß Gebrauchsanweisung ergeben sie eine gelbe Lösung, die etwa 5 µg Niacin entspricht.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-vitro-Diagnostikum.

Für den Niacintest sollte nur eine 3 bis 4 Wochen alte Kultur mit mindestens 50 bis 100 Kolonien verwendet werden. Bei einer geringeren Anzahl an Kolonien könnten sich undefinierte oder negative Ergebnisse einstellen.

Für den Umgang mit *M. tuberculosis* im Rahmen dieses Tests gelten die üblichen Vorsichtsmaßnahmen.

Reagenzgläser und Stopfen sind nach dem Abschluß des Tests und vor dem Entsorgen im Autoklaven zu sterilisieren.

Aufbewahrung: **BBL Taxo-TB-Niacin-Testreagenzien** bei 2 bis 8 °C aufbewahren. Das angegebene Verfallsdatum gilt für das in der ungeöffneten Packung aufbewahrte Produkt bei Beachtung der Lagervorschriften.

Haltbarkeit des Produkts: Produkt nicht verwenden, wenn es den einschlägigen Identitäts- und Leistungsmerkmalen nicht entspricht.

PROBENGEWINNUNG UND PRÄPARATION

Proben in sterile Behälter bzw. mit sterilen Wattestäbchen entnehmen und diese entsprechend den Richtlinienempfehlungen unmittelbar zum Labor bringen.⁵⁻⁷

Proben entsprechend dem für die Probenart vorgesehenen Verfahren weiterbearbeiten.⁵⁻⁷

Für den Test wird ein Extrakt der *Mycobacterium*-Kultur verwendet. Dieser wird wie im folgenden beschrieben präpariert. HINWEIS: Zwar erhält man mit Kulturen auf eihaltigen Nährböden nach vorliegenden Berichten die einheitlichsten Ergebnisse, doch liefern auch Middlebrook- und Cohn-Agar mit Zusatz von 0,1 % Asparaginsäure zufriedenstellende Resultate.⁸

Kulturen auf eihaltigen Nährböden:

1. Eine 3 bis 4 Wochen alte Kultur mit mindestens 50 bis 100 Kolonien auf Löwenstein-Jensen-Nährboden, Petragnani-Nährboden oder einem anderen Nährboden mit koaguliertem Ei bereithalten.
2. Um einen Extrakt der *Mycobacterium*-Kultur herzustellen, dieser 1,5 mL steriles destilliertes oder entionisiertes Wasser oder Kochsalzlösung hinzufügen. Mit einer Pipette vorsichtig das Wachstum an der Oberfläche abkratzen. Eine sterile 1-mL-Pipette durch das Wachstum in den Nährboden stechen, um das Niacin extrahieren zu können. Keine kontaminierten Kulturen verwenden, auf denen die Schrägung bläulich verfärbt oder ausgebleicht aussieht.
3. Reagenzglas schräg stellen, so daß die Oberfläche des Nährbodens waagrecht liegt und mit Flüssigkeit bedeckt ist. 20 bis 30 min lang in dieser Position belassen.

4. Vorsichtig mit Hilfe einer sterilen Kapillarpipette mit Bulbus etwa 0,6 mL Extrakt entnehmen und auf den Boden eines Reagenzglases (13 x 75 mm) pipettieren. Reagenzglas mit einem Stopfen verschließen.

Schräggkulturen auf BBL-Middlebrook- und Cohn-7H10-Agar mit Asparaginsäure:

1. Eine 3 bis 4 Wochen alte Kultur mit mindestens 50 bis 100 Kolonien bereithalten.
2. Um einen Extrakt der *Mycobacterium*-Kultur herzustellen, dieser 1,5 mL steriles destilliertes oder entionisiertes Wasser oder Kochsalzlösung hinzufügen. Mit einer Pipette vorsichtig das Wachstum an der Oberfläche abkratzen. Eine sterile 1-mL-Pipette durch das Wachstum in den Nährboden stechen, um das Niacin extrahieren zu können.
3. Flüssigkeit 20 bis 30 min in Kontakt mit dem Nährboden belassen. Schräg positionieren, so daß Flüssigkeit die Kolonien überlagert.
4. Mit einer sterilen Kapillarpipette etwa 0,6 mL des flüssigen Kulturextraks entnehmen und in ein etikettiertes Reagenzglas (13 x 75 mm) pipettieren. Reagenzglas mit einem Stopfen verschließen.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Niacin-Teststreifen und/oder **BBL Taxo-TB-Niacin-Kontrollen**

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Steriles destilliertes oder entionisiertes Wasser oder Kochsalzlösung (0,85 % NaCl), sterile Kapillarpipette, sterile 1-mL-Pipette, Reagenzgläser (13 x 75 mm), Reagenzglasstopfen, Pinzette, Nährböden und Qualitätskontrollorganismen.

