

BacT/ALERT® MB

43-02494



DENOTES REVISED SECTION

Store BacT/ALERT® MB culture bottles and MB/BacT® Enrichment Fluid between 15-30°C. Protect from direct sunlight.

See symbol glossary at end of insert.

INTENDED USE

BacT/ALERT MB culture bottles with the addition of MB/BacT Enrichment Fluid, when used with the MB/BacT® Mycobacteria Detection System (non-shaking) and the BacT/ALERT® Microbial Detection System (shaking), is a non-selective culture medium for the qualitative culture and recovery of mycobacteria from blood specimens.

SUMMARY AND EXPLANATION

BacT/ALERT MB culture bottles in combination with the MB/BacT Enrichment Fluid are designed for the cultivation of *Mycobacterium* sp. commonly isolated from blood. The medium will support growth of other aerobic organisms, including yeast, fungi, and bacteria. This complete system includes a lytic agent (Saponin), Sodium polyanethanesulfonate (SPS) and other media supplements which eliminate the processing step, prevent clotting of blood, and enhance the growth of mycobacteria. A 3 ml-5 ml volume of blood can be inoculated directly into the culture bottle. Inoculated bottles are placed into the instrument where they are incubated (35°C-37°C) and continuously monitored for microbial growth.

PRINCIPLE OF THE TEST

The MB/BacT Mycobacteria Detection System and the BacT/ALERT Microbial Detection Systems utilize a colorimetric sensor and reflected light to monitor the presence and production of carbon dioxide (CO₂) dissolved in the culture medium.¹ If microorganisms are present in the test sample, carbon dioxide is produced as the organisms metabolize the substrates in the culture medium. When growth of the microorganisms produces CO₂, the color of the gas-permeable sensor installed in the bottom of each culture bottle changes from blue-green to yellow. The lighter color results in an increase in reflectance units as monitored by the system. Bottle reflectance is monitored and recorded by the instrument every 10 minutes.

REAGENTS

For *in vitro* diagnostic use.

WARNING: To reduce the risks of accidental exposure to infectious agents, additional precautions should be taken when using the BacT/ALERT MB culture bottle in the BacT/ALERT Microbial Detection System. It is strongly recommended that the instrument be placed in a laboratory used for the routine culture of *M. tuberculosis*. For activities involving the propagation and manipulation of *M. tuberculosis* or *Mycobacterium* sp. grown in culture, Biosafety Level 3 Practices, containment equipment, and facilities are recommended.²

CAUTION: Handle specimens and inoculated culture bottles as though capable of transmitting infectious agents. All inoculated culture bottles, specimen collection needles, and blood-drawing devices should be decontaminated according to your institution's procedures.³

BacT/ALERT® MB

BacT/ALERT MB (color-coded black) – BacT/ALERT MB sterile, disposable culture bottles contain 29 ml of media and an internal sensor that detects carbon dioxide as an indicator of microbial growth. The media formulation consists of Middlebrook 7H9 Broth (0.47% w/v), Pancreatic Digest of Casein (0.1% w/v), Glycerol (1.0% w/v), Sodium polyanethanesulfonate (0.025% w/v), in purified water. Bottles contain an atmosphere of CO₂ in oxygen and nitrogen under vacuum. The composition of the media may be adjusted to meet specific performance requirements.

CAUTION: BacT/ALERT MB culture bottles are incubated at 37°C which potentially precludes the recovery of mycobacteria requiring other incubation temperatures (e.g. *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). The following isolates were detected as positive in the MB/BacT instrument (non-shaking) and in the BacT/ALERT instrument (shaking), with the BacT/ALERT MB culture bottle during internal studies; *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. bovis*, *M. goodii*, and *M. simiae*.

CAUTION: It is possible that certain rare, fastidious mycobacteria will not grow or may grow slowly in the BacT/ALERT MB culture bottle growth medium. If rare, fastidious mycobacteria requiring specialized media and culture conditions are suspected, alternative methods or extended incubation time, should be considered for recovery.

CAUTION: On rare occasions organisms may be encountered that grow in the BacT/ALERT MB culture bottle growth medium but do not produce sufficient carbon dioxide to be determined positive. For example, samples from patients undergoing treatment with antimycobacterial agents may show impaired growth.

MB/BacT® Enrichment Fluid

MB/BacT Enrichment Fluid vials contain a total fill volume of 5.5 ml each. MB/BacT Enrichment Fluid consists of Bovine Serum Albumin (14.5% w/v), Sodium Chloride (2.5% w/v), Oleic Acid (0.174% w/v), Saponin (4.4% w/v), in purified water.

Additional materials required

MB/BacT Mycobacteria Detection System or BacT/ALERT Microbial Detection System
Middlebrook 7H11 or other mycobacterial agar or egg-base medium

CO₂ incubator, 37°C ± 2°C

Sterile syringes and needles

Mycobactericidal disinfectant

Blood drawing apparatus

Biological safety cabinet

Sterile, disposable gloves

Disposable gowns

Disposable masks

Appropriate biohazard waste containers for materials potentially contaminated with infectious agents

Quality Control organisms

Materials available from bioMérieux

MB/BacT Mycobacteria Detection System and BacT/ALERT Microbial Detection Systems

Storage instructions

Store BacT/ALERT MB culture bottles and MB/BacT Enrichment Fluid at room temperature (15-30°C). Protect from direct sunlight. An expiration date is printed on each bottle label. Do not use the BacT/ALERT MB culture bottles or the Enrichment Fluid vials beyond the last day of the month indicated. Bottles must be at room temperature before use.

INSTRUMENTS

Review the appropriate BacT/ALERT Microbial Detection System User Manual before use.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Correct specimen collection is extremely important when obtaining blood culture specimens. Refer to Manual of Clinical Microbiology³ for proper specimen collection and transport procedures. Proper skin disinfection is an essential requirement to reduce the incidence of contamination.

bioMérieux recommends that inoculated culture bottles be placed into the BacT/ALERT Microbial Detection System as soon as possible after collection. Inoculated culture bottles delayed in entry should be maintained at room temperature until they can be loaded into the incubator.

BacT/ALERT MB CULTURE BOTTLE TEST PROCEDURE

Preliminary comments and precautions

- POTENTIAL INFECTIOUS TEST SPECIMEN. Observe Universal Precautions in handling and disposing of infectious materials. Handle specimens and inoculated cultures as though capable of transmitting infectious agents.
- To minimize the potential of leakage during inoculation of specimen into culture bottles, use syringes with fixed needles.
- All inoculated culture bottles, specimen collection needles, and blood-drawing devices should be decontaminated according to your institution's procedures.³
- Always carry inoculated culture bottles in a rack or basket. In case of a spill or breakage, an aerosol of mycobacteria (including *M. tuberculosis*) or other bacteria may be produced. Follow the safety guidelines for your institution and the CDC/NIH.² With the emergence of human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome, mycobacteremia caused by *M. tuberculosis* has occurred more frequently and blood is now considered a potential source of transmission in the laboratory.²

- Manipulation of *M. tuberculosis* complex organisms grown in culture requires Biosafety Level 3 practices, containment equipment, and facilities.²
- Take care to prevent contamination during bottle preparation, collection of the patient sample, and inoculation of the patient sample into the BacT/ALERT MB culture bottle.
- MB/BacT Enrichment Fluid contains components which are necessary to ensure optimal growth of mycobacteria and contains a lytic agent for blood cell lysis. This product must be added to all BacT/ALERT MB culture bottles.
- MB/BacT Enrichment Fluid may be added up to 24 hours before or after inoculation of the bottle with the blood specimen. If the Enrichment Fluid is added after inoculation of blood, it must be added using appropriate Biosafety Level 3 practices.²
- These culture bottles should be utilized only by trained laboratory personnel.

Bottle preparation

NOTE: Take care to prevent contamination during both bottle preparation and inoculation of the patient sample.

Prior to use, the BacT/ALERT MB culture bottles should be examined for evidence of damage or deterioration (discoloration). Bottles exhibiting evidence of damage, leakage, or deterioration should be discarded. The media in undisturbed bottles should be clear. Do not use a bottle which contains media exhibiting turbidity, a yellow sensor, or excess gas pressure; these are signs of possible contamination. Also inspect all MB/BacT Enrichment Fluid vials for evidence of damage or contamination. Do not use MB/BacT Enrichment Fluid vials exhibiting turbidity.

- Label the culture bottle with patient information. The icons on the bottle label (⊙, #, ⊕) can be defined by the user.
- Remove plastic flip-top from culture bottle and disinfect with an alcohol swab or equivalent. Allow to air dry.
- Enrichment Fluid is provided separately and must be added to the blood culture bottle for growth of mycobacteria. This addition can be done within 24 hours of specimen inoculation, or if specimen inoculation is carried out at bedside, Enrichment Fluid can be added after receiving the inoculated vials in the laboratory.
 - Remove the plastic flip-top from the Enrichment Fluid vial and disinfect with an alcohol swab or equivalent. Allow to air dry.
 - Aseptically add 1 ml of Enrichment Fluid to each BacT/ALERT MB culture bottle.
 - Employ careful, aseptic technique to avoid contamination of the Enrichment Fluid and medium in the culture bottle.

NOTE: If the Enrichment Fluid is added following inoculation of the blood specimen, then this step must be performed in a biological safety cabinet while wearing appropriate protective clothing to comply with safety standards set forth by CDC/NIH for Biosafety Level 3 guidelines.² To avoid cross contamination, use a new syringe for each bottle containing blood.

Direct draw inoculation procedure

- Prior to inoculation, disinfect the BacT/ALERT MB culture bottle top with an alcohol swab or equivalent. Allow to air dry.
- Collect the blood using a butterfly set and the BacT/ALERT Blood Collection Adapter Cap and inoculate directly into the BacT/ALERT MB culture bottle at the patient's bedside (3-5 ml per bottle). To prevent overinoculation, monitor the blood volume intake into the culture bottle, using the 5 ml incremental markings on the bottle label.
- After inoculation, swab bottle tops with gauze soaked in 2% Amphil® or other mycobactericidal agent and allow to air dry.
- Transfer the inoculated culture bottle promptly to the testing laboratory.

