

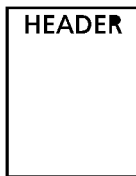
Revisions

SO 0191-5

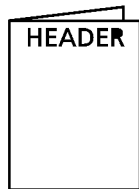
Rev from	Rev to	ECO #
0607	2010/07	5394-10

Notes:

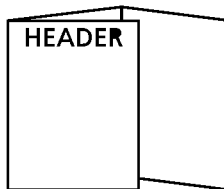
- BD Cat. Number 442103
- Blank (Sheet) Size : Length: N/A Width: N/A
 Number of Pages: N/A Number of Sheets: N/A
 Page Size: Length N/A Width N/A Final Folded Size: N/A
- Style (see illustrations below): N/A



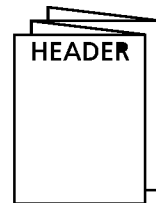
#1



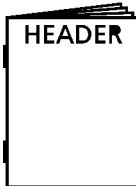
#2



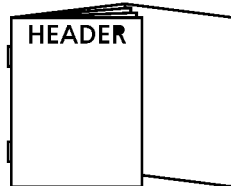
#3



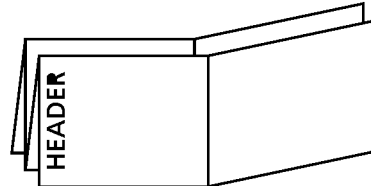
#4



#5



#6



#7

- See Specification Control Number VS-0250 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

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: PP119JAA		Category and Description Package Insert, BACTEC NAP TB Differentiation Test Kit	Sheet: 1 of 21	A
			Scale: 1:1	

BD BACTEC™ NAP TB **Differentiation Test Kit**

English:	pages	1 – 4	Italiano:	pagine	10 – 12
Français :	pages	4 – 7	Português:	páginas	13 – 15
Deutsch:	Seiten	7 – 10	Español:	páginas	16 – 18



PP119JAA
2010/07

Pokyny vám poskytne miestni zástupce spoločnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Becton Dickinson-representant för anvisningar. / Свяжитесь с местным представителем компании BD. / Contactați reprezentantul dumneavoastră local BD pentru instrucțiuni. / Talimatlar için yerel BD temsilcilerinize danışın. / Obratíte se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Для получения инструкций свяжитесь с местным представителем компании BD. / Өзіндік жергілікті БД өкіліне жүгініп нұсқа алыңыз. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute.

INTENDED USE

BACTEC NAP TB Differentiation Test is a test to differentiate the *Mycobacterium tuberculosis* complex from other mycobacteria. Principal use is with the **BACTEC 460TB System** instrument. **BACTEC NAP** (p-nitro- α -acetyl-amino- β -hydroxy-propionophenone) TB Differentiation Test is recommended for use with **BACTEC 12B Medium** for rapid differentiation of the TB complex (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* and *M. microti*) from mycobacteria other than *M. tuberculosis* (MOTT). This test should be used in conjunction with bacterial morphology on smear and growth characteristics in **BACTEC 12B Medium**.

SUMMARY AND EXPLANATION

BACTEC 12B Medium does not allow observation of colonial morphology, however, the GI output can be characteristic for certain species of mycobacteria. *M. tuberculosis* and *M. bovis* exhibit slow growth with a 2 to 3 fold increase in the daily GI output while other mycobacteria (MOTT bacilli) may show daily increases as high as 10 fold. Visually, *M. tuberculosis* growth in **BACTEC 12B Medium** displays small specks or clumps with a clear medium. Other mycobacteria grow in very small particles and may give slight turbidity to the medium.

Smears made from a positive vial (GI = 100 or more) may give an indication of the type of mycobacteria growing in the medium. Presence of serpentine cords and clumps is a characteristic of *M. tuberculosis* (*M. bovis* and *M. kansasii* may also form cords). Other mycobacteria have some other characteristic morphology, such as *M. avium*/*M. intracellulare* which show branching with long strands of bacilli.

The **BACTEC NAP Test** further helps in a rapid differentiation of *M. tuberculosis*, the most important species of mycobacteria. This test is independent of the Niacin test. A sample of actively growing culture is inoculated into the NAP vial which contains a disc containing 5 μ g of NAP. The vial, along with the control, is incubated and growth in the presence of NAP is monitored on the **BACTEC 460TB System** instrument. Analysis of the daily GI readings within the next 3 to 5 days helps in the differentiation of the TB complex from other mycobacteria.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

NAP (p-nitro- α -acetyl-amino- β -hydroxy-propionophenone), an intermediate compound in the synthesis of chloramphenicol, inhibits mycobacteria belonging to the TB Complex (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* and *M. microti*) almost completely, while other mycobacteria show either slight or no inhibition. When mycobacterial growth is inhibited in the presence of NAP, the evolution of $^{14}\text{CO}_2$ is also inhibited, as indicated either by no increase or a decrease in the GI. This effect on the GI is used as a tool for identification.

REAGENTS

The **BACTEC NAP Kit** vials contain a paper disk with the following active ingredient:

p-nitro- α -acetyl-amino- β -hydroxy-propionophenone 5 μ g

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"¹⁻⁴ and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood or other body fluids.

DO NOT USE a NAP Differentiation Test vial if it is obviously contaminated, discolored, or does not contain a disk. Moisture, especially at higher temperatures, causes rapid deterioration of NAP.

Aseptic techniques and established procedures against microbial hazards should be used at all times.⁵ Always use within a biological safety cabinet. Avoid any contact with the disc. After use, specimen containers and other contaminated material should be sterilized by autoclaving.

Prior to use, each vial should be examined for evidence of damage.

Vials that exhibit evidence of damage should be discarded prior to inoculation. On rare occasions, the glass bottle 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. If the vial has been inoculated, treat the leak or spill with caution, as pathogenic organisms/agents may be present. Before discarding, sterilize all inoculated vials by autoclaving.

Positive culture vials for subculturing or staining: Before sampling it is necessary to release gas which may build up due to microbial metabolism. Aseptic techniques and established precautions against microbial hazards should be used at all times. Procedures should be performed in a suitable biological safety cabinet in a room with an appropriate ventilation system as recommended by the CDC.⁵ Use a proper protective gown, mask, and gloves while handling specimens and cultures of potential pathogens. Follow the CDC and OSHA recommendations.

To minimize the potential of leakage during inoculation, use syringes with permanently attached needles or securely fastened **Luer-Lok** brand tips.

The toxicity of this compound has not been studied. Its use should be accompanied by appropriate procedures to avoid exposure.

Storage Instructions

BACTEC NAP vials should be kept refrigerated at 2 – 8°C out of direct sunlight. Do not expose to heat or high temperature, as NAP is heat labile.

The expiration date applies to the unopened vial when stored as directed.

SPECIMEN COLLECTION

Actively growing cultures in **BACTEC** 12B Medium may be used to perform the NAP test. The test culture should be pure and free from non-mycobacterial contamination.

PROCEDURES

Materials Provided: Ten vials, each containing one NAP disk.

Materials Required But Not Provided: **BACTEC** 460TB Instrument, **BACTEC** 12B Medium, Tuberculin syringe with permanently attached needle, Disinfectant solution, Alcohol swab, **BACTEC** Diluting Fluid.

For details see the **BACTEC** 460TB System Product and Procedure Manual (MA-0029).

When a **BACTEC** 12B Medium vial shows a GI 10 or more, test the vial daily until the GI reaches 50 – 100. Ensure that the culture is not contaminated by performing a Gram stain or subculture. Homogenize the culture with a tuberculin syringe (permanently attached needle) and, using the same syringe, aseptically transfer 1 mL to the NAP vial. Swab the top of the NAP vial and the control (original culture) vial with an appropriate disinfectant, followed by cleaning with an alcohol swab. Test both vials on the **BACTEC** instrument immediately to purge with 5 – 10% CO₂. Disregard the readings. Incubate at 37°C ± 1°C or at the optimum temperature and test daily for the next 2 to 6 days. Record the daily GI of the NAP vial and the original vial which acts as a control.

If the GI is found to be more than 100, the culture should be diluted as follows prior to inoculating the NAP vial:

GI 50 – 100	no dilution
GI 101 – 200	0.8 mL into a fresh BACTEC 12B Medium vial
GI 201 – 400	0.6 mL into a fresh BACTEC 12B Medium vial
GI 401 – 600	0.4 mL into a fresh BACTEC 12B Medium vial
GI 601 – 800	0.3 mL into a fresh BACTEC 12B Medium vial
GI 801 – 999	0.2 mL into a fresh BACTEC 12B Medium vial
GI 999 more than 1 day	0.1 mL into a fresh BACTEC 12B Medium vial

Do not let the culture grow beyond the peak GI value (999). If a culture is overgrown, subculture in a **BACTEC** 12B Medium vial, incubate and test daily until the desired GI is obtained.

If growth on a solid medium is to be tested, make a suspension by scraping a few representative colonies and emulsifying them in a tube of sterile water or **BACTEC** diluting fluid. Adjust the turbidity of the suspension so that it is comparable to the McFarland #1 standard. Inoculate 0.1 mL of this suspension into a **BACTEC** 12B Medium vial. Incubate and test daily on the **BACTEC** 460TB System instrument. Once the GI reaches 50 – 100, follow the procedure described above.

QUALITY CONTROL

The following positive and negative controls should be included in each batch of testing to ensure the accuracy of the test procedure.

<i>M. tuberculosis</i> , H37Rv	ATCC™ No. 27294
<i>M. kansasii</i>	ATCC No. 35775
<i>M. intracellulare</i>	ATCC No. 13950
<i>M. avium</i>	ATCC No. 35717

*For details, see the **BACTEC** 460TB System Product and Procedure Manual (MA-0029).

DO NOT USE vials past their expiration date.

DO NOT USE vials that exhibit any cracks or defects; discard the vial in an appropriate manner.

Quality Control Certificates are provided with each NAP Kit. Quality Control Certificates show test organisms utilized for this type of product.

As part of the daily maintenance schedule, Performance Test Vials (**BACTEC** Performance Test Kit) should be tested on the **BACTEC** instrument. If low readings are obtained, yet Performance Test Vials were tested properly, possible instrument problems may be indicated (see the **BACTEC** PTK package insert, PP-046JAA).

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.

INTERPRETATION OF RESULTS

The daily GI of the control (original culture vial) will continue to increase. In the NAP test vial, the decrease or increase depends upon the species of mycobacteria present. A decrease or unchanging GI indicates TB Complex, whereas an increase in GI indicates MOTT bacilli. The following criteria would apply to almost all mycobacteria in the NAP vial:

TB Complex (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. africanum*)

- two consecutive significant decreases in GI after the inoculation
- slight, but not significant increase, in the first two days and then a decrease or no increase in GI

MOTT bacilli

- daily GI reading increases to over 400 within four days
- a slight decrease or no increase in the first one to three days after inoculation, and then two consecutive daily significant increases following day two

A “significant” increase or decrease means a 20% or more change from one day to the next.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Separation of TB Complex from MOTT by the BACTEC NAP TB Differentiation Test is possible with isolated, pure cultures only. A mixed culture of TB Complex and MOTT bacilli will result in an increase of GI, indicating MOTT bacilli only. Contamination with bacteria other than mycobacteria can also result in a false increase in the GI when the contaminant utilizes the substrate. NAP vials should be checked visually for any obvious contamination and/or turbidity. A smear for AFB from the NAP vial in the event of increasing GI is helpful in confirming the presence of MOTT bacilli and TB, or contaminating bacteria.

Occasional strains of *M. kansasii* may be inhibited by NAP to the extent that the results may be incorrectly reported. Further speciation is to be carried out by other methods.

Due to the nature of biological materials in media products and inherent organism variability, the user shall be cognizant of potential variable results in the recovery of certain organisms.