Testverfahren:

Mit jeder Testserie sollte eine positive Kontrolle mit **BBL Taxo-TB-Niacin-Kontrollen** mitgeführt werden. Sie wird wie folgt präpariert:

1. 0,6 mL steriles destilliertes oder entionisiertes Wasser oder Kochsalzlösung in ein sauberes Reagenzglas (13 x 75 mm) geben.
2. 1 Scheibe **BBL Taxo-TB-Niacin-Kontrolle** hinzugeben, Reagenzglas mit Stopfen verschließen und innerhalb von 15 min vorsichtig dreimal schütteln. Reagenzglas bei Zimmertemperatur aufbewahren.

Eine negative Kontrolle erhält man durch Zugeben von 0,6 mL des gleichen Lösungsmittels in ein Reagenzglas (13 x 75 mm) anstelle des Extrakts.

1. Auf Niacin zu untersuchende Testkultur wie unter „Probengewinnung und Präparation“ beschrieben verarbeiten und 0,6 mL Extrakt wie vorgesehen in ein Reagenzglas (13 x 75 mm) geben.
2. Eine entsprechende negative Kontrolle in einem Reagenzglas (13 x 75 mm) und eine positive Kontrolle, die wie oben beschrieben präpariert wurde, bereithalten.
3. Mit einer flammenförmigen Pinzette vorsichtig je einen **BBL Taxo-TB-Niacin-Teststreifen** mit dem Pfeil voran in die drei Reagenzgläser (positive und negative Kontrolle sowie Testkultur) bringen und Reagenzgläser sofort mit Stopfen verschließen.
4. Reagenzgläser vorsichtig schütteln, um die Flüssigkeit mit dem Reagenz am unteren Ende des Streifens zu mischen. Dabei jedoch Reagenzgläser nicht kippen. Dieses vorsichtige Schütteln nach 5 bis 10 min wiederholen.
5. Nach 12 bis 15 min, aber nicht später nach 30 min die Farbe der Extrakte vergleichen.
6. Die verwendeten Röhrchen und Stopfen nach Testende im Autoklaven sterilisieren.

Qualitätssicherung durch den Anwender:

Identitätsmerkmale:

TB-Niacin-Teststreifen - Weiße Papierstreifen, möglicherweise mit einer leichten Färbung durch das Aufbringen von Lösungen auf den Streifen. Papierstreifen von etwa 64 x 6 mm mit aufgedruckten schwarzen Pfeilen.

TB-Niacin-Kontrollen: Weiße, runde 6-mm-Papierscheiben mit einem aufgedruckten „N“ über einem „C“ auf beiden Seiten.

Kulturreaktion: Den Test nach dem oben beschriebenen Verfahren mit den angegebenen positiven und negativen Kontrollkulturen durchführen. Die TB-Niacin-Kontrolle sollte beim Test mit einem TB-Niacin-Teststreifen die entsprechende positive Reaktion zeigen.

Organismus	ATCC	Niacin Produktion
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra	25177	+
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	13950	-

+ Gelbe Färbung des Extrakts
- Keine Färbung des Extrakts

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten.

Anwender sollten die relevanten NCCLS-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

ERGEBNISSE

Ein positiver Test auf Niacin wird angezeigt durch das Erscheinen einer gelben Verfärbung im Extrakt der Testkultur und der positiven Kontrolle bei Ausbleiben einer Verfärbung in der negativen Kontrolle.

GRENZEN DES VERFAHRENS

Eine stark positive Niacin-Testreaktion bei nicht chromogenen Mykobakterien ist zwar ein starker Hinweis auf *M. tuberculosis*, gilt aber dennoch nur als vorläufige Identifizierung dieses Organismus. Der vollständige und endgültige Nachweis von *M. tuberculosis* und anderen Mykobakterien von klinischer Bedeutung basiert auf den Ergebnissen einer ganzen Reihe von Informationen, darunter Ergebnissen von biochemischen Tests und Medikamentenreaktionstest und morphologischen Eigenschaften. Weitere Information zu diesen Tests sind den entsprechenden Quellen zu entnehmen.^{5-7,9}