Blood collection tube inoculation procedure

- Blood may also be collected in a sterile SPS or heparinized tube and inoculated into the BacT/ALERT MB culture bottle in the laboratory. No prior processing of the specimen is required. Blood collected in EDTA is unacceptable since EDTA inhibits mycobacterial growth even in trace amounts.
- Disinfect the blood collection tube top and the BacT/ALERT MB culture bottle top with an alcohol swab or equivalent. Allow the septa to air dry prior to inoculation of the blood specimen.
- Using aseptic technique, remove 3-5 mls from the collection tube with a sterile syringe and inoculate into the culture bottle.
- After inoculation, swab bottle tops with gauze soaked in 2% Amphil® or other mycobactericidal agent and allow to air dry.

INCUBATION AND MONITORING

CAUTION: General caution should be taken when subculturing positive culture bottles as they could have been overfilled or contain high gas-producing organisms. Positive culture bottles contents may be under increased internal pressure. Positive culture bottles should be transiently vented before staining or disposal to release any gas produced during microbial metabolism.

- Load inoculated BacT/ALERT MB culture bottles into the MB/BacT Mycobacteria Detection System (non-shaking) or the BacT/ALERT Microbial Detection System (shaking), following the instructions provided in the User Manual.
- After BacT/ALERT MB culture bottles are loaded into the instrument, they should remain there for at least 42 days or until designated positive.

The following procedures require the use of Biosafety Level 3 practices, containment equipment and facilities.²

- When the instrument indicates that a particular cell contains a positive bottle, remove the bottle according to procedures provided in the User's Manual.
- All bottles designated positive should be smeared and subcultured for acid-fast bacilli. In a biological safety cabinet, mix bottle contents, disinfect the bottle stopper with an alcohol swab or equivalent, and allow to air dry. Remove specimen for acid-fast staining and subculture using a syringe and needle. Disinfect bottle stopper with mycobactericidal agent after subculture. If the acid-fast smear is positive, proceed with the Mycobacteria specific identification procedures employed by your institution. If the smear is negative for acid-fast bacilli, but reveals the presence of other microorganisms, a Gram stain should be performed. If both the acid-fast smear and the Gram stain are negative, indicating a possible false positive, the bottle should be reloaded into the instrument until growth of subculture or redesignation as positive or negative. Cultures which were initially determined false positive and were redesignated positive should be smeared and subcultured.
- If non-mycobacterial organisms are seen on the Gram stain, obtain another specimen for culture, if desired. The possibility of bacterial septicemia should also be considered.
- Negative cultures may be checked by smear and/or subcultured at some point prior to discarding as negative.
- Do not reuse BacT/ALERT culture bottles.** Dispose of inoculated BacT/ALERT culture bottles according to your laboratory protocol. Autoclaving and/or incinerating inoculated BacT/ALERT bottles is appropriate.²

REPORTING RESULTS

Results	Report
Signal +, AFB Smear +	AFB positive; identification pending
Signal +, AFB Smear -, Gram Stain +	No report; or specimen contaminated with non-mycobacterial organisms; unable to determine presence/absence of AFB
Signal +, AFB Smear -, Gram Stain -	No report. Subculture to determine possible false positive

QUALITY CONTROL

A Certificate of Conformance is provided with each case of BacT/ALERT MB culture bottles indicating satisfactory growth performance of *M. avium* ATCC 25291 and *M. intracellulare* ATCC 13950. Upon receipt, new lots or shipments of BacT/ALERT MB culture bottles or reagents may be tested for quality control. Refer to CLSI/NCCLS M22-A3 for appropriate Quality Control organisms. Follow the Bottle preparation and inoculation procedure:

- Add 1.0 ml MB/BacT Enrichment Fluid to each BacT/ALERT MB culture bottle required for testing.
- Inoculate representative bottles with 5.0 ml of the control organisms, diluted to 10³ CFU/ml in sterile, defibrinated sheep blood. Subculture on Middlebrook 7H11 plates to determine viability and count.
- After obtaining anticipated results, use remaining bottles for testing clinical specimens. If expected results are not obtained, contact bioMérieux Customer Service.

LIMITATIONS OF THE TEST

Many variables involved in mycobacterial testing cannot be practically controlled to provide total confidence that results obtained are due solely to proper or improper performance of any culture medium or detection system.

- Cultures obtained for primary diagnosis after initiation of therapy may produce negative results.
- Recovery of mycobacteria in the BacT/ALERT MB culture bottles is dependent on the quality of the specimen collected and the numbers of culturable organisms in the specimen volume. Since media is non-selective and does not contain antibiotics, any microorganisms present may grow in the media.
- Infrequently, BacT/ALERT MB culture bottle positives may occur due to a very high number of white blood cells being present in the blood specimen. This will result in smear and subculture negative samples.
- Organisms are often few in number. Collection of specimens over three consecutive days is generally recommended.

- Colony morphology and pigmentation should only be determined on solid media.
- BacT/ALERT MB culture bottles with a positive signal may contain one or more species of mycobacteria and/or other non-mycobacterial species. In mixed mycobacterial cultures in broth, a slow grower may be out-competed by a fast grower, or the culture may have been discarded early after the rapid grower is detected. Identification of mycobacteria present requires subculture and additional procedures to identify organisms present. The consistency of microscopic morphology in the BacT/ALERT culture bottle has not been established.
- Mycobacteria may vary in acid-fastness depending on strain, age of culture and other variables. All bottles with a positive signal from the instrument should be subcultured to both mycobacterial selective and non-selective media. Non-mycobacteria may overgrow mycobacteria present.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS – MB/BacT (NON-SHAKING)

In-house seeded studies were performed in an MB/BacT (non-shaking) instrument using the following test organisms at levels of ≤ 10 CFU/bottle and ≤ 100 CFU/bottle in human blood from a healthy adult population.

Results of BacT/ALERT MB in MB/BacT Instrument (non-shaking)

Mycobacterium	Inoculum (CFU/bottle)	Time to Detection (days) ¹ BacT/ALERT® MB
TB Complex		
<i>M. tuberculosis</i> (4 strains) CDC 18293, CDC 18280	≤ 100	13.3 - 27.2
CDC 18283, CDC 18286	≤ 10	14.3 - 30.0 ²
<i>M. bovis</i> (2 strains) CDC 423, CDC 8131	≤ 100	14.9 - 23.8
	≤ 10	16.2 - 25.5
Photochromogens (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834, <i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 100	10.0 - 14.6
	≤ 10	13.1 - 39.9
Scotochromogens (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470, <i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 100	14.4 - 30.5
	≤ 10	17.2 - 32.6 ²
Nonchromogens (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (2 strains) CDC 569, CDC 1155	≤ 100	10.4 - 12.5
	≤ 10	13.8 - 14.8
<i>M. avium</i> (2 strains) CDC 440, CDC 768	≤ 100	9.2 - 13.6 ³
	≤ 10	10.9 ³ - 15.7
<i>M. intracellulare</i> (4 strains) CDC 403, VA 5, CDC 644, CDC 1406	≤ 100	8.5 - 12.1
	≤ 10	11.0 - 12.9
Rapid Growers (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100	2.2 - 2.3
	≤ 10	2.6 - 3.2

¹ Each organism was tested in triplicate and averages obtained except when noted. Values given are averages of the replicates.

² One of three bottles showed no growth; value given is average of two bottles.

³ One of three bottles contaminated; value given is average of two bottles.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS – BacT/ALERT (SHAKING)

In-house seeded studies were performed using the following test organisms at levels of ≤ 10 CFU/bottle and ≤ 100 CFU/bottle in human blood from a healthy adult population.

Results of BacT/ALERT MB in BacT/ALERT Instrument (Shaking)

Mycobacterium	Inoculum (CFU/bottle)	Time to Detection (days) ¹ BacT/ALERT® MB
TB Complex		
<i>M. tuberculosis</i> (3 strains) CDC 18292, CDC 18280, CDC 18286	≤ 100	14.1 - 16.7
	≤ 10	14.6 - 18.4
<i>M. tuberculosis</i> CDC 18283	≤ 100	10.6
	≤ 10	13.2 ²
<i>M. bovis</i> CDC 423	≤ 100	19.8
	≤ 10	23.2
<i>M. bovis</i> CDC 8131	≤ 100	19.7
	≤ 10	NG ⁴
Photochromogens (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834, <i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 100	7.9 - 14.4 ²
	≤ 10	8.9 - 16.8 ²
Scotochromogens (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470, <i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 100	17.8 - 37.2
	≤ 10	21.3 - 43.2 ³
Nonchromogens (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (3 strains) CDC 569, CDC 768, CDC 1155	≤ 100	7.5 - 11.5
	≤ 10	8.5 - 11.8
<i>M. avium</i> CDC 440	≤ 100	8.4
	≤ 10	9.3 ²
<i>M. intracellulare</i> (4 strains) CDC 403, VA 5, CDC 644, CDC 1406	≤ 100	9.0 - 11.6
	≤ 10	9.9 - 13.1
Rapid Growers (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100	2.1
	≤ 10	2.3

¹ Each organism was tested in triplicate and averages obtained. Values given are a range of these averages, except *M. bovis*, *M. tuberculosis* CDC 18283, and *M. avium* CDC 440, where only the average is given.

² One of three bottles contaminated; value given is average of two bottles.

³ One of three bottles showed no growth; value given is average of two bottles.


NOTE: A list of rare and fastidious organisms recovered with BacT/ALERT culture bottles is available upon request from bioMérieux.⁴


REFERENCES

- Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/ALERT: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Micro* 1990; 28(7), 1608-1612.
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
- Metchock B, Nolte FS, Wallace Jr RJ: Mycobacterium, in Murray PR, (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, ed 7. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1999, pp 399-437.
- Rare Organism Club, bioMérieux, Inc., 2007.

AVAILABILITY

bioMérieux

BacT/ALERT® MB 25/case  251011


MB/BacT® Enrichment Fluid 5 vials/kit  259877

For technical assistance in the U.S.A., contact bioMérieux Customer Service at 1-800-682-2666. Outside the U.S.A., contact your local bioMérieux Representative.

bioMérieux, the blue logo, BacT/ALERT, and MB/BacT are used, pending, and/or registered trademarks belonging to bioMérieux SA or one of its subsidiaries.

Amphyl is a registered trademark of Linden Corporation.

ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.

 bioMérieux, Inc.
Box 15969
Durham, North Carolina 27704-0969



bioMérieux, S.A.
69280 Marcy-l'Étoile France
www.biomerieux.com

TESTBEGRÆNSNINGER

Mange variable, der er involverede i mycobakteriel testning, kan ikke praktisk kontrolleres, så der kan opnås fuld tillid til, at de opnåede resultater udelukkende er opstået pga. korrekt eller ukorrekt funktion af ét af dyrkningsmediene eller detektionssystemet.

- Efter påbegyndelsen af behandling kan dyrkning, som er indhentet med henblik på primær diagnose, give negative resultater.
- Gendefining af mycobakterier i BacT/ALERT MB-dyrkningsflaskerne er afhængig af kvaliteten af den indhentede prøve, antallet af dyrkbare organismer i prøvevolumen. Da mediet er non-selektivt og ikke indeholder antibiotika, vil eventuelle tilstedeværende mikroorganismer muligvis vokse i mediet.
- En sjælden gang kan et positivt resultat i en BacT/ALERT MB-dyrkningsflaske opstå pga. et meget højt antal hvide blodlegemer i blodprøven. Dette vil resultere i negative udstrykningspræparater og udsåninger.
- Antallet af organismer er ofte lavt. Det anbefales generelt at tage prøver over tre sammenhængende dage.
- Kolonimorfologi og pigmentering må ikke kun bestemmes på fast medie.
- BacT/ALERT MB-dyrkningsflasker, som er blevet tilkendegivet som positiv, kan indeholde én eller flere mycobakterier og/eller ikke-mycobakterielle arter. I blandede dyrkninger med mycobakteriekulturer i bouillon kan en langsomt voksende bakterie blive udkonkurreret af en hurtigt voksende bakterie, eller dyrkningen kan være blevet bortkastet før tid, efter at den hurtigt voksende bakterie er blevet detekteret. Identifikation af tilstedeværende mycobakterier kræver udsåning og yderligere procedurer for at identificere tilstedeværende organismer. Pålideligheden af mikroskopisk morfologi i BacT/ALERT-dyrkningsflasken er ikke blevet fastslået.
- Mycobakterier kan variere i syrefasthed afhængig af stamme, dyrkningens alder og andre variable. Alle flasker, som er blevet tilkendegivet som positive af systemet, skal udsås på både mycobakterielt selektive og ikke-selektive medier. Ikke-mycobakterielle arter kan vokse for stærkt i forhold til tilstedeværende mycobakterier.

FUNKTIONSKARAKTERISTIKA – MB/BacT (IKKE-VUGGENDE)

In-house undersøgelser med udsåninger blev udført i et MB/BacT-system (ikke-vuggende) ved brug af følgende testorganismer ved niveauer på ≤ 10 CFU/flaske og ≤ 100 CFU/flaske med humant blod fra en rask voksenpopulation.

Resultater for BacT/ALERT MB i MB/BacT-system (ikke-vuggende)

Mycobacterium	Inokulum (CFU/flaske)	Detektionstid (dage) ¹ BacT/ALERT [®] MB
TB kompleks		
<i>M. tuberculosis</i> (4 stammer)		
CDC 18293, CDC 18280	≤ 100	13,3 - 27,2
CDC 18283, CDC 18286	≤ 10	14,3 - 30,0 ²
<i>M. bovis</i> (2 stammer)	≤ 100	14,9 - 23,8
CDC 423, CDC 8131	≤ 10	16,2 - 25,5
Fotokromogene (Runyoum I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834,	≤ 100	10,0 - 14,6
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 10	13,1 - 39,9
Scotokromogene (Runyoum II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470,	≤ 100	14,4 - 30,5
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 10	17,2 - 32,6 ²
Ikke-pigmenterede (Runyoum III)		
<i>M. avium</i> (2 stammer)	≤ 100	10,4 - 12,5
CDC 569, CDC 1155	≤ 10	13,8 - 14,8
<i>M. avium</i> (2 stammer)	≤ 100	9,2 - 13,6 ³
CDC 440, CDC 768	≤ 10	10,9 ³ - 15,7
<i>M. intracellulare</i> (4 stammer)		
CDC 403, VA 5,	≤ 100	8,5 - 12,1
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	11,0 - 12,9
Hurtigt voksende bakterier (Runyoum IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100	2,2 - 2,3
	≤ 10	2,6 - 3,2

¹ Hver organisme blev testet tre gange, og gennemsnittet blev noteret, undtaget hvor angivet. De viste værdier er gennemsnitsværdier for replikaterne.

² Den ene af tre flasker viste ingen vækst. Den opgivne værdi er et gennemsnit af to flasker.

³ Den ene af tre flasker var kontamineret. Den opgivne værdi er et gennemsnit af to flasker.

FUNKTIONSKARAKTERISTIKA – BacT/ALERT (VUGGENDE)

In-house undersøgelser med udsåninger blev udført med brug af følgende testorganismer ved niveauer på ≤ 10 CFU/flaske og ≤ 100 CFU/flaske med humant blod fra en rask voksenpopulation.

Resultater for BacT/ALERT MB i BacT/ALERT-system (vuggende)

Mycobacterium	Inokulum (CFU/flaske)	Detektionstid (dage) ¹ BacT/ALERT [®] MB
TB kompleks		
<i>M. tuberculosis</i> (3 stammer)		
CDC 18292, CDC 18280,	≤ 100	14,1 - 16,7
CDC 18286	≤ 10	14,6 - 18,4
<i>M. tuberculosis</i> CDC 18283	≤ 100	10,6
	≤ 10	13,2 ²
<i>M. bovis</i> CDC 423	≤ 100	19,8
	≤ 10	23,2
<i>M. bovis</i> CDC 8131	≤ 100	19,7
	≤ 10	NG ⁴
Fotokromogene (Runyoum I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834,	≤ 100	7,9 - 14,4 ²
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 10	8,9 - 16,8 ²
Scotokromogene (Runyoum II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470,	≤ 100	17,8 - 37,2
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 10	21,3 - 43,3 ³
Ikke pigmenterede (Runyoum III)		
<i>M. avium</i> (3 stammer)		
CDC 569, CDC 768,	≤ 100	7,5 - 11,5
CDC 1155	≤ 10	8,5 - 11,8
<i>M. avium</i> CDC 440	≤ 100	8,4
	≤ 10	9,3 ²
<i>M. intracellulare</i> (4 stammer)		
CDC 403, VA 5,	≤ 100	9,0 - 11,6
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	9,9 - 13,1
Hurtigt voksende bakterier (Runyoum IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100	2,1
	≤ 10	2,3

¹ Hver organisme blev testet tre gange, og gennemsnittet blev noteret. De viste værdier er gennemsnitsområder, undtagen *M. bovis*, *M. tuberculosis* CDC 18283, og *M. avium* CDC 440, hvor kun gennemsnittet er angivet.

² Den ene af tre flasker var kontamineret. Den opgivne værdi er et gennemsnit af to flasker.

³ Den ene af tre flasker viste ingen vækst. Den opgivne værdi er et gennemsnit af to flasker.


BEMÆRK: Ved henvendelse til bioMérieux kan der rekvireres en liste over sjældne og kræse organismer, der er fundet med BacT/ALERT-dyrkningsflasker.⁴


LITTERATURHENVISNINGER

- Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/ALERT: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Micro* 1990; 28(7), 1608-1612.
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
- Metchock B, Nolte FS, Wallace Jr RJ: Mycobacterium, in Murray PR, (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, ed 7. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1999, pp 399-437.
- Rare Organism Club, bioMérieux, Inc., 2007.

BESTILLING

bioMérieux

BacT/ALERT[®] MB 25/kasse  251011

MB/BacT[®] Enrichment Fluid 5 hætteglas/sæt  259877

For teknisk assistance i USA kontaktes til bioMérieux kundeservice på 1-800-682-2666. Uden for USA kontaktes den lokale repræsentant fra bioMérieux.

bioMérieux, det blå logo, BacT/ALERT og MB/BacT er anvendte, anmeldte og/eller registrerede varemærker tilhørende bioMérieux SA eller et af dets datterselskaber.

Amphyl er et registreret varemærke tilhørende Linden Corporation.

ATCC er et registreret varemærke tilhørende American Type Culture Collection.



bioMérieux, Inc.
Box 15969
Durham, North Carolina 27704-0969



bioMérieux, S.A.
69280 Marcy-l'Étoile France
www.biomerieux.com

©BIOMÉRIEUX 2000, 2004, 2007, 2008

Juli 2008

ERGEBNISBEFUNDE

Ergebnisse	Befund
Signal +, AFB-Ausstrich +	AFB positiv, Identifizierung ausstehend
Signal +, AFB-Ausstrich -, Gramfärbung +	Kein Befund, oder Probe mit nicht mykobakteriellen Organismen kontaminiert, Vorhandensein/Nichtvorhandensein von AFB kann nicht bestimmt werden
Signal +, AFB-Ausstrich -, Gramfärbung -	Kein Befund. Subkultur anlegen, um möglicherweise falsch positives Ergebnis zu bestimmen

QUALITÄTSKONTROLLE

Jede Packung BacT/ALERT MB-Kulturflaschen enthält eine Konformitätserklärung, die das zufriedenstellende Wachstum von *M. avium* ATCC 25291 und *M. intracellulare* ATCC 13950 zertifiziert. Nach Erhalt können neue Chargen bzw. Lieferungen von BacT/ALERT MB-Kulturflaschen oder Reagenzien für die Qualitätskontrolle getestet werden. Informationen über geeignete Qualitätskontrollkeime finden Sie in den CLSI-/NCCLS-Richtlinien M22-A3. Gehen Sie wie folgt vor, um die Flasche vorzubereiten und zu beimpfen:

- Fügen Sie jeder zu testenden BacT/ALERT MB-Kulturflasche 1,0 ml MB/BacT Enrichment Fluid hinzu.
- Beimpfen Sie die repräsentativen Flaschen mit 5,0 ml der Kontrollkeime, die in sterilem defibriertem Schafsblut auf 10⁵ KBE/ml verdünnt wurden. Legen Sie Subkulturen auf Middlebrook 7H11-Platten an, um die Lebensfähigkeit und die Zahl zu bestimmen.
- Verwenden Sie nach dem Erhalt der erwarteten Ergebnisse die verbleibenden Flaschen zum Testen der klinischen Proben. Wenn die erwarteten Ergebnisse nicht erzielt werden, wenden Sie sich an den Kundendienst von bioMérieux.