EXPECTED VALUES

The reporting time of results varies from 2 to 6 days depending on the mycobacterial species. Results should be reported only when a clear trend is achieved. If the GI is unchanged, identification as TB Complex should not be interpreted in less than 4 days. Average time for the completion of the NAP test has been reported to be 4 days.^{6,7-11}

NAP test results should be supported by growth characteristics and morphology of AFB on an acid-fast stained smear. The smear could also indicate the presence of mixed cultures or contamination.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Although most NAP tests are easy to interpret, some tests require additional incubation time in order to demonstrate a clear trend. This is most important with the mycobacteria which are partially inhibited by NAP and show a slow or a delayed increase in GI or a longer lag phase in the presence of NAP (e.g., some strains of *M. kansasii*, *M. gastri*, *M. szulgai*, *M. terrae*, and *M. triviale*). All MOTT bacilli studied during the NAP evaluation demonstrated an increase in GI within 5 to 6 days.^{5,7} However, occasional strains of *M. kansasii* may be inhibited more than usual by NAP and could be misidentified by the test. Incubation at the optimal temperature is necessary to obtain correct results. Mycobacteria such as *M. chelonae* and *M. marinum*, which grow at lower than 37°C, and *M. xenopi* which grows at a higher temperature, may give incorrect results if tested at 37°C. In cases where the optimum incubation temperature is not certain, the test should be performed at more than one temperature. In previous studies, overall sensitivity and specificity of the test were estimated to be 98 – 99%.^{7,10}

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
----------	-------------

442103	BACTEC NAP TB Differentiation Kit, 5 µg NAP per vial, 10 vials per carton
--------	---

442004	BACTEC 12B Medium, 4 mL, 100 per carton
--------	---

REFERENCES

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
2. 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.
3. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
4. 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.
5. Kent, P.T. et al. Public health mycobacteriology, a guide for the level III laboratory. Centers for Disease Control, Division of Laboratory Training and Consultation. Atlanta, GA, 1985.
6. Gross, W.M. et al. Radiometric selective inhibition tests for differentiation of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, and other mycobacteria. J. Clin. Microbiol., 21:565-568, 1985.

- Laszlo, A. et al. Evaluation of a rapid radiometric differentiation test for the *Mycobacterium tuberculosis* complex by selective inhibition with *p*-nitro- α -acetyl amino- β -hydroxy-propionophenone. J. Clin. Microbiol., 19:694-695, 1984.
- Libonati, J.P. et al. Identification and direct drug susceptibility testing of mycobacteria by the radiometric method. Abstract C300, A.S.M. Meeting, St. Louis, MO 1984.
- Morgan, M.A. et al. Evaluation of the *p*-nitro- α -acetyl amino- β -hydroxy-propionophenone differential test for identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex. J. Clin. Microbiol., 21:634-635, 1985.
- Siddiqi, S.H. et al. Rapid radiometric methods to detect and differentiate *Mycobacterium tuberculosis* / *M. bovis* from other mycobacterial species. Amer. Rev. Respir. Dis., 130:634-640, 1984.
- Stager, C.E. et al. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* from acid-fast smear-positive specimens by direct inoculation of the **BACTEC** NAP Test. Abstract C267, A.S.M. Annual Meeting, Las Vegas, NV, 1985.



BACTEC NAP TB Differentiation Test Kit

Français

APPLICATION

Le **BACTEC** NAP TB Differentiation Test (test de différenciation B.K. NAP **BACTEC**) est un test servant à différencier le complexe *Mycobacterium tuberculosis* des autres mycobactéries. Il s'utilise principalement avec le système **BACTEC** 460TB System. Le **BACTEC** NAP (*p*-nitro- α -acétylamino- β -hydroxy-propionophénone) TB Differentiation Test est recommandé conjointement avec le **BACTEC** 12B Medium (milieu **BACTEC** 12B) pour différencier rapidement le complexe *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* et *M. microti*) des mycobactéries autres que *M. tuberculosis* (MOTT). Ce test doit être interprété à la lumière de la morphologie bactérienne sur frottis et des caractéristiques de croissance en **BACTEC** 12B Medium.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Le **BACTEC** 12B Medium ne permet pas d'observer la morphologie des colonies ; cependant, la valeur de l'indice de croissance peut être caractéristique de certaines espèces de mycobactéries. *M. tuberculosis* et *M. bovis* présentent une croissance lente avec un accroissement de 2 à 3 fois l'indice de croissance quotidien alors que les autres mycobactéries (bacilles MOTT) peuvent afficher un accroissement quotidien allant jusqu'à 10 fois. Visuellement, la croissance de *M. tuberculosis* en **BACTEC** 12B Medium se présente sous la forme de petites taches ou agrégats dans un milieu limpide. Le développement d'autres mycobactéries peut former de très petites particules et conférer une légère turbidité au milieu.

Les frottis réalisés à partir d'un flacon positif (indice de croissance supérieur ou égal à 100) peuvent donner une indication du type de mycobactéries se développant dans le milieu. La présence d'arrangements en serpentins ou d'agrégats de *M. tuberculosis* (*M. bovis* et *M. kansasii* peuvent également s'arranger en cordons). Certaines mycobactéries possèdent d'autres caractéristiques morphologiques, comme *M. avium*/*M. intracellulare*, qui présentent des ramifications de longs brins de bacilles.

Le **BACTEC** NAP Test facilite encore la différenciation rapide de *M. tuberculosis*, qui est l'espèce la plus importante des mycobactéries. Ce test est indépendant de celui de la niacine. Un échantillon de culture en phase exponentielle de croissance est ensemencé dans un flacon NAP contenant un disque imprégné de 5 µg de NAP. Le flacon et le contrôle sont incubés conjointement et la croissance bactérienne en présence de NAP est contrôlée sur le système **BACTEC** 460TB System. L'analyse des valeurs d'indice de croissance dans les 3 à 5 jours facilite la différenciation du complexe *Mycobacterium tuberculosis* des autres mycobactéries.

PRINCIPES DE LA METHODE

Le NAP (*p*-nitro- α -acétylamino- β -hydroxy-propionophénone), intermédiaire de synthèse du chloramphénicol, inhibe presque totalement la croissance des mycobactéries appartenant au complexe *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* et *M. microti*), alors que d'autres mycobactéries ne sont que légèrement ou nullement inhibées. Lorsque la croissance mycobactérienne est inhibée en présence de NAP, l'évolution du dégagement de $^{14}\text{CO}_2$ est également stoppée, comme l'indique l'absence d'augmentation ou la diminution de l'indice de croissance. Cette incidence sur l'indice de croissance sert d'outil d'identification.

RÉACTIFS

Les flacons de la trousse **BACTEC** NAP Kit contiennent un disque de papier imprégné de la substance active suivante :
p-nitro- α -acétylamino- β -hydroxy-propionophénone 5 µg

Avertissements et précautions

Réservé au 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 »¹⁻⁴ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques.

NE PAS UTILISER un flacon de a NAP Differentiation Test en cas de contamination visible ou de décoloration ou en l'absence de disque. L'humidité (notamment en cas d'élévation de la température) entraîne une détérioration rapide du NAP.

Respecter les techniques d'asepsie et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques.⁵ Toujours manipuler sous une hotte biologique de sécurité. Éviter tout contact avec le disque. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les récipients ayant contenu des échantillons et le matériel contaminé.

Avant l'emploi, inspecter les flacons et s'assurer qu'ils ne sont pas endommagés.

Jeter les flacons visiblement endommagés avant l'étape d'ensemencement. Il peut arriver que le goulot d'un flacon en verre soit fêlé et se rompe lors du retrait de la capsule de protection ou pendant les manipulations. Il peut arriver exceptionnellement qu'un flacon ne soit pas suffisamment étanche. Dans les deux cas, le contenu du flacon risque de fuir ou de se répandre, surtout si le flacon est renversé. Si le flacon a été ensemencé, traiter la fuite ou le liquide répandu avec précaution en raison de la présence éventuelle de microorganismes ou d'agents pathogènes. Stériliser à l'autoclave les flacons ensemencés avant de les jeter.

Flacons contenant une culture positive destinée au repiquage ou à une coloration : Avant d'effectuer un prélèvement, il est nécessaire de libérer le gaz qui peut s'être accumulé à la suite du métabolisme bactérien. Respecter les techniques d'asepsie et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Effectuer les manipulations sous une hotte biologique de sécurité dans un local équipé d'une ventilation adéquate conformément aux recommandations du CDC (U.S. Centers for Disease Control and Prevention).⁵ Porter une blouse protectrice adéquate, un masque et des gants pour manipuler des échantillons et des cultures potentiellement pathogènes. Suivre les recommandations des CDC et de l'OSHA (U.S. Occupational Safety and Health Administration).

Pour minimiser le risque de fuite pendant l'ensemencement, utiliser des seringues munies d'aiguilles inamovibles ou d'embouts **Luer-Lok** solidement fixés.

La toxicité de ce composé n'a pas été testée. Respecter les méthodes permettant d'éviter toute exposition à ce produit.

Instructions pour la conservation

Conservé les flacons de **BACTEC** NAP à une température comprise entre 2 – 8 °C, à l'abri de la lumière directe du soleil. Ne pas exposer à la chaleur ou à des températures élevées car le NAP est thermolabile.

La date de péremption s'applique aux flacons non entamés, conservés selon les instructions.

PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

Des cultures en phase exponentielle de croissance en **BACTEC** 12B Medium peuvent servir à réaliser le test NAP. La culture à tester doit être pure, exempte de contaminants non mycobactériens.

MODE OPERATOIRE

Matériaux fournis : Dix flacons contenant chacun un disque NAP.

Matériaux requis mais non fournis : Système **BACTEC** 460TB Instrument, milieu **BACTEC** 12B Medium, seringue tuberculinique munie d'une aiguille non amovible, solution désinfectante, tampon imbibé d'alcool, liquide de dilution **BACTEC** Diluting Fluid.

Pour plus d'informations, consulter le manuel d'utilisation du système **BACTEC** 460TB (MA-0029).

Lorsque l'indice de croissance d'un flacon de **BACTEC** 12B Medium est supérieur ou égal à 10, tester quotidiennement le flacon jusqu'à ce que l'indice de croissance se situe entre 50 et 100. Effectuer une coloration de Gram ou un repiquage pour s'assurer que la culture n'est pas contaminée. Homogénéiser la culture à l'aide d'une seringue tuberculinique munie d'une aiguille non amovible et transférer avec cette même seringue 1 mL en conditions aseptiques dans le flacon NAP. Frotter le dessus du flacon NAP et du contrôle (culture d'origine) avec un désinfectant approprié et nettoyer ensuite avec un tampon imbibé d'alcool. Tester immédiatement les deux flacons sur le système **BACTEC** pour purger avec 5 – 10 % de CO₂. Ne pas retenir les mesures. Incuber à 37 °C ± 1 °C ou à température optimale et tester les flacons chaque jour pendant 2 à 6 jours. Consigner les mesures quotidiennes d'indice de croissance du flacon NAP et du flacon d'origine servant de témoin.

Si l'indice de croissance (IC) mesuré est supérieur à 100, diluer la culture comme suit avant d'ensemencer le flacon NAP :

IC de 50 – 100	pas de dilution
IC de 101 – 200	0,8 mL dans un nouveau flacon de BACTEC 12B Medium
IC de 201 – 400	0,6 mL dans un nouveau flacon de BACTEC 12B Medium
IC de 401 – 600	0,4 mL dans un nouveau flacon de BACTEC 12B Medium
IC de 601 – 800	0,3 mL dans un nouveau flacon de BACTEC 12B Medium
IC de 801 – 999	0,2 mL dans un nouveau flacon de BACTEC 12B Medium
IC 999 plus de 1 jour	0,1 mL dans un nouveau flacon de BACTEC 12B Medium

Ne pas laisser la culture atteindre un indice de croissance supérieur à 999. Si la culture est exagérément développée, la repiquer dans un flacon de **BACTEC** 12B Medium, l'incuber et la tester quotidiennement jusqu'à obtention de l'indice de croissance souhaité.