LEISTUNGSMERKMALE

Vor der Freigabe werden alle Chargen von **BBL Taxo TB Niacin Test Strips** auf ihre produktspezifischen Leistungsmerkmale getestet. In Röhrchen werden Verdünnungen von 100, 20, 10, 8, 6, 4 und 2 µg/mL Nikotinsäure (Niacin) in entionisiertem Wasser hergestellt. In jedes Röhrchen wird ein Teststreifen gegeben (Pfeil nach unten). Die Röhrchen werden vorsichtig geschüttelt, 5 - 10 min lang stehen gelassen und dann erneut vorsichtig geschüttelt. Nach 12 - 15 min und erneut nach 20 - 25 min wird die Farbe des Extrakts mit einer als Referenz dienenden Kontrollkultur verglichen.

Darüber hinaus werden Extrakte der folgenden Kulturen in steriler Kochsalzlösung hergestellt: *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra (ATCC 25177), *M. tuberculosis* (ATCC 27294 and 25618), *M. avium* (ATCC 25291) und *M. intracellulare* (ATCC 13950). Proben der Charge TB Niacin Test Strips werden in die Röhrchen eingebracht (Pfeil nach unten). Die Kulturextrakt Röhrchen werden vorsichtig geschüttelt, 5 - 10 min lang stehen gelassen und dann erneut vorsichtig geschüttelt. Nach 12 - 15 min und erneut nach 20 - 25 min wird die Farbe des Extrakts beobachtet. Alle Kulturextrakte von *M. tuberculosis* reagieren positiv (Gelbfärbung in der Flüssigkeit). Bei *M. intracellulare* und *M. avium* wird keine Farbänderung in der Flüssigkeit beobachtet (negative Reaktion).

Alle Chargen mit TB Niacin Test Control Discs werden ebenfalls auf ihre produktspezifischen Leistungsmerkmale getestet. Die Proben der Charge werden in Röhrchen mit demineralisiertem Wasser eingebracht. Die Röhrchen werden vorsichtig geschüttelt und dann 15 min lang stehen gelassen, damit das Niacin aus den Blättchen extrahiert wird. In jedes Röhrchen wird dann ein TB Niacin Test Strip gegeben, und die Röhrchen werden verschlossen. In den folgenden 15 min werden die Röhrchen 3 Mal vorsichtig geschüttelt.

BEZUGSDATEN

Katalognr.	Beschreibung
231741	BBL-Taxo-TB-Niacin-Teststreifen , 1 Fläschchen zu 25 Teststreifen
231735	BBL-Taxo-TB-Niacin-Kontrollen , 50 Stück je manuelle Kassette

LITERATUR: SIEHE "REFERENCES" IM ENGLISCHEN TEXT.

BD Reagenti per test Niacina TB BBL Taxo

Italiano

USO PREVISTO

Le strisce-test Niacina TB **BBL Taxo** sono di carta e contengono reagenti per l'individuazione della niacina prodotta dai micobatteri.

Il controllo per il test Niacina TB **BBL Taxo** viene usato come controllo positivo per il test della niacina.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL METODO

Il test standard della niacina è stato inizialmente realizzato da Konno¹ e successivamente modificato da Runyon et al.² La niacina prodotta dall'organismo reagisce con il bromuro di cianogeno e con un'ammina primaria o secondaria (generalmente l'anilina).

Kilburn e Kubica³ hanno ulteriormente modificato il test della niacina usando una singola striscia impregnata di reagenti. Il tiocianato di potassio acidificato, mescolato con la clorammina T rilascia cloruro di cianogeno, che reagisce in presenza di niacina producendo una colorazione gialla. Se la niacina è assente, non si sviluppa alcun colore.

Le strisce-test Niacina **BBL Taxo** sono disegnate con alcune modifiche sul modello della striscia-test Niacina di Kilburn e Kubica. Kilburn e Kubica³ insieme a Morse et al.⁴ hanno riscontrato che il test con la striscia era altrettanto sensibile e specifico quanto il test convenzionale.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Tutti i micobatteri producono acido nicotinico, o niacina, che svolge un ruolo determinante nelle reazioni di ossidazione-riduzione. Per via di un percorso metabolico bloccato, *M. tuberculosis* e alcuni isolati di *M. simiae* e *M. chelonae* producono le quantità maggiori. La niacina si accumula nel terreno di coltura su cui avviene la crescita degli organismi e può essere estratta dal terreno.