BESCHRÄNKUNGEN DES TESTVERFAHRENS

Zahlreiche Variablen im Mykobakterien-Testverfahren sind in der Praxis nicht kontrollierbar, so dass keine absolute Sicherheit besteht, dass die erhaltenen Ergebnisse ausschließlich auf die einwandfreie bzw. verminderte Leistung des Kulturmediums oder Nachweissystems zurückzuführen sind.

- Kulturen, die nach Therapiebeginn für die Primärdiagnose entnommen werden, können zu negativen Ergebnissen führen.
- Der Nachweis von Mykobakterien in den BacT/ALERT MB-Kulturflaschen ist von der Qualität der entnommenen Probe und der Anzahl kultivierbarer Keime im Probenvolumen abhängig. Da das Nährmedium nichtselektiv ist und keine Antibiotika enthält, können vorhandene Mikroorganismen aller Art wachsen.
- Gelegentlich kann es aufgrund einer sehr hohen Zahl Leukozyten in der Blutprobe zu positiven Testergebnissen der BacT/ALERT MB-Kulturflaschen kommen. Das führt zu negativen Proben beim Ausstrich und der Subkultivierung.
- Die Zahl der Organismen ist häufig gering. Die Gewinnung von Proben über einen Zeitraum von drei aufeinanderfolgenden Tagen wird allgemein empfohlen.
- Morphologie und Pigmentierung einer Kolonie sollten ausschließlich auf festen Medien bestimmt werden.
- BacT/ALERT MB-Kulturflaschen mit einem positiven Signal können eine oder mehrere Spezies Mykobakterien und/oder andere nicht mykobakterielle Spezies enthalten. In gemischten mykobakteriellen Kulturen in Bouillon setzen sich möglicherweise schnell wachsende Organismen gegenüber langsam wachsenden durch, oder die Kultur würde gleich als nicht verwertbar eingestuft, nachdem die schnell wachsenden Organismen erkannt worden waren. Die Identifizierung vorhandener Mykobakterien erfordert die Subkultivierung und weitere Verfahren zur Identifizierung von Keimen. Die Konsistenz der mikroskopischen Morphologie in den BacT/ALERT-Kulturflaschen ist nicht definiert.
- Die Säurefestigkeit von Mykobakterien kann je nach Stamm, Alter der Kultur und anderen Variablen unterschiedlich sein. Von allen Flaschen, für die das Gerät ein positives Signal angezeigt hat, sollten Subkulturen mit mykobakteriell selektiven und nichtselektiven Medien angelegt werden. Vorhandene Mykobakterien können durch andere Bakterien überdeckt werden.

LEISTUNGSMERKMALE – MB/BacT (OHNE SCHÜTTELN)

Mit einem MB/BacT-Gerät (ohne Schütteln) wurden interne Beimpfungsstudien durchgeführt. Dazu wurden die folgenden Testkeime in den Konzentrationen ≤ 10 KBE/Flasche und ≤ 100 KBE/Flasche in Humanblut gesunder erwachsener Personen inokuliert.

Ergebnisse von BacT/ALERT MB im MB/BacT-Gerät (ohne Schütteln)

Mykobakterium	Inokulum (KBE/Flasche)	Für den Nachweis erforderlicher Zeitraum (Tage) ¹	
		BacT/ALERT® MB	
TB-Komplex			
<i>M. tuberculosis</i> (4 Stämme)			
CDC 18293, CDC 18280	≤ 100	13,3 – 27,2	
CDC 18283, CDC 18286	≤ 10	14,3 – 30,0 ²	
<i>M. bovis</i> (2 Stämme)			
CDC 423, CDC 8131	≤ 100	14,9 – 23,8	
	≤ 10	16,2 – 25,5	
Photochromogen (Runyoun I)			
<i>M. kansasii</i> CDC 834,			
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 100	10,0 – 14,6	
	≤ 10	13,1 – 39,9	
Scotochromogen (Runyoun II)			
<i>M. gordonae</i> ATCC 14470,			
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 100	14,4 – 30,5	
	≤ 10	17,2 – 32,6 ²	
Nicht chromogen (Runyoun III)			
<i>M. avium</i> (2 Stämme)			
CDC 569, CDC 1155	≤ 100	10,4 – 12,5	
	≤ 10	13,8 – 14,8	
<i>M. avium</i> (2 Stämme)			
CDC 440, CDC 768	≤ 100	9,2 – 13,6 ³	
	≤ 10	10,9 ³ – 15,7	
<i>M. intracellulare</i> (4 Stämme)			
CDC 403, VA 5,	≤ 100	8,5 – 12,1	
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	11,0 – 12,9	
Schnell wachsend (Runyoun IV)			
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>			
	≤ 100	2,2 – 2,3	
	≤ 10	2,6 – 3,2	

¹ Jeder Mikroorganismus wurde dreimal getestet und es wurde ein Durchschnitt gebildet (außer in Fällen, für die etwas anderes angegeben ist). Die angegebenen Werte sind Durchschnittswerte der wiederholten Bestimmungen.

² Eine von drei Flaschen zeigte kein Wachstum, der angegebene Wert ist der Mittelwert zweier Flaschen.

³ Eine von drei Flaschen ist kontaminiert, der angegebene Wert ist der Mittelwert zweier Flaschen.

LEISTUNGSMERKMALE – BacT/ALERT (MIT SCHÜTTELN)

Es wurden interne Beimpfungsstudien durchgeführt. Dazu wurden die folgenden Testkeime in den Konzentrationen ≤ 10 KBE/Flasche und ≤ 100 KBE/Flasche in Humanblut gesunder erwachsener Personen inokuliert.

Ergebnisse von BacT/ALERT MB im BacT/ALERT-Gerät (mit Schütteln)

Mykobakterium	Inokulum (KBE/Flasche)	Für den Nachweis erforderlicher Zeitraum (Tage) ¹	
		BacT/ALERT® MB	
TB-Komplex			
<i>M. tuberculosis</i> (3 Stämme)			
CDC 18292, CDC 18280,	≤ 100	14,1 – 16,7	
CDC 18286	≤ 10	14,6 – 18,4	
<i>M. tuberculosis</i> CDC 18283			
	≤ 100	10,6	
	≤ 10	13,2 ²	
<i>M. bovis</i> CDC 423			
	≤ 100	19,8	
	≤ 10	23,2	
<i>M. bovis</i> CDC 8131			
	≤ 100	19,7	
	≤ 10	NG ⁴	
Photochromogen (Runyoun I)			
<i>M. kansasii</i> CDC 834,			
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 100	7,9 – 14,4 ²	
	≤ 10	8,9 – 16,8 ²	
Scotochromogen (Runyoun II)			
<i>M. gordonae</i> ATCC 14470,			
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 100	17,8 – 37,2	
	≤ 10	21,3 – 43,2 ³	
Nicht chromogen (Runyoun III)			
<i>M. avium</i> (3 Stämme)			
CDC 569, CDC 768,	≤ 100	7,5 – 11,5	
CDC 1155	≤ 10	8,5 – 11,8	
<i>M. avium</i> CDC 440			
	≤ 100	8,4	
	≤ 10	9,3 ²	
<i>M. intracellulare</i> (4 Stämme)			
CDC 403, VA 5,	≤ 100	9,0 – 11,6	
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	9,9 – 13,1	
Schnell wachsend (Runyoun IV)			
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>			
	≤ 100	2,1	
	≤ 10	2,3	

¹ Jeder Mikroorganismus wurde dreimal getestet und es wurde ein Durchschnitt gebildet. Die angegebenen Werte sind ein Bereich dieser Mittelwerte, mit Ausnahme von *M. bovis*, *M. tuberculosis* CDC 18283 und *M. avium* CDC 440, für die lediglich der Mittelwert angegeben wird.

² Eine von drei Flaschen ist kontaminiert, der angegebene Wert ist der Mittelwert zweier Flaschen.

³ Eine von drei Flaschen zeigte kein Wachstum, der angegebene Wert ist der Mittelwert zweier Flaschen.

HINWEIS: Eine Liste seltener und anspruchsvoller Keime, die mit BacT/ALERT-Kulturflaschen nachgewiesen werden können, kann bei bioMérieux angefordert werden.⁴

LITERATURHINWEISE

- Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/ALERT: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Micro* 1990; 28(7), 1608-1612.
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
- Metchock B, Nolte FS, Wallace Jr RJ: Mycobacterium, in Murray PR, (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, ed 7. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1999, pp 399-437.
- Rare Organism Club, bioMérieux, Inc., 2007.

BESTELLINFORMATIONEN

bioMérieux

BacT/ALERT® MB	Packung à 25 Stück	REF 251011
MB/BacT® Enrichment Fluid	5 Fläschchen/Kit	REF 259877

Bei technischen Fragen wenden Sie sich bitte an die Kundendienstvertretung von bioMérieux (außerhalb der USA an die nächstgelegene Vertretung, innerhalb der USA unter der Rufnummer 1-800-682-2666).

bioMérieux, das blaue Logo, BacT/ALERT und MB/BacT sind aktuell genutzte, angemeldete und/oder registrierte Marken von bioMérieux SA oder einer ihrer Tochtergesellschaften.

Amphyl ist eine eingetragene Marke der Linden Corporation.