Si le test porte sur une culture en milieu solide, effectuer une suspension en émulsifiant quelques colonies représentatives racées à la surface dans du liquide de dilution **BACTEC** ou de l'eau stérile. Ajuster la turbidité de la suspension à celle d'un standard de turbidité McFarland n° 1. Ensemencer un flacon **BACTEC** 12B Medium avec 0,1 mL de cette suspension. Incuber et tester quotidiennement les cultures sur le système **BACTEC** 460TB Instrument. Lorsque l'indice de croissance se situe entre 50 – 100, suivre la méthode indiquée plus haut.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les contrôles positifs et négatifs suivants doivent être inclus dans chaque lot à tester pour garantir la précision du mode opératoire du test.

<i>M. tuberculosis</i> , H37Rv	ATCC 27294
<i>M. kansasii</i>	ATCC 35775
<i>M. intracellulare</i>	ATCC 13950
<i>M. avium</i>	ATCC 35717

*Pour plus d'informations, consulter le manuel d'utilisation du système **BACTEC** 460TB (MA-0029).

NE PAS UTILISER les flacons au-delà de la date de péremption.

NE PAS UTILISER de flacon fêlé ou défectueux ; éliminer ces flacons conformément aux procédures en vigueur.

Des certificats de contrôle de qualité se trouvent dans chaque trousse NAP Kit. Les certificats de contrôle de qualité identifient les microorganismes de contrôle utilisés pour ce type de produit.

Des flacons témoins (**BACTEC** Performance Test Kit) sont testés sur le système **BACTEC** dans le cadre du programme d'entretien journalier. Si les valeurs mesurées sont basses alors que les flacons témoins ont été testés correctement, il est possible que l'appareil soit en cause (voir la notice d'emploi **BACTEC** PTK [PP-046JAA]).

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

INTERPRETATION DES RESULTATS

On doit observer une augmentation continue de l'indice de croissance du contrôle (flacon de culture d'origine) mesuré quotidiennement. Dans le flacon de test NAP, la variation de l'indice de croissance est fonction des espèces mycobactériennes présentes. Une diminution de l'indice de croissance ou un indice inchangé indique la présence du complexe *Mycobacterium tuberculosis* alors qu'une augmentation de l'indice de croissance indique la présence de bacilles MOTT. Les critères suivants doivent s'appliquer à presque toutes les mycobactéries présentes dans un flacon NAP :

Complexe *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. africanum*)

- deux diminutions consécutives et significatives de l'indice de croissance après ensemencement
- absence d'augmentation ou légère augmentation non significative de l'indice de croissance au cours des deux premiers jours

Bacilles MOTT

- indice de croissance quotidien supérieur à 400 en quatre jours
- absence d'augmentation ou légère diminution lors du premier et jusqu'à trois jours suivant l'ensemencement, puis deux augmentations quotidiennes consécutives et significatives après le jour 2

Une augmentation ou une diminution significative indique une variation d'au moins 20 % d'un jour à l'autre.

LIMITES DE LA PROCEDURE

La distinction du complexe *Mycobacterium tuberculosis* des bacilles du MOTT par le **BACTEC** NAP TB Differentiation Test n'est possible que sur des isolats de cultures pures. Une culture mixte de complexe *Mycobacterium tuberculosis* et de bacilles MOTT produit une augmentation de l'indice de croissance, ce qui indique seulement la présence de bacilles MOTT. Une contamination par des bactéries autres que des mycobactéries peut également se traduire par une augmentation erronée de l'indice de croissance due à la métabolisation du substrat par les contaminants. Inspecter visuellement les flacons de NAP et s'assurer qu'ils ne présentent aucun signe de contamination apparente et/ou de turbidité. En cas d'augmentation de l'indice de croissance, un frottis BAAR réalisé à partir d'un flacon NAP est utile pour confirmer la présence de bacilles MOTT et du complexe *Mycobacterium tuberculosis*, ou de bactéries contaminantes.

Il arrive que des souches de *M. kansasii* soient inhibées par le NAP de sorte que les résultats rapportés peuvent être erronés. La détermination complète des espèces nécessite des tests complémentaires.

En raison de la nature du matériel biologique présent dans les milieux de culture et de la variabilité inhérente aux microorganismes, l'utilisateur doit savoir qu'une variation des résultats est possible lors de la mise en évidence de certains microorganismes.

VALEURS ATTENDUES

Le délai moyen d'obtention des résultats varie de 2 à 6 jours suivant les espèces de mycobactéries. Ne rapporter les résultats que s'ils sont clairement interprétables. Si l'indice de croissance demeure inchangé, attendre au moins 4 jours avant d'interpréter l'identification du complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Le délai moyen de réalisation du test NAP rapporté par différents auteurs est de 4 jours.^{6,7-11}

Les résultats du test NAP doivent être corrélés par les caractéristiques de croissance et de morphologie BAAR sur un frottis avec coloration acido-résistante. Le frottis peut également révéler la présence de cultures mixtes ou de contamination.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Bien que la plupart des tests NAP soient faciles à interpréter, certains tests nécessitent un temps d'incubation prolongé pour obtenir des résultats clairement interprétables. Ceci est particulièrement important lorsque les mycobactéries sont partiellement inhibées par le NAP et montrent une augmentation lente ou retardée de l'indice de croissance ou une phase de latence prolongée en présence de NAP (p. ex., certaines souches de *M. kansasii*, *M. gastri*, *M. szulgai*, *M. terrae* et *M. triviale*). Tous les bacilles MOTT étudiés lors de l'évaluation du test NAP ont présenté une augmentation de l'indice de croissance dans les 5 à 6 jours.^{5,7} Cependant, certaines souches de *M. kansasii* peuvent être anormalement inhibées par le NAP et identifiées de façon erronée avec le test. Seule une

incubation à la température optimale garantit des résultats conformes. Les mycobactéries comme *M. chelonae* et *M. marinum*, qui se développent à une température inférieure à 37 °C, et *M. xenopi*, qui se développe à température plus élevée, risquent de donner des résultats erronés s'ils sont testés à 37 °C. Lorsque la température optimale d'incubation n'est pas connue avec certitude, effectuer le test à plusieurs températures. La sensibilité et la spécificité globales du test estimées lors d'études précédentes étaient de 98 – 99 %.^{7,10}

CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
442103	BACTEC NAP TB Differentiation Kit , 5 µg de NAP par flacon, 10 flacons par carton
442004	BACTEC 12B Medium , 4 mL, 100 par carton

BIBLIOGRAPHIE : voir la section "References" dans la notice en anglais.

BD BACTEC NAP TB Differentiation Test Kit

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Der **BACTEC NAP-Test** zur TB-Differenzierung ist ein Test zur Unterscheidung des *Mycobacterium tuberculosis*-Komplexes von anderen Mykobakterien. Die Fläschchen werden vornehmlich zusammen mit dem **BACTEC 460TB-Gerätesystem** verwendet. Der **BACTEC NAP** (p-Nitro-α-Acetylamino-β-Hydroxypropiophenon)-Test zur TB-Differenzierung wird zur Verwendung mit **BACTEC 12B-Medium** zur schnellen Unterscheidung des TB-Komplexes (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* und *M. microti*) von anderen Mykobakterien als *M. tuberculosis* (MOTT) verwendet. Dieser Test sollte zusammen mit der Bakterienmorphologie auf einem Ausstrich und den Wachstumscharakteristika des **BACTEC 12B-Mediums** verwendet werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Beim **BACTEC 12B-Medium** lässt sich die Koloniemorphologie nicht beobachten, jedoch kann der GI-Wert für bestimmte Mykobakterien charakteristisch sein. *M. tuberculosis* und *M. bovis* zeigen ein langsames Wachstum mit einer 2- bis 3fachen Steigerung des täglichen GI-Wertes, während andere Mykobakterien (MOTT-Bazillen) eine bis zu 10fache tägliche Steigerung zeigen können. Bei Sichtprüfung zeigt das *M. tuberculosis*-Wachstum in **BACTEC 12B-Medium** kleine Flecken oder Klumpen eines klaren Mediums. Andere Mykobakterien wachsen in äußerst kleinen Partikeln und erzeugen eine leichte Trübung im Medium.

Von einem positiven Fläschchen entnommene Abstriche (GI = 100 oder mehr) können einen Hinweis auf die Mykobakterienart geben, die im Medium wächst. Das Vorhandensein von schnurähnlichen Kolonien in Serpentiniform ist charakteristisch für *M. tuberculosis* (*M. bovis* und *M. kansasii* können auch schnurähnliche Kolonien bilden). Andere Mykobakterien haben eine andere charakteristische Morphologie, wie beispielsweise *M. avium*/*M. intracellulare*, die eine Verästelung mit langen Bazillenfäden zeigen.

Der **BACTEC NAP-Test** hilft darüber hinaus bei einer schnellen Differenzierung von *M. tuberculosis*, der wichtigsten Mykobakterienspezies. Dieser Test ist unabhängig vom Niacintest. Eine Probe aktiv wachsender Kultur wird in das **NAP-Fläschchen**, das ein Blättchen mit 5 µg NAP enthält, inokuliert. Das Fläschchen wird zusammen mit der Kontrolle inkubiert und das Wachstum in Gegenwart von NAP wird am **BACTEC 460TB-Gerätesystem** überwacht. Die Analyse der täglichen GI-Werte innerhalb der nächsten 3 – 5 Tage hilft bei der Unterscheidung des TB-Komplexes von anderen Mykobakterien.

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

NAP (p-Nitro-α-Acetylamino-β-Hydroxypropiophenon) – eine intermediäre Verbindung, die bei der Synthese von Chloramphenicol entsteht – hemmt zum TB-Komplex (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* und *M. microti*) gehörende Mikrobakterien fast vollständig, während andere Mykobakterien entweder geringfügig oder nicht gehemmt werden. Wenn mykobakterielles Wachstum in Gegenwart von NAP gehemmt wird, wird die Bildung von ¹⁴CO₂ ebenfalls gehemmt; dies zeigt sich entweder durch Stagnation oder durch eine Senkung des GI-Werts. Dieser Effekt auf den GI-Wert wird als Nachweisinstrument verwendet.

REAGENZIEN

Die Fläschchen des **BACTEC NAP-Kits** enthalten ein Papierblättchen mit folgendem aktiven Bestandteil:

p-Nitro-α-Acetylamino-β-Hydroxypropiophenon 5 µg

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Dieses Produkt enthält Naturkautschuk (getrocknet).

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z. B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut und anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“¹⁻⁴ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten.

Das Fläschchen mit dem **NAP-Differenzierungstest NICHT VERWENDEN**, wenn es offensichtlich kontaminiert oder verfärbt ist bzw. wenn es kein Testblättchen enthält. Feuchtigkeit, besonders nach höheren Temperaturen, führt zu einem schnellen NAP-Verfall.

Aseptische Methoden und anerkannte Verfahren zum Schutz vor mikrobieller Gefährdung müssen zu allen Zeiten befolgt werden.⁵ Stets an einer biologischen Sicherheitswerkbank arbeiten. Jeglichen Kontakt mit dem Blättchen vermeiden. Präparierte Röhren, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach Verwendung im Autoklaven sterilisieren.

Vor Gebrauch muss jedes Fläschchen auf Anzeichen von Beschädigung überprüft werden.