REAGENTI

Le strisce-test Nitrito **BBL Taxo** sono di carta assorbente impregnata di nitrato di sodio tamponato, acido citrico, ioduro di potassio e amido. I dischi di carta del controllo per il test Niacina **BBL Taxo** sono impregnati di nicotinamide; quando vengono usati secondo le istruzioni, i dischi producono una soluzione gialla equivalente a circa 5 µg di niacina.

Avvertenze e precauzioni:

Per uso diagnostico *in vitro*.

Per testare la produzione di niacina, usare solo una coltura di 3 – 4 settimane contenente almeno 50 – 100 colonie. Un numero inferiore di colonie può dar luogo a risultati non attendibili o negativi.

Per l'esecuzione di questo test, attenersi alle precauzioni convenzionali relative alla manipolazione di *M. tuberculosis*.

Una volta completato il test e prima dello smaltimento, le provette chiuse con il tappo devono essere sterilizzate in autoclave.

Modalità di conservazione: conservare i reagenti per test Niacina TB **BBL Taxo** a 2 – 8 °C. La data di scadenza si riferisce al prodotto nel contenitore intatto e conservato come prescritto.

Deterioramento del prodotto: non usare il prodotto se non risulta conforme alle specifiche di identità e di prestazioni.

PRELIEVO E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

Raccogliere i campioni in contenitori sterili o con tamponi sterili e trasportarli immediatamente al laboratorio in osservanza delle tecniche raccomandate.⁵⁻⁷

Trattare ciascun campione con il metodo adatto al campione utilizzato.⁵⁻⁷

Per il test si utilizza un estratto della coltura di micobatteri preparato con il metodo seguente. N.B. Sebbene sia stato osservato che le colture eseguite su terreni a base di uovo producano i risultati più coerenti, si ottengono risultati soddisfacenti anche con agar Middlebrook e Cohn arricchito con 0,1% di acido aspartico.⁸

Coltura di terreno a base di uovo

1. Usare una coltura di 3 – 4 settimane con almeno 50 – 100 colonie eseguita su terreno Lowenstein-Jensen, terreno Petragnani o altri terreni a base di uovo coagulato.
2. Per preparare un estratto della coltura di micobatteri, aggiungere alla coltura 1,5 mL di acqua sterile distillata o deionizzata o di soluzione salina. Con una pipetta, rimuovere delicatamente la crescita superficiale. Per consentire l'estrazione della niacina, introdurre una pipetta sterile da 1 mL nel terreno, attraverso la crescita. Non usare colture contaminate che presentano slant "blu o scoloriti".
3. Inclinare la provetta in modo che la superficie del terreno sia in posizione orizzontale e sia coperta con il liquido e lasciarla in questa posizione per 20 – 30 min.

4. Con una pipetta capillare sterile fornita di bulbo, rimuovere con attenzione circa 0,6 mL di estratto e trasferirlo sul fondo di una provetta da 13 x 75 mm. Chiudere la provetta con il tappo.

Culture su slant di agar BBL Middlebrook e Cohn 7H10 con acido aspartico

1. Usare una coltura di 3 – 4 settimane con almeno 50 – 100 colonie.
2. Per preparare un estratto della coltura di micobatteri, aggiungere alla coltura 1,5 mL di acqua sterile distillata o deionizzata o di soluzione salina. Con una pipetta, rimuovere delicatamente la crescita superficiale. Per consentire l'estrazione della niacina, introdurre una pipetta sterile da 1 mL nel terreno, attraverso la crescita.
3. Lasciare che il liquido resti a contatto con il terreno di coltura per 20 – 30 min e inclinare la provetta in modo che il liquido copra le colonie.
4. Con una pipetta capillare sterile fornita, rimuovere 0,6 mL di estratto liquido e trasferirlo in una provetta pulita e etichettata da 13 x 75 mm. Chiudere la provetta con il tappo.

PROCEDURA

Materiale fornito: strisce-test Niacina TB **BBL Taxo** e/o controllo per test Niacina TB **BBL Taxo**.

Materiali richiesti ma non forniti: acqua distillata o deionizzata o soluzione salina (0,85% NaCl), pipetta capillare sterile, pipetta sterile da 1 mL, provette da 13 x 75 mm, tappi per provette, pinze, terreni di coltura e organismi per il controllo della qualità.

Procedura Del Test -

Con ciascuna serie di test, eseguire un controllo positivo usando un controllo per il test Niacina TB **BBL Taxo** preparato nel modo seguente.

1. Dispensare 0,6 mL di acqua distillata o deionizzata o di soluzione salina in una provetta da 13 x 75 mm.
2. Aggiungere un disco di controllo Niacina TB **BBL Taxo**, chiudere con il tappo e agitare delicatamente tre volte durante 15 min. Lasciare la provetta a temperatura ambiente.