ATCC ist eine eingetragene Marke der American Type Culture Collection.

bioMérieux, Inc.
Box 15969
Durham, North Carolina 27704-0969



bioMérieux, S.A.
69280 Marcy-l'Étoile France
www.biomérieux.com

©BIOMÉRIEUX 2000, 2004, 2007, 2008

Juli 2008

ΑΝΑΦΟΡΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Αποτελέσματα

Αναφορά	Αναφορά
Σήμα +, Επίχρισμα AFB +	AFB θετικό, εκκρεμεί ταυτοποίηση
Σήμα +, Επίχρισμα AFB -, Χρώση κατά Gram +	Καμία αναφορά ή το δείγμα έχει επιμολυνθεί με μη μικροβιατικούς οργανισμούς, δεν είναι δυνατός ο προσδιορισμός της παρουσίας/απουσίας AFB
Σήμα +, Επίχρισμα AFB -, Χρώση κατά Gram -	Καμία αναφορά. Ανακαλλιέργεια για να προσδιοριστεί ενδεχομένως ψευδώς θετικό δείγμα

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Κάθε θήκη φιαλών καλλιέργειας BacT/ALERT MB συνοδεύεται από Πιστοποιητικό Συμμόρφωσης που υποδεικνύει κανονιστική απόδοση της ανάπτυξης του *M. avium* ATCC 25291 και του *M. intracellulare* ATCC 13950. Κατά την παραλαβή, οι νέες παρτίδες ή οι αποσταλές φιαλών καλλιέργειας ή αντιδραστηρίων BacT/ALERT MB μπορούν να υποβάλλονται σε ποιοτικό έλεγχο. Ανατρέξτε στο CLSI/NCCLS M22-A3 για τους κατάλληλους μικροοργανισμούς Ποιοτικού Ελέγχου. Ακολουθήστε τη διαδικασία προετοιμασίας και ενοφθαλμισμού των φιαλών:

1. Προσθέστε 1,0 ml υγρού εμπλουτισμού MB/BacT σε κάθε φιάλη καλλιέργειας BacT/ALERT MB που απαιτείται για εξέταση.
2. Ενοφθαλμίζετε αντιπροσωπευτικές φιάλες με 5,0 ml των οργανισμών ελέγχου, αραιωμένων σε 10³ CFU/ml σε στέριο, απηυδογονωμένο αίμα προβάτου. Πραγματοποιήστε ανακαλλιέργεια σε πλάκες Middlebrook 7H11 για να προσδιορίσετε τη βιωσιμότητα και το πλήθος των μικροοργανισμών.
3. Αφού λάβετε τα αναμενόμενα αποτελέσματα, χρησιμοποιήστε τις υπόλοιπες φιάλες για την εξέταση κλινικών δειγμάτων. Εάν δεν λάβετε τα αναμενόμενα αποτελέσματα, επικοινωνήστε με το Υπηρεσία Εξυπηρέτησης Πελατών της bioMérieux.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Πολλές μεταβλητές που ενέχονται σε δοκιμασία μικροβακτηρίων δεν είναι δυνατόν να ελεγχθούν πρακτικά για την παροχή πλήρους εμπιστοσύνης ότι τα ληφθέντα αποτελέσματα σφειλονται αποκλειστικά στη σωστή ή την εσφαλμένη απόδοση οποιουδήποτε υλικού καλλιέργειας ή συστήματος ανίχνευσης.

1. Οι καλλιέργειες που λαμβάνονται για αρχική διάγνωση μετά την έναρξη της θεραπείας ενδέχεται να δώσουν αρνητικά αποτελέσματα.
2. Η ανάκτηση μικροβακτηρίων στις φιάλες καλλιέργειας BacT/ALERT MB εξαρτάται από την ποιότητα του δείγματος που συλλέγεται και τους αριθμούς των καλλιεργησιμών μικροοργανισμών στον όγκο δείγματος. Καθώς το υλικό είναι μη εκλεκτικό και δεν περιέχει αντιβιοτικά, οποιοδήποτε μικροοργανισμοί εμφανιστούν, μπορούν να αναπτύσσονται στο υλικό.
3. Σπάνια, ενδέχεται να εμφανιστούν θετικές φιάλες καλλιέργειας BacT/ALERT MB λόγω ύπαρξης πολύ υψηλού αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων στο δείγμα αίματος. Κάτι τέτοιο οδηγεί σε δείγματα με αρνητικό επίχρισμα και αρνητική ανακαλλιέργεια.
4. Οι οργανισμοί είναι συχνά λίγοι σε αριθμό. Συνιστάται γενικά η συλλογή δειγμάτων σε τρεις συνεχόμενες ημέρες.
5. Η μορφολογία και η χρώση αποικιών πρέπει να προσδιορίζεται μόνο σε στερεό υλικό.
6. Οι φιάλες καλλιέργειας BacT/ALERT MB με θετικό σήμα μπορεί να περιέχουν ένα ή περισσότερα είδη μικροβακτηρίων ή/και άλλων μη μικροβακτηριακών ειδών. Σε μεικτές καλλιέργειες μικροβακτηρίων σε ζυμό, ένας οργανισμός βραδείας ανάπτυξης μπορεί να εξουδετερωθεί από έναν οργανισμό ταχείας ανάπτυξης, διαφορετικά η καλλιέργεια μπορεί να απορριφθεί λίγο μετά την ανίχνευση του οργανισμού ταχείας ανάπτυξης. Η ταυτοποίηση των μικροβακτηρίων που υπάρχουν, απαιτεί ανακαλλιέργεια και πρόσθετες διαδικασίες για την ταυτοποίηση των μικροοργανισμών. Η συνέντευξη της μικροσκοπικής μορφολογίας στη φιάλη καλλιέργειας BacT/ALERT δεν έχει καθοριστεί.
7. Τα μικροβακτήρια μπορεί να ποικίλουν ως προς την οξεοαντοχή ανάλογα με τη χρώση, την ηλικία της καλλιέργειας και άλλες μεταβλητές. Όλες οι φιάλες που έχουν θετικό σήμα από το όργανο πρέπει να υποβάλλονται σε ανακαλλιέργεια σε μικροβακτηριακά εκλεκτικά και μη εκλεκτικά μέσα. Τα μη μικροβακτήρια μπορεί να αναπτυχθούν ταχύτερα από τα εμφανιζόμενα μικροβακτήρια.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ – MB/BacT (ΧΩΡΙΣ ΑΝΑΚΙΝΗΣΗ)

Εσωτερικές μελέτες εμβολιασμού πραγματοποιήθηκαν σε όργανο MB/BacT (χωρίς ανακίνηση) με χρήση των παρακάτω οργανισμών εξέτασης σε επίπεδα ≤ 10 CFU/φιάλη και ≤ 100 CFU/φιάλη σε ανθρώπινο αίμα από πληθυσμό υγιών ενηλίκων.

Αποτελέσματα του BacT/ALERT MB σε όργανο MB/BacT (χωρίς ανακίνηση)

Μικροβκτήριο	Ενοφθάλμισμα (CFU/φιάλη)	Χρόνος έως την ανίχνευση (ημέρες) ¹ BacT/ALERT® MB
Σύμπλεγμα TB		
<i>M. tuberculosis</i> (4 στελέχη)		
CDC 18293, CDC 18280	≤ 100	13,3 - 27,2
CDC 18283, CDC 18286	≤ 10	14,3 - 30,0 ²
<i>M. bovis</i> (2 στελέχη)	≤ 100	14,9 - 23,8
CDC 423, CDC 8131	≤ 10	16,2 - 25,5
Φωτοχρωμογόνα (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834,	≤ 100	10,0 - 14,6
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 10	13,1 - 39,9
Σκοτοχρωμογόνα (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470,	≤ 100	14,4 - 30,5
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 10	17,2 - 32,6 ²
Μη χρωμογόνα (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (2 στελέχη)	≤ 100	10,4 - 12,5
CDC 569, CDC 1155	≤ 10	13,8 - 14,8
<i>M. avium</i> (2 στελέχη)	≤ 100	9,2 - 13,6 ³
CDC 440, CDC 768	≤ 10	10,9 ³ - 15,7
<i>M. intracellulare</i> (4 στελέχη)		
CDC 403, VA 5,	≤ 100	8,5 - 12,1
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	11,0 - 12,9
Ταχείας ανάπτυξης (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100	2,2 - 2,3
	≤ 10	2,6 - 3,2

¹ Κάθε οργανισμός εξετάστηκε εις τριπλούν και ελήφθησαν οι μέσοι όροι εκτός εάν αναφέρεται. Οι αναφερόμενες τιμές είναι μέσοι όροι των αντιγράφων.

² Μία από τις τρεις φιάλες δεν έδειξε καμία ανάπτυξη. Η αναφερόμενη τιμή είναι ο μέσος όρος των δύο φιαλών.

³ Μία από τις τρεις φιάλες επιμολύνθηκε. Η αναφερόμενη τιμή είναι ο μέσος όρος των δύο φιαλών.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ – BacT/ALERT (ΜΕ ΑΝΑΚΙΝΗΣΗ)

Εσωτερικές μελέτες εμβολιασμού έχουν πραγματοποιηθεί με χρήση των παρακάτω οργανισμών εξέτασης σε επίπεδα ≤ 10 CFU/φιάλη και ≤ 100 CFU/φιάλη σε ανθρώπινο αίμα από πληθυσμό υγιών ενηλίκων.

Αποτελέσματα του BacT/ALERT MB σε όργανο BacT/ALERT (με ανακίνηση)

Μικροβκτήριο	Ενοφθάλμισμα (CFU/φιάλη)	Χρόνος έως την ανίχνευση (ημέρες) ¹ BacT/ALERT® MB
Σύμπλεγμα TB		
<i>M. tuberculosis</i> (3 στελέχη)		
CDC 18292, CDC 18280,	≤ 100	14,1 - 16,7
CDC 18286	≤ 10	14,6 - 18,4
<i>M. tuberculosis</i> CDC 18283	≤ 100	10,6
	≤ 10	13,2 ²
<i>M. bovis</i> CDC 423	≤ 100	19,8
	≤ 10	23,2
<i>M. bovis</i> CDC 8131	≤ 100	19,7
	≤ 10	NG ⁴
Φωτοχρωμογόνα (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834,	≤ 100	7,9 - 14,4 ²
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 10	8,9 - 16,8 ²
Σκοτοχρωμογόνα (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470,	≤ 100	17,8 - 37,2
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 10	21,3 - 43,2 ³
Μη χρωμογόνα (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (3 στελέχη)		
CDC 569, CDC 768,	≤ 100	7,5 - 11,5
CDC 1155	≤ 10	8,5 - 11,8
<i>M. avium</i> CDC 440	≤ 100	8,4
	≤ 10	9,3 ²
<i>M. intracellulare</i> (4 στελέχη)		
CDC 403, VA 5,	≤ 100	9,0 - 11,6
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	9,9 - 13,1
Ταχείας ανάπτυξης (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100	2,1
	≤ 10	2,3

¹ Κάθε οργανισμός εξετάστηκε εις τριπλούν και ελήφθησαν οι μέσοι όροι. Οι τιμές που δίνονται είναι το εύρος αυτών των μέσων όρων, εκτός από τους *M. bovis*, *M. tuberculosis* CDC 18283 και *M. avium* CDC 440, όπου δίνεται μόνο ο μέσος όρος.

² Μία από τις τρεις φιάλες επιμολύνθηκε. Η αναφερόμενη τιμή είναι ο μέσος όρος των δύο φιαλών.