Fläschchen, die Anzeichen von Beschädigungen aufweisen, müssen vor der Inokulation verworfen werden. 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 man das Fläschchen umdreht. Falls das betreffende Fläschchen bereits inokuliert war, muss das ausgelaufene oder verschüttete Medium mit äußerster Vorsicht behandelt werden, da es pathogene Organismen oder Erreger enthalten kann. Vor ihrer Beseitigung müssen alle inokulierten Fläschchen im Autoklaven sterilisiert werden.

Positive Kulturfläschchen zur Subkultivierung oder Färbung: Vor der Probenentnahme muss Gas abgelassen werden, das sich häufig als Folge mikrobiellen Stoffwechsels ansammelt. Aseptische Techniken und anerkannte Verfahren zum Schutz vor mikrobieller Gefährdung müssen zu allen Zeiten befolgt werden. Die Arbeitsschritte müssen an einer geeigneten biologischen Sicherheitswerkbank in einem Raum mit einem entsprechenden Belüftungssystem in Anlehnung an die Empfehlungen der CDC (U.S. Centers for Disease Control and Prevention) durchgeführt werden.⁵ Während der Handhabung von Proben und Kulturen potenziell pathogener Mikroorganismen sollte Schutzkleidung, einschließlich Kittel, Handschuhe und Gesichtsmaske, getragen werden. Befolgen Sie bitte die Empfehlungen der CDC und der OSHA (U.S. Occupational Safety and Health Administration).

Um potenzielle Sickerverluste bei der Inokulation von Proben so weit wie möglich auszuschließen, sollten Spritzen mit fest eingesetzten Kanülen oder mit fest verschlossenem **Luer-Lok**-Kegel verwendet werden.

Die Toxizität dieses Stoffes wurde noch nicht untersucht. Er sollte gemäß den entsprechenden Verfahren verwendet werden, um einen Kontakt zu vermeiden.

Aufbewahrung

BACTEC NAP-Fläschchen sollten im Kühlschrank bei 2 – 8 °C aufbewahrt und nicht direkter Sonneneinstrahlung ausgesetzt werden. Keiner Hitze und keinen hohen Temperaturen aussetzen, da NAP hitzelabil ist.

Das Verfallsdatum bezieht sich auf ungeöffnete Fläschchen, die vorschriftsmäßig gelagert wurden.

PROBENENTNAHME

Aktiv gewachsene Kulturen in **BACTEC** 12B-Medium können zur Durchführung des NAP-Tests verwendet werden. Die Testkultur sollte in Reinkultur vorliegen und keine nichtmykobakterielle Kontamination aufweisen.

VERFAHREN

Mittelgeliefertes Arbeitsmaterial: Zehn Fläschchen mit jeweils einem NAP-Testblättchen.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: **BACTEC** 460TB Instrument, **BACTEC** 12B Medium, Tuberkulinspritze mit fest eingesetzter Kanüle, Desinfektionslösung, mit Alkohol benetztem Tupfer, **BACTEC** Diluting Fluid.

Einzelheiten entnehmen Sie bitte dem Produkt- und Verfahrenshandbuch (MA-0029) für das **BACTEC** 460TB-Gerätesystem.

Wenn ein Fläschchen mit **BACTEC** 12B-Medium einen GI-Wert von 10 oder höher zeigt, das Fläschchen täglich testen, bis der GI-Wert GI 50 – 100 erreicht. Durch Gramfärbung oder Anlegen einer Subkultur sicherstellen, dass die Kultur nicht kontaminiert ist. Die Kultur mit einer Tuberkulinspritze (mit fest eingesetzter Kanüle) homogenisieren und mithilfe derselben Spritze 1 mL antiseptisch in das NAP-Fläschchen transferieren. Den oberen Teil des NAP-Fläschchens und des Kontrollfläschchens (Originalkultur) mit einem entsprechenden Desinfektionsmittel austreichen, dann mit einem mit Alkohol benetzten Tupfer reinigen. Beide Fläschchen sofort auf dem **BACTEC**-Gerät testen und mit 5 – 10 % CO₂ spülen. Die Werte unbeachtet lassen. Bei 37°C ± 1 °C oder bei der optimalen Temperatur inkubieren und während der nächsten 2 – 6 Tage täglich testen. Den täglichen GI-Wert des NAP-Fläschchens und den Originalwert, der zur Kontrolle dient, dokumentieren.

Wenn der GI-Wert mehr als 100 beträgt, muss die Kultur wie folgt verdünnt werden, bevor das NAP-Fläschchen inokuliert wird:

GI 50 – 100	Keine Verdünnung
GI 101 – 200	0,8 mL in ein Fläschchen mit frischem BACTEC 12B-Medium
GI 201 – 400	0,6 mL in ein Fläschchen mit frischem BACTEC 12B-Medium
GI 401 – 600	0,4 mL in ein Fläschchen mit frischem BACTEC 12B-Medium
GI 601 – 800	0,3 mL in ein Fläschchen mit frischem BACTEC 12B-Medium
GI 801 – 999	0,2 mL in ein Fläschchen mit frischem BACTEC 12B-Medium
GI 999 mehr als 1 Tag	0,1 mL in ein Fläschchen mit frischem BACTEC 12B-Medium

Die Kultur nicht über den GI-Spitzenwert (999) wachsen lassen. Wenn eine Kultur überwachsen wird, eine Subkultur in einem Fläschchen mit **BACTEC** 12B-Medium anlegen und täglich testen, bis der gewünschte GI-Wert erreicht ist.

Wenn Wachstum auf einem festen Medium getestet werden soll, eine Suspension durch Abschaben einiger repräsentativer Kolonien und durch Emulgieren dieser Kolonien in einem Röhren mit sterilem Wasser oder **BACTEC**-Verdünnung anlegen. Die Trübheit der Suspension so einstellen, dass sie dem McFarland-Standard Nr. 1 entspricht. 0,1 mL dieser Suspension in ein Fläschchen mit **BACTEC** 12B-Medium inokulieren. Inkubieren und

täglich am **BACTEC** 460TB-Gerätesystem testen. Wenn der GI-Wert 50 – 100 erreicht, das oben beschriebene Verfahren durchführen.

QUALITÄTSKONTROLLE

Folgende positive und negative Kontrollen sollten in jede Testcharge aufgenommen werden, um die Genauigkeit des Testvorgangs zu gewährleisten.

<i>M. tuberculosis</i> , H37Rv	ATCC Nr. 27294
<i>M. kansasii</i>	ATCC Nr. 35775
<i>M. intracellulare</i>	ATCC Nr. 13950
<i>M. avium</i>	ATCC Nr. 35717

*Einzelheiten entnehmen Sie bitte dem Produkt- und Verfahrenshandbuch (MA-0029) für das **BACTEC** 460TB-Gerätesystem.

Die Fläschchen dürfen AUF KEINEN FALL nach dem Verfallsdatum verwendet werden.

Fläschchen, die Sprünge oder Beschädigungen aufweisen, dürfen NICHT VERWENDET werden; Fläschchen ordnungsgemäß entsorgen.

Qualitätskontrollzertifikate werden mit jedem NAP-Kit geliefert. Diese Zertifikate geben die für diese Art von Produkt verwendeten Testorganismen an.

Als Teil des täglichen Wartungsplans sollten Funktionstest-Fläschchen (**BACTEC** Performance Test Kit) auf dem **BACTEC**-Gerät getestet werden. Wenn die Werte niedrig sind, die Funktionstest-Fläschchen jedoch korrekt getestet wurden, kann dies ein Hinweis auf mögliche Gerätestörungen sein (siehe **BACTEC** PTK-Packungsbeilage, PP-046JAA).

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

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Der tägliche GI-Wert der Kontrolle (Original-Kulturfläschchen) wird weiter steigen. Im NAP-Testfläschchen hängt der Anstieg oder Abfall von den Spezies der vorhandenen Mykobakterien ab. Ein fallender oder unveränderter GI-Wert zeigt einen TB-Komplex an, wohingegen ein Anstieg des GI-Werts auf MOTT-Bazillen hindeutet. Folgende Kriterien gelten für fast alle Mykobakterien im NAP-Fläschchen:

TB-Komplex (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. africanum*)

- Zwei aufeinander folgende signifikante Abfälle des GI-Werts nach der Inokulation
- Geringfügiger, jedoch nicht signifikanter Anstieg des GI-Wertes in den ersten beiden Tagen, gefolgt von einem Abfall oder keinem weiteren Anstieg

MOTT-Bazillen

- Der täglich kontrollierte GI-Wert steigt innerhalb von vier Tagen auf über 400
- Ein leichter Abfall oder kein weiterer Anstieg in den ersten ein bis drei Tagen nach der Inokulation und dann zwei aufeinander folgende signifikante Anstiege nach dem zweiten Tag

Ein „signifikanter“ Anstieg oder Abfall ist eine Änderung um 20 % oder mehr von einem Tag zum nächsten.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Die Trennung des TB-Komplexes von MOTT durch den **BACTEC** NAP-Test zur TB-Differenzierung ist nur mit isolierten Reinkulturen möglich. Eine Mischkultur aus TB-Komplex und MOTT-Bazillen wird zu einem Anstieg des GI-Wertes führen, was nur charakteristisch für MOTT-Bazillen ist. Eine Kontamination mit anderen Bakterien als Mykobakterien kann ebenfalls zu einem falschen Anstieg des GI-Wertes führen, wenn der Kontaminant das Nährmedium verwendet. NAP-Fläschchen sollten auf eine offensichtliche Kontamination und/oder Trübung sightgeprüft werden. Bei einem Anstieg des GI-Wertes ist es hilfreich, einen AFB-Abstrich aus dem NAP-Fläschchen zu entnehmen, um das Vorhandensein von MOTT-Bazillen und TB oder kontaminierenden Bakterien zu bestätigen.

Vereinzelte *M. kansasii*-Stämme können durch NAP so weit gehemmt werden, dass die Ergebnisse falsch interpretiert werden können. Eine weitere Bestimmung muss mit anderen Methoden erfolgen.

Der Anwender sollte sich bewusst sein, dass unterschiedliche Ergebnisse beim Nachweis bestimmter Keime auftreten können. Dies ist auf die Natur der in Kulturmedien enthaltenen biologischen Stoffe und auf die natürliche Variabilität von Mikroorganismen zurückzuführen.

ZU ERWARTENDE WERTE

Die Zeit zur Befundung der Ergebnisse variiert zwischen 2 und 6 Tagen, je nach mykobakterieller Spezies. Die Ergebnisse sollten nur befundet werden, wenn ein klarer Verlauf erkennbar ist. Wenn der GI-Wert unverändert bleibt, sollte erst nach 4 Tagen auf einen TB-Komplex geschlossen werden. Es wurde berichtet, dass die durchschnittliche Dauer für den Abschluss des NAP-Tests bei 4 Tagen liegt.^{6,7-11}

Die NAP-Testergebnisse sollten durch die Wachstumscharakteristika und die Morphologie von AFB auf einem säurefesten Ausstrich untermauert werden. Der Ausstrich kann auch das Vorhandensein von Mischkulturen oder von Kontamination anzeigen.