Preparare un controllo negativo aggiungendo in una provetta da 13 x 75 mm, invece dell'estratto, 0,6 mL dello stesso diluente.

1. Analizzare la coltura per individuare la presenza di niacina, come descritto in "Prelievo e preparazione del campione" e dispensare 0,6 mL di estratto in una provetta da 13 x 75 mm, come prescritto.
2. Tenere a portata di mano un controllo negativo corrispondente in una provetta da 13 x 75 mm e un controllo positivo preparato come sopra descritto.
3. Con delle pinze trattate a fiamma, introdurre in ciascuna provetta una striscia-test Niacina TB **BBL Taxo**, con la freccia diretta in basso (controllo positivo, controllo negativo e coltura per analisi) e chiudere immediatamente con il tappo.
4. Agitare delicatamente le provette per mescolare il liquido con il reagente che si trova sul lato inferiore della striscia, ma non inclinarle. Ripetere questa leggera agitazione dopo 5 – 10 min.
5. Trascorsi 12 – 15 min, ma non più di 30 min, confrontare il colore degli estratti.
6. Una volta completato il test, le provette chiuse con il tappo devono essere sterilizzate in autoclave.

Controllo di qualità a cura dell'operatore

Specifiche di identità

Strisce per test TB Niacina - Strisce di carta bianca con eventuale lieve colorazione dovuta alla dispensazione di soluzioni sulle strisce. Strisce di carta di circa 64 x 6 mm con frecce stampate in nero.

Controllo per il test – Niacina TB – dischi di carta bianchi rotondi da 0,6 cm circa con la lettera "N" su "C" stampata su entrambi i lati.

Risposta di coltura – Seguendo la procedura sopra descritta, eseguire il test con le colture di controllo positivo e negativo elencate. Il controllo per il test Niacina TB dovrebbe dar luogo alla reazione positiva appropriata, quando testato con una striscia-test Niacina TB.

Organismo	ATCC	Niacina Produzione
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra	25177	+
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	13950	-

+ colorazione gialla nell'estratto
- nessuna colorazione gialla nell'estratto

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

RISULTATI

Un test positivo per la niacina è indicato dalla comparsa di una colorazione gialla nell'estratto della coltura di analisi e nel controllo positivo e da nessuna colorazione nel controllo negativo.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Sebbene un test molto positivo per la niacina su micobatteri non cromogeni sia fortemente indicativo di *M. tuberculosis*, tale risultato viene considerato solo come identificazione preliminare di questo organismo. L'identificazione definitiva e completa di *M. tuberculosis* e altri micobatteri clinicamente significativi si basa su risultati ottenuti da una serie di informazioni che includono analisi biochimiche, pattern di sensibilità farmacologica e caratteristiche morfologiche. Per ulteriori informazioni su questi test, fare riferimento alle analisi specifiche.^{5-7,9}

PRESTAZIONI METODOLOGICHE

Prima della spedizione tutti i lotti di **BBL Taxo TB Niacin Test Strips** vengono testati per verificare le caratteristiche specifiche del prodotto. Vengono preparate in provette diluizioni di 100, 20, 10, 8, 6, 4 e 2 µg/mL di acido nicotinico in acqua deionizzata. In ciascuna diluizione si introduce una striscia-test per TB con la freccia rivolta in basso. Le provette vengono agitate delicatamente, lasciate riposare per 5 - 10 min e agitate di nuovo delicatamente. Il colore dell'estratto viene confrontato con un controllo di riferimento dopo 12 - 15 min e poi di nuovo dopo 20 - 25 min.

Inoltre, estratti delle seguenti colture vengono preparati usando soluzione fisiologica sterile: *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra (ATCC 25177), *M. tuberculosis* (ATCC 27294 e 25618), *M. avium* (ATCC 25291) e *M. intracellulare* (ATCC 13950). Campioni del lotto di TB Niacin Test Strips vengono dispensati nell'estratto di coltura con la freccia della striscia rivolta in basso. Le provette con l'estratto di coltura vengono agitate delicatamente, lasciate riposare per 5 - 10 min e agitate di nuovo delicatamente. Il colore dell'estratto viene osservato dopo 12 - 15 min e poi di nuovo dopo 20 - 25 min. In tutti gli estratti di coltura di *M. tuberculosis* si osserva una reazione positiva (colore giallo nel liquido). Nessun cambiamento di colore del liquido (reazione negativa) viene osservato con *M. intracellulare* e *M. avium*.