³ Μία από τις τρεις φιάλες δεν έδειξε καμία ανάπτυξη. Η αναφερόμενη τιμή είναι ο μέσος όρος των δύο φιαλών.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Λίστα σπάνιων και ανθεκτικών οργανισμών που ανακτήθηκαν με φιάλες καλλιέργειας BacT/ALERT διατίθεται κατόπιν αιτήσεως από τη bioMérieux.⁴

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/ALERT: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Micro* 1990; 28(7), 1608-1612.
2. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
3. Metchock B, Nolte FS, Wallace Jr RJ: Mycobacterium, in Murray PR, (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, ed 7. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1999, pp 399-437.
4. Rare Organism Club, bioMérieux, Inc., 2007.

ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

bioMérieux

BacT/ALERT® MB 25/θήκη [\[REF\]](#) 251011

MB/BacT® Enrichment Fluid 5 φιαλίδια/σετ [\[REF\]](#) 259877

Για τεχνική βοήθεια εντός των Η.Π.Α., επικοινωνήστε με το Τμήμα Εξυπηρέτησης Πελατών της bioMérieux στο τηλέφωνο 1-800-682-2666. Εκτός των Η.Π.Α., επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της bioMérieux.

Η ονομασία bioMérieux, ο κванός λογότυπος και οι ονομασίες BacT/ALERT και MB/BacT αποτελούν χρησιμοποιούμενα, κατατεθειμένα ή/και καταχωρημένα εμπορικά σήματα που ανήκουν στην bioMérieux SA ή μιας εκ των θυγατρικών της.

Η ονομασία AmphyI αποτελεί κατατεθειμένο εμπορικό σήμα της Linden Corporation.

Η ονομασία ATCC αποτελεί χρησιμοποιούμενο, κατατεθειμένο ή/και καταχωρημένο εμπορικό σήμα που ανήκει στην American Type Culture Collection.

bioMérieux, Inc.
Box 15969
Durham, North Carolina 27704-0969



bioMérieux, S.A.
69280 Marcy-l'Étoile France
www.biomerieux.com

©BIOMÉRIEUX 2000, 2004, 2007, 2008

Ιούλιος 2008

BacT/ALERT® MB

43-02494

INDICA SECCIÓN MODIFICADA

Conservar los frascos de cultivo BacT/ALERT® MB y el líquido de enriquecimiento MB/BacT® Enrichment Fluid entre 15-30 °C. Proteger de la luz directa del sol.

Véase al final del prospecto el glosario de símbolos.

USO PREVISTO

Los frascos de cultivo BacT/ALERT MB con la adición del líquido de enriquecimiento MB/BacT, cuando se utilizan con el sistema de detección de micobacterias MB/BacT® (sin agitación) y el sistema de detección de microorganismos BacT/ALERT® (con agitación), son un medio de cultivo no selectivo para el cultivo cualitativo y la recuperación de micobacterias en muestras de sangre.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Los frascos de cultivo BacT/ALERT MB en combinación con el líquido de enriquecimiento MB/BacT están diseñados para el cultivo de especies de *Mycobacterium* aisladas habitualmente en la sangre. El medio facilitará el crecimiento de otros microorganismos aerobios, tales como levaduras, hongos y bacterias. Este sistema completo incluye un agente hemolítico (saponina), polianetolsulfonato de sodio (SPS) y otros suplementos de medios de cultivo que eliminan la etapa de procesamiento, impiden la coagulación de la sangre y favorecen el crecimiento de micobacterias. Puede inocularse un volumen de 3-5 ml de sangre directamente en el frasco de cultivo. Los frascos inoculados se colocan en el instrumento, donde se incuban (35-37 °C) y se vigilan continuamente para comprobar si se produce crecimiento microbiano.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El sistema de detección de micobacterias MB/BacT y los sistemas de detección de microorganismos BacT/ALERT utilizan un sensor colorimétrico y la luz reflejada para controlar la presencia y la producción de dióxido de carbono (CO₂) disuuelto en el medio de cultivo¹. Si hay microorganismos en la muestra de estudio se generará dióxido de carbono, ya que los microorganismos metabolizan los sustratos del medio de cultivo. Cuando el crecimiento de los microorganismos produce CO₂, el color del sensor permeable al gas instalado en el fondo de cada frasco de cultivo cambia de color azul-verdoso a amarillo. Este color más claro provoca un aumento de las unidades de reflectancia controladas por el sistema. El instrumento controla y registra la reflectancia del frasco cada 10 minutos.

REACTIVOS

Para uso diagnóstico *in vitro*.

ADVERTENCIA: Para reducir los riesgos de exposición accidental a agentes infecciosos, deben tomarse precauciones adicionales cuando se utilicen los frascos de cultivo BacT/ALERT MB en el sistema de detección de microorganismos BacT/ALERT. Es muy recomendable instalar el instrumento en un laboratorio que se utilice para el cultivo sistemático de *M. tuberculosis*. Para las actividades que requieran la propagación y manipulación de *M. tuberculosis* o especies de *Mycobacterium* crecidas en cultivo, se recomienda el uso de prácticas, equipo de contención e instalaciones de nivel 3 de seguridad biológica².

PRECAUCIÓN: Manipular las muestras y los frascos de cultivo inoculados como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Todos los frascos de cultivo inoculados, las agujas para toma de muestras y los dispositivos de extracción de sangre deben ser descontaminados de acuerdo con los procedimientos del centro³.

BacT/ALERT® MB

BacT/ALERT® MB (color negro): los frascos de cultivo desechables estériles BacT/ALERT MB contienen 29 ml de medio de cultivo y un sensor interno que detecta el dióxido de carbono como indicador del crecimiento microbiano. La formulación del medio de cultivo está compuesta de caldo de Middlebrook 7H9 (0,47% p/v), digerido preanérico de caseína (0,1% p/v), glicerol (1,0% p/v) y polianetolsulfonato de sodio (0,025% p/v) en agua purificada. Los frascos contienen una atmósfera de CO₂ en oxígeno y nitrógeno al vacío. Es posible ajustar la composición del medio para que cumpla requisitos de rendimiento específicos.

PRECAUCIÓN: Los frascos de cultivo BacT/ALERT MB se incuban a 37 °C, lo cual podría impedir la recuperación de micobacterias que requieran otras temperaturas de incubación (p. ej., *M. marinum*, *M. ulcerans* y *M. haemophilum*). Las siguientes cepas aisladas se detectaron como positivas en los instrumentos MB/BacT (sin agitación) y BacT/ALERT (con agitación) con el frasco de cultivo BacT/ALERT MB durante estudios internos: *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. bovis*, *M. goodii* y *M. simiae*.

PRECAUCIÓN: Es posible que determinadas micobacterias exigentes raras no crezcan o crezcan lentamente en el medio de crecimiento del frasco de cultivo BacT/ALERT MB. Si se sospecha la presencia de micobacterias exigentes raras que requieren medios y condiciones de cultivo especiales, debe considerarse la posibilidad de utilizar métodos alternativos o tiempos de incubación ampliados para su recuperación.

PRECAUCIÓN: En raras ocasiones pueden encontrarse microorganismos que crezcan en el medio de crecimiento de los frascos de cultivo BacT/ALERT MB, pero sin que produzcan suficiente dióxido de carbono para dar un resultado positivo. Por ejemplo, las muestras de pacientes que estén recibiendo tratamiento con fármacos antimicobacterianos pueden mostrar un crecimiento deficiente.

MB/BacT® Enrichment Fluid

Los viales de líquido de enriquecimiento MB/BacT Enrichment Fluid contienen un volumen total de llenado de 5,5 ml cada uno. El líquido de enriquecimiento MB/BacT está constituido de seroalbúmina bovina (14,5% p/v), cloruro sódico (2,5% p/v), ácido oleico (0,174% p/v) y saponina (4,4% p/v) en agua purificada.

Materiales adicionales requeridos

Sistema de detección de micobacterias MB/BacT o sistema de detección de microorganismos BacT/ALERT
Caldo de Middlebrook 7H11 u otro agar micobacteriano o medio de cultivo a base de huevo
Incubadora de CO₂, 37 °C ± 2 °C
Jeringas y agujas estériles
Desinfectante micobactericida
Aparato para la extracción de sangre
Cabinas de seguridad biológica
Guantes estériles desechables
Batas desechables
Mascarillas desechables
Recipientes apropiados para desechos de riesgo biológico de materiales potencialmente contaminados con agentes infecciosos
Microorganismos de control de calidad

Materiales disponibles en bioMérieux

Sistema de detección de micobacterias MB/BacT y sistemas de detección de microorganismos BacT/ALERT

Instrucciones de conservación

Conservar los frascos de cultivo BacT/ALERT MB y el líquido de enriquecimiento MB/BacT a temperatura ambiente (15-30 °C). Proteger de la luz directa del sol. En la etiqueta de cada frasco viene impresa la fecha de caducidad. No utilizar los frascos de cultivo BacT/ALERT MB ni los viales de líquido de enriquecimiento después del último día del mes indicado. Los frascos deben estar a temperatura ambiente antes de su uso.

INSTRUMENTOS

Consultar el manual del usuario del sistema de detección de microorganismos BacT/ALERT correspondiente antes de utilizarlo.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Al obtener muestras de sangre para cultivo es muy importante recoger la muestra de manera correcta. Consultar el Manual de microbiología clínica³ para ver los procedimientos adecuados para la recogida y el transporte de muestras. Es esencial desinfectar adecuadamente la piel para reducir la incidencia de contaminación.

bioMérieux recomienda colocar los frascos de cultivo inoculados en el sistema de detección de microorganismos BacT/ALERT lo antes posible después de su recogida. Los frascos de cultivo inoculados cuya introducción se difiera deben mantenerse a temperatura ambiente hasta que puedan colocarse en la incubadora.

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE LOS FRASCOS DE CULTIVO BacT/ALERT MB Precauciones y comentarios preliminares

1. MUESTRA DE ESTUDIO POTENCIALMENTE INFECCIOSA. Observar las precauciones universales al manipular y desechar materiales infecciosos. Manipular las muestras y los cultivos inoculados como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos.
2. Para reducir al mínimo la posibilidad de fugas durante la inoculación de muestras de cultivo deben utilizarse jeringas y agujas fijas.