LEISTUNGSMERKMALE

Obgleich sich die meisten NAP-Tests leicht interpretieren lassen, ist für einige Tests eine weitere Inkubationszeit zum Aufzeigen eines eindeutigen Verlaufs erforderlich. Dies ist besonders wichtig bei Mykobakterien, die partiell durch NAP gehemmt werden und einen langsamen oder verzögerten Abfall des GI-Wertes oder eine längere Trägheitsphase in Gegenwart von NAP zeigen (d. h. einige Stämme von *M. kansasii*, *M. gastri*, *M. szulgai*, *M. terrae* und *M. triviale*). Alle während der NAP-Auswertung untersuchten MOTT-Bazillen zeigten einen Anstieg des GI-Wertes innerhalb von 5 – 6 Tagen.^{5,7} Vereinzelte Stämme von *M. kansasii* können jedoch mehr als üblich durch NAP gehemmt sein und somit

durch den Test falsch identifiziert werden. Eine Inkubation bei optimaler Temperatur ist erforderlich, um korrekte Ergebnisse zu erhalten. Mykobakterien wie beispielsweise *M. chelonae* und *M. marinum*, die bei weniger als 37 °C wachsen, sowie *M. xenopi*, die bei einer höheren Temperatur wachsen, können falsche Ergebnisse liefern, wenn sie bei 37 °C getestet werden. Wenn die optimale Inkubationstemperatur nicht sicher festgelegt werden kann, sollte der Test bei mehr als einer Temperatur durchgeführt werden. Bei vorhergehenden Untersuchungen wurde die Gesamttempfindlichkeit und -spezifität auf 98 – 99 % geschätzt.^{7,10}

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

442103 **BACTEC NAP Differentiation Kit**, 5 µg NAP pro Fläschchen, 10 Fläschchen pro Karton

442004 **BACTEC 12B Medium**, 4 mL, 100 pro Karton

LITERATURNACHWEIS: S. "Reference" im englischen Text.

BD BACTEC NAP TB Differentiation Test Kit

Italiano

USO PREVISTO

BACTEC NAP TB Differentiation Test (test di differenziazione **BACTEC NAP TB**) è un test per differenziare il complesso *Mycobacterium tuberculosis* da altri micobatteri, destinato principalmente all'uso con lo strumento **BACTEC 460TB**. L'uso del test di differenziazione **BACTEC NAP** (p-nitro-α-acetilamino-β-idrossi-propiofenone) TB è raccomandato con il terreno **BACTEC 12B** per la differenziazione rapida del complesso TB (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* ed *M. microti*) dai micobatteri non *M. tuberculosis* (MOTT). Questo test deve essere utilizzato contestualmente alla morfologia batterica su striscio e alle caratteristiche di crescita nel terreno **BACTEC 12B**.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Sebbene il terreno **BACTEC 12B** non consenta l'osservazione della morfologia delle colonie, il valore GI può essere caratteristico di determinate specie di micobatteri. *M. tuberculosis* ed *M. bovis* evidenziano una crescita lenta, con un aumento di 2 – 3 volte nel valore GI giornaliero, mentre gli altri micobatteri (bacilli MOTT) possono presentare aumenti giornalieri anche di 10 volte. Visivamente, la crescita di *M. tuberculosis* nel terreno **BACTEC 12B** evidenzia piccoli granuli o grumi in terreno limpido. Gli altri micobatteri crescono in particelle minute e possono conferire una leggera torbidità al terreno.

Gli strisci effettuati da un flacone positivo (GI = pari o superiore a 100) possono fornire un'indicazione del tipo di micobatteri che crescono nel terreno. La presenza di grumi e filamenti spiraliformi è caratteristica di *M. tuberculosis* (*M. bovis* ed *M. kansasii* possono anch'essi formare filamenti spiraliformi). Altri micobatteri hanno qualche altra caratteristica morfologica, come per esempio *M. avium*/*M. intracellulare* che presentano ramificazioni con lunghi filamenti di bacilli.

Il test **BACTEC NAP** facilita inoltre la differenziazione rapida di *M. tuberculosis*, la specie di micobatteri più importante. Questo test è indipendente da quello della niacina. Un campione di coltura in fase di crescita attiva viene inoculato nel flacone **BACTEC NAP** contenente un disco impregnato con 5 µg di NAP. Il flacone viene incubato insieme al controllo e la crescita in presenza di NAP viene monitorata con il sistema **BACTEC 460TB**. L'analisi delle letture del GI giornaliero nei 3 – 5 giorni successivi facilita la differenziazione del complesso TB da altri micobatteri.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il NAP (p-nitro-α-acetilamino-β-idrossi-propiofenone), un composto intermedio nella sintesi del cloramfenicolo, inibisce quasi completamente i micobatteri appartenenti al complesso TB (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* ed *M. microti*), mentre gli altri micobatteri presentano inibizione lieve o assente. Allorché la crescita micobatterica viene inibita in presenza di NAP, l'evoluzione di ¹⁴CO₂ è anch'essa inibita, come indicato dal mancato aumento o dalla diminuzione di GI. Questo effetto sul GI viene usato come strumento di identificazione.

REAGENTI

I flaconi del kit **BACTEC NAP** contengono un disco di carta con i seguenti ingredienti attivi:

p-nitro-α-acetilamino-β-idrossi-propiofenone

5 µg

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 i virus dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue o altri fluidi biologici in conformità alle norme dell'istituto e alle "Precauzioni standard".¹⁻⁴

NON USARE un flacone del test di differenziazione NAP se presenta tracce evidenti di contaminazione, alterazione di colore o non contiene un disco. L'umidità, soprattutto a temperature più elevate, determina un rapido deterioramento del NAP.

Durante tutte le procedure, adottare tecniche asettiche e seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici.⁵ Lavorare sempre in cappa di sicurezza biologica. Evitare qualsiasi contatto con il disco. Dopo l'uso, sterilizzare in autoclave i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

Prima dell'uso, esaminare ciascun flacone per verificare se presenta segni di danni.

Eliminare prima dell'inoculo i flaconi che presentano segni di danni. Raramente può succedere che il collo di un flacone di vetro sia incrinato e si rompa durante la rimozione del tappo o la manipolazione o che un flacone sia stato sigillato in modo insufficiente. In entrambi i casi e in particolar modo al capovolgimento del flacone, possono esservi perdite o fuoriuscite del contenuto. Se il flacone è stato inoculato, trattare la perdita o la fuoriuscita con cautela data la potenziale presenza di agenti/microrganismi patogeni. Sterilizzare in autoclave tutti i flaconi inoculati prima di gettarli.

Flaconi di coltura positivi per subcoltura o colorazione - Prima di prelevare campioni è necessario eliminare il gas eventualmente accumulato a causa del metabolismo microbico. Durante tutte le procedure, adottare tecniche asettiche e seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici. Eseguire le procedure in una cappa di sicurezza biologica appropriata in una stanza con un sistema di ventilazione adeguato in conformità alle raccomandazioni CDC.⁵ Durante la manipolazione di campioni e colture di potenziali patogeni, usare camice, maschera e guanti appropriati. Seguire le raccomandazioni CDC e OSHA.

Per ridurre al minimo potenziali perdite durante l'inoculo, usare siringhe con aghi fissi o punte con raccordo di sicurezza di marca Luer-Lok.

La tossicità di questo composto non è stata studiata. Il suo impiego deve essere associato a procedure appropriate per evitare l'esposizione.

Istruzioni per la conservazione

Refrigerare i flaconi **BACTEC NAP** a 2 – 8 °C al riparo dalla luce solare diretta. Non esporre a calore o temperature elevate in quanto il NAP è termolabile.

La data di scadenza si riferisce al flacone sigillato e conservato come prescritto.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

Per eseguire il test NAP, è possibile usare colture in fase di crescita attiva in terreno **BACTEC 12B**. Le colture per il test devono essere pure e prive di contaminazione non micobatterica.

PROCEDURE

Materiale fornito: Dieci flaconi, ciascuno contenente un disco NAP.

Materiale necessari ma non forniti: Strumento **BACTEC 460TB**, terreno **BACTEC 12B**, siringa per tubercolina con ago fisso, soluzione disinfettante, tampone di alcol, **BACTEC Diluting Fluid**.

Per dettagli, consultare il manuale relativo alla procedura e al sistema **BACTEC 460TB (MA-0029)**.

Quando un flacone di terreno **BACTEC 12B** presenta un GI pari o superiore a 10, testare il flacone ogni giorno finché il GI non raggiunge 50 – 100. Assicurarsi che la coltura non sia contaminata eseguendo una colorazione di Gram o una subcoltura. Omogeneizzare la coltura con una siringa per tubercolina (con ago fisso) e, usando la stessa siringa, trasferire in asepsi 1 mL nel flacone NAP. Disinfettare con un tamponcino la sommità del flacone NAP e del flacone di controllo (coltura originale) usando un disinfettante appropriato, quindi pulire con un tampone di alcol. Testare immediatamente entrambi i flaconi con lo strumento **BACTEC 460TB** per purificare con CO₂ al 5 – 10%. Ignorare le letture. Incubare a 37 °C ± 1 °C o alla temperatura ottimale e testare ogni giorno per i 2 – 6 giorni successivi. Annotare il GI giornaliero del flacone NAP e del flacone della coltura originale che funge da controllo.

Se si riscontra un GI superiore a 100, diluire la coltura come segue prima di inoculare il flacone NAP.

GI 50 -100	nessuna diluizione
GI 101 -200	0,8 mL in un flacone di terreno BACTEC 12B fresco
GI 201 -400	0,6 mL in un flacone di terreno BACTEC 12B fresco
GI 401 -600	0,4 mL in un flacone di terreno BACTEC 12B fresco
GI 601 -800	0,3 mL in un flacone di terreno BACTEC 12B fresco
GI 801 -999	0,2 mL in un flacone di terreno BACTEC 12B fresco
GI 999 più di 1 giorno	0,1 mL in un flacone di terreno BACTEC 12B fresco

Non lasciare crescere la coltura oltre il valore GI massimo (999). Se in una coltura vi è eccessiva crescita, eseguire una subcoltura in un flacone di terreno **BACTEC 12B**, incubare e testare ogni giorno finché non si ottiene il GI desiderato.

Qualora si dovesse testare la crescita su terreno solido, eseguire una sospensione rimuovendo alcune colonie rappresentative ed emulsionandole in una provetta di acqua sterile o di fluido di diluizione **BACTEC**. Correggere la torbidità della sospensione per renderla comparabile allo standard McFarland n. 1. Inoculare 0,1 mL di questa sospensione in un flacone di terreno **BACTEC 12B**. Incubare e testare ogni giorno con lo strumento **BACTEC 460TB**. Non appena il GI raggiunge 50 – 100, seguire la procedura sopra descritta.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Includere controlli positivi e negativi in ogni batch di test per assicurare l'accuratezza della procedura del test.

<i>M. tuberculosis</i> , H37Rv	ATCC n. 27294
<i>M. kansasii</i>	ATCC n. 35775
<i>M. intracellulare</i>	ATCC n. 13950
<i>M. avium</i>	ATCC n. 35717

*Per dettagli, consultare il manuale relativo alla procedura e al sistema **BACTEC 460TB (MA-0029)**.

NON USARE i flaconi oltre la data di scadenza.

NON USARE flaconi che presentano incrinature o difetti; eliminare il flacone in modo appropriato.

Certificati di controllo qualità sono allegati a ogni kit di farmaci NAP. I certificati di controllo di qualità riportano i microrganismi per il test utilizzati per questo tipo di prodotto.

Nell'ambito del programma di manutenzione giornaliera, testare i flaconi per test della performance (kit per test della performance **BACTEC**) con lo strumento **BACTEC**. Se si ottengono letture basse, ma i flaconi per test della performance sono stati testati correttamente, è possibile che vi sia qualche problema allo strumento (vedere il foglietto illustrativo di **BACTEC** PTK, PP-046JAA)

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 in uso nel laboratorio. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione NCCLS in merito.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il GI giornaliero del controllo (flacone di coltura originale) continua ad aumentare. Nel flacone del test NAP, la diminuzione o l'aumento dipende dalla specie di micobatteri presenti. Una diminuzione o l'assenza di variazioni nel GI indica la presenza del complesso TB, mentre un aumento nel GI segnala la presenza di bacilli MOTT. I criteri seguenti si applicano a quasi tutti i micobatteri nel flacone NAP.