Anche tutti i lotti di dischi di controllo per test TB Niacin vengono testati per verificare le caratteristiche specifiche del prodotto. Campioni del lotto vengono dispensati in provette contenenti acqua purificata. Le provette vengono agitate delicatamente e lasciate riposare per 15 min per consentire l'estrazione della niacina dai dischi. Si introduce una striscia per test TB Niacin in ciascuna provetta e si tappano le provette. Le provette vengono quindi agitate delicatamente 3 volte nei 15 min seguenti.

DISPONIBILITÀ**Numero****di catalogo Descrizione**

231741	Strisce-test Niacina TB BBL Taxo , 1 flacone, (25 strisce per flacone).
231735	Controllo per test Niacina TB BBL Taxo , 50 dischi per cartuccia a dispensazione manuale.

RIFERIMENTI: VEDERE "REFERENCES" NEL TESTO INGLESE

BD Reactivos para el análisis de ácido nicotínico para TB BBL Taxo

Español

USO PREVISTO

Las tiras de análisis de ácido nicotínico para TB **BBL Taxo** son tiras de papel que contienen reactivos para la detección de la producción de ácido nicotínico por micobacterias.

El control del análisis de ácido nicotínico para TB **BBL Taxo** se utiliza como control positivo en el análisis de ácido nicotínico.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Konno¹ diseñó inicialmente el análisis de ácido nicotínico estándar, que fue modificado posteriormente por Runyon y cols.² El ácido nicotínico producido por el microorganismo reacciona con el bromuro de cianógeno y con una amina primaria o secundaria (habitualmente anilina).

Kilburn y Kubica³ modificaron de nuevo el análisis de ácido nicotínico utilizando una tira única impregnada con los reactivos. El tiocianato potásico acidificado con cloramina T libera cloruro de cianógeno, el cual reacciona en presencia de ácido nicotínico y produce un color amarillo. Si no existe ácido nicotínico, no aparece ningún color.

Las tiras de análisis de ácido nicotínico **BBL Taxo** presentan ciertas modificaciones conforme a la tira de análisis de ácido nicotínico de Kilburn y Kubica. Kilburn y Kubica³ y Morse y cols.⁴ comprobaron que el análisis de tira reactiva era tan sensible y específico como el análisis clásico.

FUNDAMENTO DEL PROCEDIMIENTO

Todas las micobacterias producen ácido nicotínico, o niacina, sustancia que desempeña un papel esencial en las reacciones de oxidación-reducción. Debido al bloqueo de una vía metabólica, *M. tuberculosis* y ciertas cepas aisladas de *M. simiae* y de *M. chelonae* producen las mayores cantidades de este compuesto. El ácido nicotínico se acumula en los medios de cultivo en los que están creciendo los microorganismos y puede extraerse de dichos medios.

REACTIVOS

Las tiras de análisis de ácido nicotínico para TB **BBL Taxo** son tiras de papel absorbente impregnadas con tiocianato potásico, cloramina T, ácido cítrico y aminosalicilato de sodio. Los discos de papel de control del análisis de ácido nicotínico para TB **BBL Taxo** están impregnados con nicotinamida; cuando se usan siguiendo las instrucciones, los discos producen una solución amarilla equivalente aproximadamente a 5 µg de ácido nicotínico.

Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

En el análisis de la producción de ácido nicotínico sólo debe utilizarse un cultivo de 3 – 4 semanas de antigüedad que contenga al menos 50 – 100 colonias. Una cantidad menor de colonias puede proporcionar resultados dudosos o negativos.

Al realizar este análisis deberán tomarse las precauciones habituales para la manipulación de *M. tuberculosis*.

Los tubos tapados deben esterilizarse en autoclave una vez terminado el análisis y antes de ser desechados.

Instrucciones de conservación: conservar las tiras de análisis de ácido nicotínico para TB **BBL Taxo** a una temperatura de 2 – 8 °C. La fecha de caducidad se aplica al producto conservado en su envase intacto de la forma indicada.

Deterioro del producto: no utilizar un producto si no cumple las especificaciones de identidad y rendimiento.

RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Recoger las muestras en recipientes estériles o con torundas estériles y transportarlos de inmediato al laboratorio siguiendo las directrices recomendadas⁵⁻⁷.

Procesar cada muestra según proceda⁵⁻⁷.