ESPAÑOL

3. Todos los frascos de cultivo inoculados, las agujas para toma de muestras y los dispositivos de extracción de sangre deben ser descontaminados de acuerdo con los procedimientos del centro³.
4. Transportar siempre los frascos de cultivo inoculados en una gradilla o cesta. En caso de derramamiento o rotura podría producirse un aerosol de micobacterias (incluida *M. tuberculosis*) u otras bacterias. Deben seguirse las directrices de seguridad del centro y de los CDC/NIH². Con la aparición del virus de la inmunodeficiencia humana y del síndrome de inmunodeficiencia adquirida ha aumentado la incidencia de micobacteriemia causada por *M. tuberculosis*, y actualmente se considera que la sangre es una posible fuente de transmisión en el laboratorio².
5. La manipulación de microorganismos del complejo *M. tuberculosis* crecidos en cultivo requiere prácticas, equipo de contención e instalaciones de nivel 3 de seguridad biológica².
6. Debe procurarse evitar la contaminación durante la preparación de los frascos, la recogida de la muestra del paciente y la inoculación de la muestra del paciente en el frasco de cultivo BacT/ALERT MB.
7. El líquido de enriquecimiento MB/BacT contiene componentes necesarios para garantizar el crecimiento óptimo de micobacterias y un agente hemolítico para la destrucción de las células sanguíneas. Este producto debe añadirse a todos los frascos de cultivo BacT/ALERT MB.
8. El líquido de enriquecimiento MB/BacT puede añadirse hasta 24 horas antes o después de la inoculación del frasco con la muestra de sangre. Si el líquido de enriquecimiento se añade después de la inoculación de la sangre, debe añadirse utilizando las prácticas de nivel 3 de seguridad biológica adecuadas².
9. Estos frascos de cultivo deben ser utilizados exclusivamente por personal de laboratorio con la formación adecuada.

Preparación de los frascos

NOTA: Debe procurarse evitar la contaminación durante la preparación del frasco y la inoculación de la muestra del paciente.

Antes de su uso, deben examinarse los frascos de cultivo BacT/ALERT MB en busca de signos de daños o deterioro (cambio de coloración). Los frascos que muestren signos de daños, fuga o deterioro deben desecharse. Los medios de cultivo contenidos en frascos no alterados deben estar transparentes. No utilizar frascos en los que el medio de cultivo esté turbio, el sensor esté de color amarillo o la presión de gas sea excesiva, ya que todos ellos son signos de posible contaminación. Examinar también todos los viales de líquido de enriquecimiento MB/BacT en busca de signos de daños o contaminación. No utilizar los viales de líquido de enriquecimiento MB/BacT cuyo contenido esté turbio.

1. Etiquetar el frasco de cultivo con la información del paciente. El usuario puede definir los iconos de la etiqueta que aparecen en la etiqueta del frasco (☑, #, ⊗).
2. Retirar la tapa levadiza de plástico del frasco de cultivo y desinfectar con una gasa impregnada en alcohol o su equivalente. Dejar secar al aire.
3. El líquido de enriquecimiento se suministra por separado y debe añadirse al frasco de hemocultivo para el crecimiento de micobacterias. Esta adición puede realizarse en las 24 horas siguientes a la inoculación de la muestra; si la inoculación de la muestra se realiza a la cabecera del paciente, el líquido de enriquecimiento puede añadirse después de recibir los viales inoculados en el laboratorio.

- Retirar la tapa levadiza de plástico del vial de líquido de enriquecimiento y desinfectar con una gasa impregnada en alcohol o su equivalente. Dejar secar al aire.
- Añadir mediante una técnica aséptica 1 ml de líquido de enriquecimiento a cada frasco de cultivo BacT/ALERT MB.
- Debe utilizarse una técnica aséptica metuculosa para evitar la contaminación del líquido de enriquecimiento y del medio del frasco de cultivo.

NOTA: Si el líquido de enriquecimiento se añade después de la inoculación de la muestra de sangre, este paso debe llevarse a cabo en una cabina de seguridad biológica usando ropa de protección adecuada conforme a las normas de seguridad establecidas por los CDC/NIH para las directrices de nivel 3 de seguridad biológica². Utilizar una jeringa nueva para cada frasco que contenga sangre para evitar una contaminación cruzada.

Procedimiento de inoculación directa

1. Antes de la inoculación, desinfectar el frasco de cultivo BacT/ALERT MB con una gasa impregnada en alcohol o su equivalente. Dejar secar al aire.
2. Recoger la sangre utilizando un equipo de mariposa y la tapa adaptadora para recogida de sangre BacT/ALERT e inocular directamente en el frasco de cultivo BacT/ALERT MB a la cabecera del paciente (3-5 ml por frasco). Para evitar una inoculación excesiva, vigilar el volumen de sangre que entra en el frasco de cultivo utilizando las marcas incrementales de 5 ml de la etiqueta del frasco.
3. Después de la inoculación, limpiar los tapones de los frascos con una gasa impregnada en Amphyll® al 2% u otro agente micobactericida y dejar secar al aire.
4. Transferir rápidamente el frasco de cultivo inoculado al laboratorio de análisis.

Procedimiento de inoculación con un tubo de recogida de sangre

1. La sangre también puede recogerse en un tubo estéril con SPS o heparina e inocularse en el frasco de cultivo BacT/ALERT MB en el laboratorio. No se requiere un procesamiento previo de la muestra. La sangre recogida en EDTA es inaceptable, ya que inhibe el crecimiento micobacteriano incluso en cantidades mínimas.
2. Desinfectar la tapa del tubo de recogida de sangre y la tapa del frasco de cultivo BacT/ALERT MB con una gasa impregnada en alcohol o su equivalente. Dejar secar al aire los tapones de goma antes de inocular la muestra de sangre.
3. Utilizando una técnica aséptica, extraer 3-5 ml del tubo de recogida con una jeringa estéril e inocular en el frasco de cultivo.
4. Después de la inoculación, limpiar las tapas de los frascos con una gasa impregnada en Amphyll® al 2% u otro agente micobactericida y dejar secar al aire.

INCUBACIÓN Y CONTROL

PRECAUCIÓN: Deben tomarse precauciones generales al subcultivar los frascos de cultivo positivos, ya que podrían haberse llenado excesivamente o contener microorganismos productores de cantidades grandes de gas. El contenido de los frascos de cultivo positivos podría encontrarse a una presión interna mayor. Es preciso ventilar momentáneamente los frascos de cultivo positivos antes de taparlos o desecharlos a fin de liberar el gas que pueda haberse generado durante el metabolismo microbiano.

1. Cargar los frascos de cultivo BacT/ALERT MB inoculados en el sistema de detección de micobacterias MB/BacT (sin agitación) o en el sistema de detección de microorganismos BacT/ALERT (con agitación) conforme a las instrucciones provistas en el manual del usuario.
2. Una vez cargados en el instrumento, los frascos de cultivo BacT/ALERT MB deben permanecer en él durante al menos 42 días o hasta que se los designe como positivos.

Los siguientes procedimientos requieren el uso de prácticas, equipo de contención e instalaciones de nivel 3 de seguridad biológica².

3. Cuando el instrumento indique que una celda concreta contiene un frasco positivo, retirar el frasco conforme a los procedimientos indicados en el manual del usuario.
4. Deben efectuarse baciloscopia y subcultivos para bacilos acidoresistentes de todos los frascos designados como positivos. En una cabina de seguridad biológica, mezclar el contenido del frasco, desinfectar el tapón del frasco con una gasa impregnada en alcohol o su equivalente y dejar secar al aire. Extraer la muestra para tinción acidoresistente y subcultivo utilizando una jeringa y una aguja. Desinfectar el tapón del frasco con un agente micobactericida después del subcultivo. Si la tinción acidoresistente es positiva, realizar los procedimientos de identificación específica de micobacterias que utilice el centro. Si la baciloscopia es negativa para bacilos acidoresistentes pero revela la presencia de otros microorganismos, debe realizarse una tinción de Gram. Si la baciloscopia para bacilos acidoresistentes y la tinción de Gram son negativas, lo cual indica un posible resultado falsamente positivo, debe volver a colocarse el frasco en el instrumento hasta que se detecte crecimiento del subcultivo o hasta que sea redesignado como positivo o negativo. Los cultivos que inicialmente produjeron resultados falsamente positivos y que fueron redesignados como positivos deben someterse a baciloscopia y subcultivo.
5. Si se observan microorganismos no micobacterianos en la tinción de Gram, puede obtenerse otra muestra para cultivo si se desea. También debe considerarse la posibilidad de una septicemia bacteriana.
6. Los cultivos negativos se pueden comprobar mediante baciloscopia y/o subcultivo en algún momento antes de desecharlos como negativos.
7. **No reutilizar los frascos de cultivo BacT/ALERT.** Desechar los frascos de cultivo BacT/ALERT inoculados conforme al protocolo del laboratorio. Los frascos BacT/ALERT inoculados pueden procesarse en autoclave o incinerarse².

RESULTADOS COMUNICADOS

Resultados	Informe
Señal +, baciloscopia para BAAR +	BAAR positivo; pendiente de identificación
Señal +, baciloscopia para BAAR –, tinción de Gram +	Sin informe; o muestra contaminada con microorganismos no micobacterianos; no se puede determinar la presencia/ausencia de BAAR
Señal +, baciloscopia para BAAR –, tinción de Gram –	Sin informe. Subcultivar para determinar un posible resultado falsamente positivo.

CONTROL DE CALIDAD

Con cada caja de frascos de cultivo BacT/ALERT MB se proporciona un certificado de conformidad en el que se indica el rendimiento del crecimiento satisfactorio de *M. avium* ATCC 25291 y *M. intracellulare* ATCC 13950. Tras su recepción, puede realizarse un análisis de control de calidad de los lotes o envíos nuevos de reactivos o frascos de cultivo BacT/ALERT MB. En la norma CLSI/NCCLS M22-A3 se indican los microorganismos de control de calidad adecuados. Debe seguirse el procedimiento de preparación e inoculación del frasco:

- Añadir 1,0 ml de líquido de enriquecimiento MB/BacT a cada frasco de cultivo BacT/ALERT MB necesario para el análisis.
- Inocular frascos representativos con 5,0 ml de microorganismos de control, diluidos a 10^3 UFC/ml en sangre de carnero desfibrinada estéril. Subcultivar en placas de Middlebrook 7H11 para determinar la viabilidad y el recuento.
- Si se obtienen los resultados previstos, utilizar los frascos restantes para el análisis de muestras clínicas. Si no se obtienen los resultados previstos, contactar con el servicio de atención al cliente de bioMérieux.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

Existen muchas variables implicadas en el análisis micobacteriano que no pueden controlarse en la práctica para proporcionar una confianza total de que los resultados obtenidos se deban exclusivamente a un rendimiento apropiado o inapropiado de un sistema de detección o de un medio de cultivo concreto.