Complesso TB (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*)

- Due diminuzioni significative consecutive nel GI dopo l'incolo
- Leggero aumento, ma non significativo, nei primi due giorni e quindi diminuzione o nessun aumento nel GI

Bacilli MOTT

- La lettura del GI giornaliero supera 400 entro quattro giorni
- Leggera diminuzione o nessun aumento da 1 a 3 giorni dopo l'incolo e quindi due aumenti giornalieri significativi consecutivi a partire dal secondo giorno

Per diminuzione o aumento "significativo" si intende una variazione di almeno il 20% da un giorno all'altro.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

La separazione del complesso TB da MOTT mediante il test di differenziazione **BACTEC** NAP TB è possibile soltanto con colture pure isolate. Una coltura mista di complesso TB e bacilli MOTT determina un aumento di GI, indicante soltanto la presenza di bacilli MOTT. La contaminazione con batteri diversi da micobatteri può anch'essa determinare un falso aumento nel GI quando il contaminante utilizza il substrato. Controllare visivamente i flaconi NAP per verificare se presentano tracce evidenti di contaminazione e/o torbidità. Uno striscio di AFB (bacilli acido-alcol resistenti) dal flacone NAP in caso di aumento di GI è utile per confermare la presenza di bacilli MOTT e TB, o batteri contaminanti.

Cepi occasionali di *M. kansasii* possono essere inibiti da NAP in modo da rendere non corretta la refertazione dei risultati. È necessario definire ulteriormente le specie con altre metodiche.

Data la natura dei materiali biologici nei prodotti dei terreni e della variabilità intrinseca dei microrganismi, l'utente deve essere consapevole di potenziali risultati variabili nel recupero di alcuni microrganismi.

VALORI ATTESI

Il tempo necessario per refertare i risultati varia da 2 a 6 giorni a seconda delle specie micobatteriche. Refertare i risultati soltanto quando si ottiene un andamento chiaro. In caso di GI invariato, non interpretare l'identificazione del complesso TB in meno di 4 giorni. È stato documentato che il tempo medio di completamento del test NAP è di 4 giorni.^{6,7-11}

I risultati del test NAP devono essere supportati dalle caratteristiche di crescita e dalla morfologia di AFB su uno striscio colorato con reagente per colorazione acido-resistente. Lo striscio può indicare anche la presenza di colture miste o contaminazione.

PRESTAZIONI METODOLOGICHE

Sebbene la maggior parte dei test NAP sia facile da interpretare, alcuni richiedono tempi di incubazione aggiuntivi per dimostrare un andamento chiaro. Ciò è particolarmente importante nel caso dei micobatteri che sono parzialmente inibiti da NAP ed evidenziano un aumento lento o ritardato nel GI o una fase di ritardo più lunga in presenza di NAP (es. alcuni ceppi di *M. kansasii*, *M. gastri*, *M. szulgai*, *M. terrae* ed *M. triviale*). Tutti i bacilli MOTT studiati nella valutazione NAP hanno dimostrato un aumento nel GI entro 5 – 6 giorni.^{5,7} Cepi occasionali di *M. kansasii* possono tuttavia essere inibiti da NAP in modo superiore al normale ed essere pertanto erroneamente identificati dal test. Per ottenere risultati corretti, è necessario che l'incubazione avvenga alla temperatura ottimale. Micobatteri come *M. chelonae* ed *M. marinum*, che crescono a temperature inferiori a 37 °C ed *M. xenopi*, che cresce a una temperatura superiore, possono fornire risultati errati se testati a 37 °C. Qualora la temperatura ottimale di incubazione non sia certa, eseguire il test a più di una temperatura. In studi precedenti, la sensibilità e la specificità complessive del test sono state stimate pari al 98 – 99%.^{7,10}

DISPONIBILITÀ

N. di cat. Descrizione

- | | |
|--------|---|
| 442103 | BACTEC NAP TB Differentiation Kit, 5 µg di NAP per flacone, 10 flaconi per cartone |
| 442004 | BACTEC 12B Medium, 4 mL, 100 per cartone |

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

BACTEC NAP TB **Differentiation Test Kit**

Português

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O BACTEC NAP TB Differentiation Test (Teste de diferenciação BACTEC NAP TB) é um teste para diferenciar o complexo de *Mycobacterium tuberculosis* de outras micobactérias. A sua utilização principal é com o instrumento do Sistema BACTEC 460TB. O BACTEC NAP (p-nitro- α -acetilamino- β -hidroxi-propiofenona) TB Differentiation Test é recomendado para utilização com o BACTEC 12B Medium, para diferenciação rápida das micobactérias do complexo TB (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* e *M. microti*) de outras micobactérias além do *M. tuberculosis* (MOTT). Este teste deve ser utilizado em conjunto com a morfologia bacteriana em esfregaços e as características de crescimento no BACTEC 12B Medium.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

O BACTEC 12B Medium não permite a observação da morfologia das colónias; no entanto, o resultado do IC pode ser característico para algumas espécies de micobactérias. O *M. tuberculosis* e o *M. bovis* exibem um crescimento lento, com um aumento de 2 a 3 vezes no resultado do IC diário, enquanto que outras micobactérias (bacilos MOTT) podem atingir aumentos diários de até 10 vezes. Visualmente, o *M. tuberculosis* que cresce no BACTEC 12B Medium exibe pequenas manchas ou aglomerados num meio transparente. Outras micobactérias crescem sob a forma de partículas muito pequenas e poderão turvar ligeiramente o meio.

Os esfregaços efectuados a partir de um frasco positivo (IC = 100 ou mais) podem fornecer uma indicação do tipo de micobactérias que está a crescer no meio. A presença de cordões sinuosos e aglomerados é característica de *M. tuberculosis* (o *M. bovis* e o *M. kansasii* também podem formar cordões). Outras micobactérias apresentam outra morfologia característica, tais como o *M. avium*/*M. intracellulare* que exibem ramificações com longas cadeias de bacilos.

O Teste BACTEC NAP auxilia ainda na diferenciação rápida de *M. tuberculosis*, a espécie de micobactérias mais importante. Este teste é independente do teste da niacina. Uma amostra de cultura em crescimento é inoculada num frasco de NAP que contém um disco com 5 μ g de NAP. O frasco, em conjunto com o controlo, é incubado e cultivado na presença de NAP e é monitorizado no instrumento do Sistema BACTEC 460TB. A análise das leituras diárias do IC durante 3 a 5 dias auxilia na diferenciação do complexo TB de outras micobactérias.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O NAP (p-nitro- α -acetilamino- β -hidroxi-propiofenona), um composto intermédio na síntese de cloranfenicol, inibe quase totalmente as micobactérias que pertencem ao complexo TB (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* e *M. microti*), enquanto que outras micobactérias poderão apresentar um crescimento ligeiro ou não serem inibidas. Quando o crescimento das micobactérias é inibido na presença de NAP, a evolução do $^{14}\text{CO}_2$ é igualmente inibida, conforme indicado pela ausência de aumento ou por uma diminuição no IC. Este efeito sobre o IC é utilizado como um instrumento para identificação.

REAGENTES

Os frascos do Kit BACTEC NAP contêm um disco de papel com os seguintes princípios activos:

p-nitro- α -acetilamino- β -hidroxi-propiofenona

5 μ g

Advertências e Precauções

Para diagnóstico *in vitro*.

Este produto contém borraça natural desidratada.

Nas amostras podem existir microorganismos patogénicos, incluindo os vírus das hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue ou outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções padrão"¹⁻⁴ e as linhas de orientação da instituição.

NÃO UTILIZAR um frasco do Teste de Diferenciação NAP se apresentar contaminação óbvia, estiver descorado ou não possuir um disco. A humidade, especialmente a temperaturas mais elevadas, origina a deterioração rápida do NAP.

Utilizar sempre técnicas assépticas e cumprir os procedimentos estabelecidos contra perigos microbiológicos.⁵ Utilizar sempre no interior de uma câmara de segurança biológica. Evitar o contacto com o disco. Após a utilização, os recipientes das amostras e outros materiais contaminados devem ser esterilizados em autoclave.

Antes de ser utilizado, cada frasco deve ser examinado relativamente a danos.

Os frascos que apresentem sinais de danos devem ser eliminados antes da inoculação. Em raras ocasiões, o vidro do frasco poderá estar rachado e o gargalo poderá partir-se durante a remoção da tampa de encaixe ou durante a manipulação. Igualmente, em ocasiões raras, 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. Se o frasco tiver sido inoculado, trate a fuga ou o derrame com cuidado pois podem existir organismos/agentes patogénicos. Antes de eliminar, esterilizar todos os frascos inoculados em autoclave.

Frascos de cultura positivos para repicagem ou coloração: Antes da colheita de amostras, é necessário libertar o gás que se pode ter acumulado devido ao metabolismo microbiano. Utilizar sempre técnicas assépticas e cumprir as precauções estabelecidas contra perigos microbiológicos. Os procedimentos devem ser efectuados numa câmara de segurança biológica adequada, numa sala com sistema de ventilação apropriado, conforme recomendado pelo CDC.⁵ Utilizar bata, máscara e luvas protectoras adequadas quando manusear as amostras e culturas de agentes potencialmente patogénicos. Seguir as recomendações do CDC e OSHA.

Para minimizar a possibilidade de fugas durante a inoculação, utilizar seringas com agulhas fixas ou pontas da marca **Luer-Lok** bem apertadas.

A toxicidade deste composto não foi estudada. A sua utilização deve ser acompanhada por procedimentos apropriados, para evitar a exposição.

Instruções de armazenamento

Os frascos **BACTEC** NAP devem ser refrigerados entre 2 e 8°C, ao abrigo da luz solar directa. Não expor ao calor nem a temperaturas elevadas, uma vez que o NAP é termolábil.

O prazo de validade refere-se ao frasco não aberto e armazenado conforme indicado.

COLHEITA DE AMOSTRAS

Para executar o teste NAP, podem utilizar-se culturas em crescimento no **BACTEC** 12B Medium. A cultura de teste deve ser pura e não estar contaminada com outras bactérias além de micobactérias.

PROCEDIMENTOS

Material fornecido: Dez frascos, cada um contendo um disco de NAP.

Material necessário mas não fornecido: Instrumento **BACTEC** 460TB, **BACTEC** 12B Medium, seringa de tuberculina com agulha fixa, solução desinfectante, zaragatoa com álcool, Líquido de diluição **BACTEC**.

Para obter pormenores, consulte o **BACTEC** 460TB System Product and Procedure Manual (Manual de Procedimentos e Produtos do Sistema **BACTEC** 460TB) (MA-0029).

Quando um frasco de **BACTEC** 12B Medium mostrar um IC igual ou superior a 10, teste o frasco diariamente até o IC atingir um valor entre 50 e 100. Antes de efectuar uma coloração Gram ou uma repicagem, certifique-se de que a cultura não está contaminada. Homogeneize a cultura com uma seringa de tuberculina (com agulha fixa) e, utilizando a mesma seringa, transfira de forma asséptica 1 mL para o frasco de NAP. Com um desinfectante apropriado, limpe o topo do frasco de NAP e do controlo (cultura original) e, em seguida, limpe com uma zaragatoa com álcool. Teste de imediato ambos os frascos no instrumento **BACTEC**, para purgar com CO₂ entre 5 e 10%. Ignore as leituras. Incube a 37°C ± 1°C ou a uma temperatura ótima e teste diariamente, durante os próximos 2 a 6 dias. Registe o IC diário do frasco de NAP e do frasco original que funciona como controlo.