En el análisis se utiliza un extracto del cultivo de *Mycobacterium* que se prepara mediante los siguientes métodos. NOTA: Aunque se considera que los cultivos desarrollados en medios a base de huevo son los que producen los resultados más homogéneos, se obtienen resultados satisfactorios con agar de Middlebrook y Cohn suplementado con ácido aspártico al 0,1 %⁸.

Cultivo en medios de huevo:

1. Utilizar un cultivo de 3 – 4 semanas de antigüedad con al menos 50 – 100 colonias en medio de Lowenstein-Jensen, Petragnani u otro medio de huevo coagulado.
2. Para preparar un extracto del cultivo de *Mycobacterium*, añadir al cultivo 1,5 mL de agua destilada o desionizada estéril o solución salina estéril. Utilizando una pipeta, retirar con suavidad el crecimiento de la superficie. Introducir una pipeta estéril de 1 mL a través del crecimiento hasta el medio

para permitir la extracción del ácido nicotínico. No utilizar cultivos contaminados que muestren inclinaciones azules o descoloradas.

3. Inclinarse el tubo de forma que la superficie del medio quede en posición horizontal y esté cubierta por el líquido. Dejar que permanezca en esta posición durante 20 – 30 min.
4. Retirar con cuidado aproximadamente 0,6 mL del extracto con un capilar estéril dotado de una pera y transferirlos al fondo de un tubo de ensayo de 13 x 75 mm. Tapar el tubo.

Cultivos en tubos inclinados de agar de Middlebrook y Cohn 7H10 BBL con ácido aspártico:

1. Utilizar un cultivo de 3 – 4 semanas de antigüedad que tenga al menos 50 – 100 colonias.
2. Para preparar un extracto del cultivo de *Mycobacterium*, añadir al cultivo 1,5 mL de agua destilada o desionizada estéril o solución salina estéril. Utilizando una pipeta, retirar con suavidad el crecimiento de la superficie. Introducir una pipeta estéril de 1 mL a través del crecimiento hasta el medio para permitir la extracción del ácido nicotínico.
3. Dejar que el líquido permanezca en contacto con el medio de cultivo durante 20 – 30 min. Colocar en posición inclinada de forma que el líquido cubra las colonias.
4. Retirar 0,6 mL de extracto líquido del cultivo con un capilar estéril y colocar el material en un tubo de ensayo limpio de 13 x 75 mm etiquetado. Tapar el tubo.

PROCEDIMIENTO

Material suministrado: tiras de análisis de ácido nicotínico para TB **BBL Taxo** y/o control del análisis de ácido nicotínico para TB **BBL Taxo**.

Materiales necesarios pero no suministrados: agua destilada o desionizada estéril o solución salina (NaCl al 0,85 %) estéril, pipeta capilar estéril, pipeta estéril de 1 mL, tubos de ensayo de 13 x 75 mm, tapones para tubos, pinzas, medios de cultivo y microorganismos de control de calidad.

Procedimiento del análisis:

Debe analizarse un control positivo utilizando el control del análisis de ácido nicotínico para TB **BBL Taxo** con cada serie de análisis; el control se prepara de la forma siguiente:

1. Colocar 0,6 mL de agua destilada o desionizada estéril o solución salina estéril en un tubo de ensayo de 13 x 75 mm.
2. Añadir un disco de control del análisis de ácido nicotínico para TB **BBL Taxo**, taparlo y agitarlo con suavidad tres veces durante 15 min. Dejar que el tubo permanezca a temperatura ambiente.

Se prepara un control negativo añadiendo 0,6 mL del mismo diluyente a un tubo de ensayo de 13 x 75 mm en lugar del extracto.

1. Procesar el cultivo que se está analizando para determinar la presencia de ácido nicotínico siguiendo las instrucciones del apartado "Recogida y preparación de las muestras" y colocar 0,6 mL de extracto en un tubo de ensayo de 13 x 75 mm según se indica.
2. Tener disponible un control negativo correspondiente en un tubo de ensayo de 13 x 75 mm y un control positivo preparado según se ha descrito anteriormente.
3. Utilizando unas pinzas flameadas, introducir una tira de análisis de ácido nicotínico para TB **BBL Taxo** con la flecha orientada hacia abajo en cada tubo (control positivo, control negativo y cultivo de análisis) y taparlos de inmediato.
4. Agitar los tubos con suavidad para mezclar el líquido con el reactivo en la base de la tira, pero no inclinarlos. Volver a agitar con suavidad a los 5 – 10 min.
5. Transcurridos 12 – 15 min, pero no más de 30 min, comparar el color de los extractos.
6. Una vez terminado el análisis, esterilizar en autoclave los tubos tapados anteriormente indicados.

Control de calidad del usuario:

Especificaciones de identidad:

Tiras de análisis de ácido nicotínico para TB - Stiras de papel blanco que pueden tener una leve coloración debido a la colocación de soluciones en las tiras. Tiras de papel de aproximadamente 64 x 6 mm con flechas impresas en negro.

Control del análisis de ácido nicotínico para TB: discos de papel redondos de color blanco de 6 mm con una "N" sobre una "C" impresas en ambos lados.

Respuesta del cultivo: realizar el análisis siguiendo el procedimiento anteriormente descrito con los cultivos de control positivo y negativo relacionados. El control del análisis de ácido nicotínico para TB debe proporcionar la reacción positiva adecuada cuando se analiza con una tira de análisis de ácido nicotínico para TB.

Microorganismo	ATCC	Ácido nicotínico Producción
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra	25177	+
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	13950	-

+ color amarillo en el extracto
- sin color en el extracto

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

RESULTADOS

El resultado positivo del análisis está indicado por la aparición de un color amarillo en el extracto del cultivo de análisis y en el control positivo, con ausencia de color en el control negativo.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Aunque un análisis de ácido nicotínico muy positivo para micobacterias no cromógenas es muy indicativo de *M. tuberculosis*, se lo considera sólo una identificación preliminar de este microorganismo. La identificación total y definitiva de *M. tuberculosis* y de otras micobacterias importantes desde el punto de vista clínico se basa en los resultados derivados de una batería de pruebas tales como pruebas bioquímicas y patrones de sensibilidad farmacológica y del estudio de las características morfológicas. Para obtener más información sobre estas pruebas, consultar los textos pertinentes^{5-7,9}.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de **BBL Taxo TB Niacin Test Strips** se analizan para verificar las características específicas del producto. Se preparan en tubos diluciones de 100, 20, 10, 8, 6, 4 y 2 µg/mL de ácido nicotínico (niacina) en agua desionizada. Para cada dilución, se añade una tira de prueba de TB con la flecha hacia abajo. Los tubos se agitan suavemente y se dejan reposar durante 5 - 10 min y luego se vuelven a agitar suavemente. El color del extracto se compara con el de un control de referencia después de 12 - 15 min y nuevamente después de 20 - 25 min.

Además, se preparan extractos de los siguientes cultivos con solución salina estéril: *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra (ATCC 25177), *M. tuberculosis* (ATCC 27294 y 25618), *M. avium* (ATCC 25291) y *M. intracellulare* (ATCC 13950). Las muestras del lote de TB Niacin Test Strips se colocan en el extracto de cultivo con la flecha hacia abajo. Los tubos con extracto de cultivo se agitan suavemente y se dejan reposar durante 5 - 10 min y luego se los vuelve a agitar suavemente. Se observa el color del extracto después de 12 - 15 min y nuevamente después de 20 - 25 min. Se observa una reacción positiva (color amarillo en el líquido) en todos los extractos de cultivo de *M. tuberculosis*. No se registra cambio de color en el líquido (reacción negativa) con *M. intracellulare* o *M. avium*.

Todos los lotes de los TB Niacin Test Control Discs también se analizan para determinar sus características específicas. Las muestras del lote se colocan en tubos con agua procesada. Los tubos se agitan suavemente y se dejan reposar durante 15 min para permitir la extracción de niacina de los discos. Se añade una TB Niacin Test Strip a cada tubo y éstos se tapan. Los tubos se agitan suavemente 3 veces en los siguientes 15 min.

DISPONIBILIDAD

N.º cat.	Descripción
231741	Tiras de análisis de ácido nicotínico para TB BBL Taxo , 1 vial, (25 tiras por vial).
231735	Control del análisis de ácido nicotínico para TB BBL Taxo , 50 discos por cartucho de dispensación manual.

REFERENCIAS: VEA "REFERENCIAS" EN EL TEXTO EN INGLÉS



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



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 meditsiinaparatuur / Lääkinnällinen in
vitro -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro /
Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In
vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In
vitro diagnostikos prietais / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządze-
nie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in
vitro / Medicinska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de
diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik



Use by / Spotřebujte do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatósg dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Použite do / Usar antes de / Använd före / YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned) / JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) / AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) / VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) / AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) / JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) / EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) / ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) / AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) / MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mensesio 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)



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



Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autorisert 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



Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturlimit / Temperaturipiirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning



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



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



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



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



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