Se o IC for superior a 100, a cultura deve ser diluída conforme indicado abaixo, antes de inocular o frasco de NAP:

IC 50 – 100	nenhuma diluição
IC 101 – 200	0,8 mL para um frasco novo de BACTEC 12B Medium
IC 201 – 400	0,6 mL para um frasco novo de BACTEC 12B Medium
IC 401 – 600	0,4 mL para um frasco novo de BACTEC 12B Medium
IC 601 – 800	0,3 mL para um frasco novo de BACTEC 12B Medium
IC 801 – 999	0,2 mL para um frasco novo de BACTEC 12B Medium
IC 999 mais de 1 dia	0,1 mL para um frasco novo de BACTEC 12B Medium

Não deixe a cultura crescer além do valor de pico do IC (999). Se a cultura crescer excessivamente, efectue a repicagem para um frasco de **BACTEC** 12B Medium, incube e teste diariamente até obter o IC desejado.

Caso pretenda testar uma cultura em meio sólido, faça uma suspensão, raspando algumas colónias representativas e emulsionando-as num tubo de água estéril ou de líquido de diluição **BACTEC**. Ajuste a turvação da suspensão de forma a que seja comparável a um padrão no. 1 de McFarland. Inocule 0,1 mL desta suspensão num frasco de **BACTEC** 12B Medium. Incube e teste diariamente no instrumento do Sistema **BACTEC** 460TB. Quando o IC atingir um valor entre 50 e 100, siga o procedimento descrito abaixo.

CONTROLO DE QUALIDADE

De forma a garantir a exactidão do procedimento do teste, devem ser incluídos os seguintes controlos positivos e negativos com cada lote de testes.

<i>M. tuberculosis</i> , H37Rv	ATCC No. 27294
<i>M. kansasii</i>	ATCC No. 35775
<i>M. intracellulare</i>	ATCC No. 13950
<i>M. avium</i>	ATCC No. 35717

*Para obter pormenores, consulte o **BACTEC** 460TB System Product and Procedure Manual (Manual de Procedimentos e Produtos do Sistema **BACTEC** 460TB) (MA-0029).

NÃO UTILIZAR os frascos que tenham ultrapassado o prazo de validade.

NÃO UTILIZAR os frascos que apresentem rachas ou defeitos; eliminar o frasco de forma apropriada.

Com cada NAP Kit, são fornecidos Certificados do Controlo de Qualidade. Estes certificados apresentam os microrganismos de teste utilizados para este tipo de produto.

Como parte do plano de manutenção diário, devem ser executados no instrumento **BACTEC** frascos de teste do desempenho (**BACTEC** Performance Test Kit). Caso sejam obtidas leituras baixas, mas os Frascos de teste do desempenho tenham apresentado um resultado correcto, poderão existir problemas do instrumento (consulte o folheto informativo do **BACTEC** PTK, PP-046JAA).

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação europeus e/ou nacionais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório. É recomendado que o utilizador consulte as normas do NCCLS e os regulamentos da CLIA que dizem respeito a este assunto, para obter orientações sobre práticas de controlo de qualidade apropriadas.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O IC diário do controlo (frasco de cultura original) continuará a aumentar. No frasco de teste de NAP, o aumento ou a diminuição depende das espécies de micobactérias presentes. Uma diminuição ou ausência de alteração no IC indica a presença de complexo TB, enquanto que um aumento no IC indica bacilos MOTT. No frasco de NAP, os critérios indicados a seguir aplicar-se-ão a quase todas as micobactérias:

Complexo TB (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. africanum*)

- duas diminuições significativas consecutivas no IC após a inoculação
- aumento ligeiro, mas não significativo, nos primeiros dois dias e, em seguida, uma diminuição ou ausência de aumento no IC

Bacilos MOTT

- aumentos das leituras de IC diário até mais de 400, no prazo de quatro dias
- um aumento ligeiro ou nenhum aumento entre o primeiro e o terceiro dia após a inoculação e, em seguida, dois aumentos significativos consecutivos após o segundo dia

Um aumento ou diminuição “significativa” indica uma alteração igual ou superior a 20% dum dia para o outro.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

A separação do complexo TB dos bacilos MOTT pelo Teste de diferenciação BACTEC NAP TB apenas é possível com culturas puras isoladas. Uma cultura mista de micobactérias do complexo TB e de bacilos MOTT resultará num aumento de IC, indicando apenas bacilos MOTT. A contaminação com outras bactérias além de micobactérias pode também resultar num falso aumento no IC quando as bactérias contaminantes utilizarem o substrato. Os frascos de NAP devem ser verificados visualmente relativamente a contaminação óbvia e/ou turvação. No caso de aumento do IC, um esfregaço para AFB a partir do frasco de NAP é útil para confirmar a presença de bacilos MOTT e TB ou de bactérias contaminantes.

Estirpes ocasionais de *M. kansasii* podem ser inibidas pelo NAP, chegando a produzir resultados incorrectos. Uma diferenciação mais aprofundada deve ser efectuada com outros métodos.

Devido à natureza dos materiais biológicos existentes nos produtos dos meios e à variabilidade inerente ao microrganismo, o utilizador deverá estar informado sobre a potencial variação dos resultados no isolamento de determinados microrganismos.

VALORES ESPERADOS

O tempo de apresentação dos resultados varia entre 2 a 6 dias, dependendo das espécies de micobactérias. Os resultados devem ser apresentados apenas quando for conseguida uma tendência clara. Se o IC permanecer inalterado, a identificação de complexo TB não deve ser efectuada antes de 4 dias. O tempo médio para a conclusão do teste NAP foi referido como sendo de 4 dias.^{6,7-11}

Os resultados do teste NAP devem ser apoiados pelas características de crescimento e morfologia de AFB num esfregaço de coloração ácida rápida. O esfregaço também poderá indicar a presença de culturas mistas ou de contaminação.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Apesar de a maior parte dos testes NAP ser fácil de interpretar, alguns testes requerem tempo de incubação adicional de forma a demonstrar uma tendência clara. Este facto é mais importante com as micobactérias que são parcialmente inibidas pelo NAP e apresentam um aumento lento ou retardado do IC, ou uma fase de desfasamento mais prolongada na presença de NAP (p. ex., algumas estirpes de *M. kansasii*, *M. gastri*, *M. szulgai*, *M. terrae* e *M. triviale*). Todos os bacilos MOTT estudados durante a avaliação com NAP demonstrou um aumento no IC no prazo de 5 a 6 dias.^{5,7} Contudo, estirpes ocasionais de *M. kansasii* podem ser inibidas mais do que é habitual pelo NAP, podendo ser identificadas incorrectamente pelo teste. A incubação à temperatura óptima é necessária para obter resultados correctos. Micobactérias tais como o *M. chelonae* e o *M. marinum*, que crescem a temperaturas inferiores a 37°C, e o *M. xenopi*, que cresce a uma temperatura mais elevada, podem fornecer resultados incorrectos se forem testados a 37°C. Nos casos em que não se sabe qual a temperatura de incubação óptima, o teste deve ser efectuada a várias temperaturas. Em estudos anteriores, a sensibilidade e a especificidade globais do teste foram estimadas em 98 a 99%.^{7,10}

APRESENTAÇÃO

No. de Cat. Descrição

442103	BACTEC NAP TB Differentiation Kit, 5 µg de NAP por frasco, 10 frascos por caixa
442004	BACTEC 12B Medium, 4 mL, 100 por caixa

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 10033430292

Centro de Relacionamento com o Cliente: 0800 0555 654

BD BACTEC NAP TB **Differentiation Test Kit**

Español

USO PREVISTO

BACTEC NAP TB Differentiation Test (prueba de diferenciación **BACTEC NAP TB**) es una prueba para diferenciar el complejo *Mycobacterium tuberculosis* de otras micobacterias. Se utiliza principalmente con el instrumento **BACTEC 460TB**. **BACTEC NAP** (p-nitro- α -acetilamino- β -hydroxy-propiofenone) TB Differentiation Test (prueba de diferenciación **BACTEC NAP** (p-nitro- α -acetilamino- β -hidroxi-propiofenona) TB) se recomienda para uso con el medio **BACTEC 12B** para la diferenciación rápida del complejo TB (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* y *M. microti*) de micobacterias diferentes de *M. tuberculosis* (MOTT). Esta prueba debe utilizarse en conjunto con los datos de morfología bacteriana a partir de las características de crecimiento y de frotis en **BACTEC 12B Medium**.

RESUMEN Y EXPLICACION

El medio **BACTEC 12B** no permite la observación de la morfología de las colonias. Sin embargo, el índice de crecimiento puede ser característico de ciertas especies de micobacterias. *M. tuberculosis* y *M. bovis* presentan crecimiento lento, con un incremento de 2 a 3 veces en el índice de crecimiento diario mientras que otras micobacterias (bacilos MOTT) pueden mostrar incrementos diarios de hasta 10 veces. A simple vista, el crecimiento de *M. tuberculosis* en el medio **BACTEC 12B** muestra pequeñas motas o grumos en un medio transparente. Otras micobacterias crecen en partículas muy pequeñas y pueden producir una turbidez leve en el medio.

Los frotis realizados de un frasco positivo (GI = 100 o más) pueden dar una indicación del tipo de micobacterias que crece en el medio. La presencia de espirales y grumos es una característica de *M. tuberculosis* (*M. bovis* y *M. kansasii* también pueden presentar formas de cuerda). Otras micobacterias tienen otra morfología característica tal como *M. avium*/M. *intracellulare*, que presentan ramificaciones con largos filamentos de bacilos.

BACTEC NAP Test favorece la diferenciación rápida de *M. tuberculosis*, la especie más importante de micobacterias. Esta prueba es independiente de la prueba de niacina. Una muestra de cultivo con crecimiento activo se inocula en el frasco con **NAP** que contiene un disco 5 μ g de **NAP**. Se incuba el frasco, junto con el control, y se controla el crecimiento en presencia de **NAP** en el instrumento de sistema **BACTEC 460TB**. El análisis de las lecturas de índice de crecimiento diario dentro de los siguientes 3 – 5 días ayuda en la diferenciación del complejo TB de otras micobacterias.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

NAP (p-nitro- α -acetilamino- β -hydroxy-propiofenone), un compuesto intermedio en la síntesis de cloranfenicol, inhibe las micobacterias pertenecientes al complejo TB (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* y *M. microti*) casi completamente, mientras que otras micobacterias muestran una inhibición leve o nula. Cuando se inhibe el crecimiento micobacteriano en presencia de **NAP**, también se inhibe la evolución de $^{14}\text{CO}_2$ como se indica por la falta de incremento o una reducción en el índice de crecimiento. Este efecto en el índice de crecimiento se utiliza como herramienta para la identificación.

REACTIVOS

Los frascos del equipo **BACTEC NAP** contienen un disco de papel con los siguientes ingredientes activos:

p-nitro- α -acetilamino- β -hydroxy-propiofenone 5 μ g

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 elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"¹⁻⁴ y las directrices del centro.

NO UTILIZAR un frasco de prueba de diferenciación **NAP** si presenta una contaminación o decoloración evidentes, o bien si no contiene un disco. La humedad, en especial a temperaturas más altas, causa un deterioro rápido de **NAP**.

En todo momento deben seguirse las técnicas asepticas y los procedimientos establecidos contra riesgos microbiológicos⁵. Utilizar siempre el producto dentro de un gabinete de seguridad biológica. Evitar el contacto con el disco. Después de su utilización, los recipientes de prueba y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave.

Se debe examinar cada frasco antes de usarlo para ver si presenta indicios de daño.

Los frascos que muestren indicios de daño deben desecharse antes de su inoculación. En raras ocasiones, el cuello del frasco 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. Si se ha inoculado el frasco, se extremarán las precauciones al tratar la fuga o el derrame, ya que pueden existir organismos o agentes patógenos. Todos los frascos inoculados deben esterilizarse en autoclave antes de desecharse.

Frascos de cultivo positivo para subcultivo o para tinción: Antes de tomar una muestra de los frascos es necesario liberar el gas que puede haberse generado debido al metabolismo microbiano. En todo momento deben seguirse las técnicas asepticas y los procedimientos establecidos contra riesgos microbiológicos. Los procedimientos deben realizarse en una cabina de seguridad biológica adecuada en una habitación con un sistema de ventilación adecuado conforme a las recomendaciones de los CDC (U.S. Centers for Disease Control and Prevention).⁵ Utilizar una bata, máscara y guantes protectores adecuados al manipular las muestras y los cultivos de posibles agentes patógenos. Seguir las recomendaciones de los CDC y OSHA (U.S. Occupational Health and Safety Administration).

Para reducir a un mínimo la posibilidad de fugas durante la inoculación, usar jeringas de aguja fija o puntas **Luer-Lok** fijadas firmemente.

No se ha estudiado la toxicidad de este compuesto. Se deben realizar los procedimientos adecuados durante su uso con el fin de evitar la exposición al producto.

Instrucciones para el almacenamiento

Los frascos de **BACTEC** NAP deben mantenerse refrigerados a 2 – 8 °C protegidos de la luz solar directa. No exponer al calor ni a altas temperaturas ya que NAP es termolábil.

La fecha de caducidad corresponde a los frascos sin abrir almacenados según las indicaciones.

EXTRACCION DE MUESTRAS

Los cultivos de crecimiento activo en el medio **BACTEC** 12B pueden utilizarse para realizar la prueba NAP. El cultivo de prueba debe ser puro y libre de contaminación micobacteriana.

PROCEDIMIENTOS

Materiales suministrados: Diez frascos, cada uno con un disco de NAP.

Materiales necesarios pero no suministrados: Instrumento **BACTEC** 460TB, **BACTEC** 12B Medium, jeringa de tuberculina con aguja fija, solución desinfectante, torunda con alcohol, líquido diluyente **BACTEC**.

Para más detalles, consultar el Manual de productos y procedimientos del sistema **BACTEC** 460TB (MA-0029).

Cuando un frasco de medio **BACTEC** 12B muestre un índice de crecimiento de 10 o más, realizar la prueba del frasco diariamente hasta que el índice de crecimiento llegue a 50 – 100. Asegurarse de que el cultivo no esté contaminado, realizando una tinción de Gram o subcultivo. Homogeneizar el cultivo con una jeringa de tuberculina (con una jeringa de aguja fija) y, con la misma jeringa, transferir asépticamente 1 mL del frasco NAP. Limpiar la parte superior del frasco NAP y del frasco de control (cultivo original) con un desinfectante adecuado, seguido de la limpieza con una torunda con alcohol. Analizar ambos frascos en el instrumento **BACTEC** de inmediato para purgar con CO₂ al 5 – 10%. Desestimar las lecturas. Incubar a 37 °C ± 1 °C o a la temperatura óptima y realizar la prueba diariamente durante los siguientes 2 – 6 días. Registrar el índice de crecimiento diario del frasco de NAP y el frasco original que actúa como control.

Si el índice de crecimiento es mayor que 100, el cultivo debe diluirse de la manera siguiente antes de inocular el frasco de NAP:

GI 50 – 100	Sin diluir
GI 101 – 200	0,8 mL en un frasco de BACTEC 12B Medium
GI 201 – 400	0,6 mL en un frasco de BACTEC 12B Medium
GI 401 – 600	0,4 mL en un frasco de BACTEC 12B Medium
GI 601 – 800	0,3 mL en un frasco de BACTEC 12B Medium
GI 801 – 999	0,2 mL en un frasco de BACTEC 12B Medium
GI 999 más de 1 día	0,1 mL en un frasco de BACTEC 12B Medium

No permitir que el cultivo crezca más que el valor de índice de crecimiento máximo (999). Si un cultivo crece excesivamente, subcultivar en un frasco de **BACTEC** 12B Medium, incubar y analizar diariamente hasta que se obtenga el índice de crecimiento deseado.

Si ha de analizarse el crecimiento en un medio sólido, realizar una suspensión extrayendo algunas colonias representativas y emulsionándolas en un tubo de agua estéril o líquido diluyente **BACTEC**. Ajustar la turbidez de la suspensión de manera que sea comparable al patrón N° 1 de McFarland. Inocular 0,1 mL de esta suspensión en un frasco de **BACTEC** 12B Medium. Incubar y analizar el frasco diariamente en el instrumento **BACTEC** 460TB. Una vez que el índice de crecimiento llegue a 50 – 100, seguir el procedimiento descrito anteriormente.

CONTROL DE CALIDAD

Los siguientes controles positivos y negativos, deben incluirse en cada lote de análisis para asegurar la exactitud del procedimiento de prueba.

<i>M. tuberculosis</i> , H37Rv	ATCC N° 27294
<i>M. kansasii</i>	ATCC N° 35775
<i>M. intracellulare</i>	ATCC N° 13950
<i>M. avium</i>	ATCC N° 35717

*Para más detalles, consultar el manual de producto y procedimientos del sistema **BACTEC** 460TB (MA-0029).

NO UTILIZAR los frascos después de la fecha de caducidad.

NO UTILIZAR los frascos que presenten indicios de rotura o defectos; desechar el frasco de forma apropiada.

En cada equipo de NAP se incluyen certificados de control de calidad. En los certificados de control de calidad aparecen los organismos de prueba utilizados para este tipo de producto.

Como parte del programa diario de mantenimiento, los frascos para pruebas de rendimiento (equipo **BACTEC** para pruebas de rendimiento) deben analizarse en el instrumento **BACTEC**. Si se obtienen lecturas bajas a pesar de haber analizado los frascos para la prueba de rendimiento apropiadamente, esto podría ser indicio de alguna anomalía en el instrumento (consultar el prospecto PP-046JAA incluido en el paquete **BACTEC** PTK).

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.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

El índice de crecimiento diario del control (frasco de cultivo original), seguirá incrementándose. En el frasco de prueba NAP, la reducción o el incremento dependen de la especie de micobacterias presente. Una reducción o falta de cambio en el índice de crecimiento indica un complejo TB, mientras que un incremento en el índice de crecimiento indica bacilos MOTT. Los siguientes criterios deben aplicarse a casi todas las micobacterias en el frasco NAP:

Complejo TB (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. africanum*)

- Dos reducciones consecutivas significativas en el índice de crecimiento después de la inoculación.
- Un incremento leve, pero no significativo, en los primeros dos días y luego una reducción o falta de incremento en el índice de crecimiento.

Bacilos MOTT

- La lectura de índice de crecimiento diario aumenta a más de 400 dentro de los cuatro días.
- Una leve reducción o falta de incremento entre 1 – 3 días después de la inoculación y luego dos aumentos significativos diarios después del segundo día.

Un aumento o reducción “significativo” significa un cambio de 20% o más de un día al otro.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Es posible realizar una separación del complejo TB de MOTT mediante BACTEC NAP TB Differentiation Test con cultivos puros aislados solamente. Un cultivo mixto de complejo TB y bacilos MOTT será el resultado de un incremento de índice de crecimiento, lo que indica bacilos MOTT solamente. La contaminación con bacterias diferentes de las micobacterias, también pueden dar como resultado un aumento falso en el índice de crecimiento cuando el contaminante utiliza el sustrato. Los frascos NAP deben comprobarse visualmente para determinar si presentan contaminación y/o turbidez evidentes. Un frotis para AFB realizado en el frasco NAP en caso de un incremento de índice de crecimiento es un procedimiento útil para confirmar la presencia de bacilos MOTT y TB, o bien bacterias contaminantes.

En ocasiones, cepas de *M. kansasii* pueden ser inhibidas por NAP al grado en que los resultados pueden informarse incorrectamente. Se pueden utilizar otros productos para realizar una determinación de especie posteriormente. Debido a la naturaleza de los materiales biológicos contenidos en los medios y a la variabilidad inherente de los organismos, el usuario debe tener en cuenta que podrían obtenerse resultados variables en la recuperación de ciertos organismos.

VALORES PREVISTOS

El tiempo de notificación de los resultados varía entre 2 y 6 días, según la especie micobacteriana. Los resultados deben notificarse sólo cuando se logre una tendencia definida. Si no se registra cambio en el índice de crecimiento, la identificación en el complejo TB no debe interpretarse en menos de 4 días. El tiempo promedio para completar la prueba NAP se ha determinado en 4 días^{6,7-11}.

Los resultados de la prueba NAP deben respaldarse con las características de crecimiento y morfología de AFB mediante un frotis con tinción de acidorresistente. El frotis también podría indicar la presencia de cultivos mixtos o contaminación.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Aunque la mayoría de las pruebas NAP son fáciles de interpretar, algunas pruebas requieren un tiempo de incubación adicional para demostrar una tendencia definida. Esto es más importante en el caso de las micobacterias y que muestran un aumento lento o demorado en el índice de crecimiento o una fase de demora más prolongada en presencia de NAP (por ejemplo, algunas cepas de *M. kansasii*, *M. gastri*, *M. szulgai*, *M. terrae*, y *M. triviale*). Todos los bacilos MOTT estudiados durante la evaluación de NAP demostraron un índice de crecimiento dentro de los 5 – 6 días^{5,7}. Sin embargo, de vez en cuando, las cepas de *M. kansasii* pueden ser inhibidas por NAP más de lo usual, y podrían identificarse incorrectamente con la prueba. Es necesaria la incubación a temperatura óptima con el fin de obtener resultados correctos. Las micobacterias tales como *M. chelonae* y *M. marinum*, que crecen a una temperatura inferior a 37 °C, y *M. xenopi* que crece a una temperatura superior, pueden dar resultados incorrectos si se analizan a una temperatura de 37 °C. En los casos en que la temperatura de incubación óptima no sea segura, la prueba debe realizarse a varias temperaturas. En estudios anteriores, la sensibilidad y especificidad generales de la prueba se calcularon en 98 – 99%^{7,10}.

DISPONIBILIDAD

Nº de cat. Descripción

442103 BACTEC NAP TB Differentiation Kit, 5 µg de NAP por frasco, 10 frascos por caja

442004 BACTEC 12B Medium, 4 mL, 100 por caja

BIBLIOGRAFIA: Vedr “References” en el texto en inglés.



Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Vyrobca / Tillverkare / Производител / Producător / Üretici / Proizvodač / Производитель / Атқарушы



Use by / Spotřebujte do / Anvendes for / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwenden bis / Ψυπομηλία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes for / Stosować do / Utilizar em / Použite do / Usar antes de / Använd före / Используйте до / A se utiliza până la / Son kullanna tarihi / Upotrebiti do / Использовать до / дейін пайдалануға / Upotrijebiti do /

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 = mēnesis pabaiga) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /
 aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden) /
 ГГГГ-MM-ДД / ГГГГ-MM (MM = 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-MM-ДД / ГГГГ-MM (MM = конец месяца) /
 ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА (АА = айдың соңы) /
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca) /



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



Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatus esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπροσωπός στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliojasis 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 / Autoriserad representant i EU / Оторизирани представител в EU / Representant autorizat în Uniunea Europeană / Автура Топлулугу Yetkili Temsilcisi / Ovlašteni predstavnik u Evropskoj zajednici / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европа қауымдастығындағы уәкілетті екіл / Autorizirani 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 meditsiiniparatuur / Lääkinäällinen in vitro -diagnostikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinische 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 / 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-Diagnostik Tibbi Cihaz / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Жасанды жерғайда жүргізілетін медициналық диагностика аспабы / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku



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



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) / 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) / Топтама коды / Lot (kod)



Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebruiksaanwijzing 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, MD 21152 USA
800-638-8663
www.bd.com/ds



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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo, BACTEC and Luer-Lok are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2010 BD.