- Los cultivos obtenidos para diagnóstico primario después del inicio del tratamiento pueden producir resultados negativos.
- La recuperación de micobacterias en los frascos de cultivo BacT/ALERT MB depende de la calidad de la muestra recogida y del número de microorganismos cultivables presentes en el volumen de la muestra. Dado que el medio de cultivo no es selectivo y que no contiene antibióticos, cualquier microorganismo presente podría crecer en el medio de cultivo.
- En raras ocasiones pueden producirse resultados positivos en los frascos de cultivo BacT/ALERT MB debido a la presencia de un número muy alto de leucocitos en la muestra de sangre. Esta situación dará lugar a muestras de baciloscopia y de subcultivo negativas.
- Los microorganismos a menudo están presentes en un número bajo. Generalmente se recomienda la recogida de muestras durante tres días consecutivos.
- La morfología y la pigmentación de las colonias sólo debe determinarse en medios de cultivo sólidos.
- Los frascos de cultivo BacT/ALERT MB con una señal positiva pueden contener una o más especies de micobacterias y otras especies no micobacterianas. En los cultivos micobacterianos mixtos en caldos, un microorganismo de crecimiento lento puede ser superado competitivamente por un microorganismo de crecimiento rápido, o puede haberse desechado el cultivo poco después de la detección del microorganismo de crecimiento rápido. La identificación de las micobacterias presentes requiere un subcultivo y procedimientos adicionales para identificar los microorganismos presentes. No se ha determinado la uniformidad de la morfología microscópica en los frascos de cultivo BacT/ALERT.
- La acidoresistencia de las micobacterias puede variar dependiendo de la cepa, la antigüedad del cultivo y otras variables. Todos los frascos con una señal positiva del instrumento deben subcultivarse en medios de cultivo micobacterianos selectivos y no selectivos. Puede producirse el sobrecrecimiento de microorganismos no micobacterianos sobre las micobacterias presentes.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO: MB/BacT (SIN AGITACIÓN)

Se realizaron estudios internos de siembra en un instrumento MB/BacT (sin agitación) utilizando los siguientes microorganismos de estudio a niveles de ≤ 10 UFC/frasco y ≤ 100 UFC/frasco en sangre humana de una población adulta sana.

Resultados de los frascos de cultivo BacT/ALERT MB en el instrumento MB/BacT (sin agitación)

Micobacteria	Inóculo (UFC/frasco)	Tiempo de detección (días) ¹ BacT/ALERT [®] MB
Complejo TB		
<i>M. tuberculosis</i> (4 cepas) CDC 18293, CDC 18280 CDC 18283, CDC 18286	≤ 100 ≤ 10 ≤ 100	13,3-27,2 14,3-30,0 ² 14,9-23,8
<i>M. bovis</i> (2 cepas) CDC 423, CDC 8131	≤ 100 ≤ 10	16,2-25,5
Fotocromógenas (Runyon I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834, <i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 100 ≤ 10	10,0-14,6 13,1-39,9
Escotocromógenas (Runyon II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470, <i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 100 ≤ 10	14,4-30,5 17,2-32,6 ²
No cromógenas (Runyon III)		
<i>M. avium</i> (2 cepas) CDC 569, CDC 1155 <i>M. avium</i> (2 cepas) CDC 440, CDC 768 <i>M. intracellulare</i> (4 cepas) CDC 403, VA 5, CDC 644, CDC 1406	≤ 100 ≤ 10 ≤ 100 ≤ 10 ≤ 100 ≤ 10	10,4-12,5 13,8-14,8 9,2-13,6 ³ 10,9 ³ -15,7 8,5-12,1 11,0-12,9
Micobacterias de crecimiento rápido (Runyon IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100 ≤ 10	2,2-2,3 2,6-3,2

¹ Se analizó cada microorganismo por triplicado y se obtuvieron las medias salvo que se indique lo contrario. Los valores mostrados son las medias de las series.

² Uno de tres frascos no mostró crecimiento; el valor mostrado es la media de dos frascos.

³ Uno de tres frascos estaba contaminado; el valor mostrado es la media de dos frascos.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO: BacT/ALERT (CON AGITACIÓN)

Se realizaron estudios internos de siembra utilizando los siguientes microorganismos de estudio a niveles de ≤ 10 UFC/frasco y ≤ 100 UFC/frasco en sangre humana de una población adulta sana.

Resultados de los frascos de cultivo BacT/ALERT MB en el instrumento BacT/ALERT (con agitación)

Micobacteria	Inóculo (UFC/frasco)	Tiempo de detección (días) ¹ BacT/ALERT [®] MB
Complejo TB		
<i>M. tuberculosis</i> (3 cepas) CDC 18292, CDC 18280, CDC 18286 <i>M. tuberculosis</i> CDC 18283	≤ 100 ≤ 10 ≤ 100 ≤ 10	14,1-16,7 14,6-18,4 10,6 13,2 ²
<i>M. bovis</i> CDC 423	≤ 100 ≤ 10	19,8 23,2
<i>M. bovis</i> CDC 8131	≤ 100 ≤ 10	19,7 NG ⁴
Fotocromógenas (Runyon I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834, <i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 100 ≤ 10	7,9-14,4 ² 8,9-16,8 ²
Escotocromógenas (Runyon II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470, <i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 100 ≤ 10	17,8-37,2 21,3-43,2 ³
No cromógenas (Runyon III)		
<i>M. avium</i> (3 cepas) CDC 569, CDC 768, CDC 1155 <i>M. avium</i> CDC 440	≤ 100 ≤ 10 ≤ 100 ≤ 10	7,5-11,5 8,5-11,8 8,4 9,3 ²
<i>M. intracellulare</i> (4 cepas) CDC 403, VA 5, CDC 644, CDC 1406	≤ 100 ≤ 10	9,0-11,6 9,9-13,1
Micobacterias de crecimiento rápido (Runyon IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100 ≤ 10	2,1 2,3

¹ Se analizó cada microorganismo por triplicado y se obtuvieron las medias. Los valores mostrados son un intervalo de estas medias, salvo en los casos de *M. bovis*, *M. tuberculosis* CDC 18283 y *M. avium* CDC 440, para los que sólo se muestra la media.

² Uno de tres frascos estaba contaminado; el valor mostrado es la media de dos frascos.

³ Uno de tres frascos no mostró crecimiento; el valor mostrado es la media de dos frascos.



NOTA: Puede solicitarse a bioMérieux una lista de microorganismos raros y exigentes recuperados con los frascos de cultivo BacT/ALERT[®].

BIBLIOGRAFÍA

- Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/ALERT: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Micro* 1990; 28(7): 1608-1612.
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
- Metchock B, Nolte FS, Wallace Jr RJ: Mycobacterium, in Murray PR, (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, ed 7. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1999, pp 399-437.
- Rare Organism Club, bioMérieux, Inc., 2007.

DISPONIBILIDAD

bioMérieux


BacT/ALERT[®] MB 25/caja  251011
MB/BacT[®] Enrichment Fluid 5 viales/caja  259877

Para obtener asistencia técnica en Estados Unidos, póngase en contacto con el Servicio técnico de bioMérieux en el número de teléfono 1-800-682-2666. Fuera de Estados Unidos, póngase en contacto con el representante local de bioMérieux.

bioMérieux, el logotipo azul, BacT/ALERT y MB/BacT son marcas comerciales utilizadas, en trámite y/o registradas de bioMérieux SA o de una de sus filiales.

Amphyl es una marca registrada de Linden Corporation.

ATCC es una marca registrada de la American Type Culture Collection.

 bioMérieux, Inc.
Box 15969
Durham, North Carolina 27704-0969



bioMérieux, S.A.
69280 Marcy-l'Étoile France
www.biomerieux.com

©BIOMÉRIEUX 2000, 2004, 2007, 2008

Julio de 2008

BacT/ALERT® MB

43-02494

FRANÇAIS

SECTION MISE À JOUR

Conserver les flacons de culture BacT/ALERT® MB et la solution d’enrichissement MB/BacT® Enrichment Fluid entre 15 et 30 °C. Protéger de la lumière directe du soleil.

Se reporter au glossaire des symboles en fin de notice.

APPLICATION

Les flacons de culture BacT/ALERT MB, auxquels est ajoutée la solution d’enrichissement MB/BacT, sont un milieu de culture non-sélectif pour la culture qualitative et l'isolement des mycobactéries dans les échantillons sanguins lorsqu'ils sont utilisés avec le système de détection des mycobactéries MB/BacT® (sans agitation) et le système de détection des mycobactéries BacT/ALERT® (avec agitation).

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Les flacons de culture BacT/ALERT MB combinés à la solution d’enrichissement MB/BacT sont conçus pour la culture de *Mycobacterium sp.* habituellement isolée à partir du sang. Le milieu prend en charge la croissance d'autres organismes aérobies tels que la levure, les champignons et les bactéries. Ce système complet inclut un agent lytique (saponine), du polyéthanol-sulfonate de sodium (SPS) et d'autres suppléments de milieux qui éliminent l'étape de traitement, empêchent la coagulation du sang et favorisent la croissance des mycobactéries. Un volume sanguin de 3 ml à 5 ml peut être inoculé directement dans le flacon de culture. Les flacons inoculés sont placés dans l'instrument où ils sont incubés (35 °C à 37 °C) et suivis en continu pour la croissance microbienne.

PRINCIPE DU TEST

Le système de détection des mycobactéries MB/BacT et les systèmes de détection microbienne BacT/ALERT reposent sur un détecteur colorimétrique et sur la lumière réfléchiée pour évaluer la présence et la quantité de dioxyde de carbone (CO₂) dissous dans le milieu de culture.¹ Si des microorganismes sont présents dans l'échantillon testé, du dioxyde de carbone est produit au fur et à mesure que les organismes métabolisent les substrats dans le milieu de culture. Lorsque la croissance des microorganismes produit du CO₂, la couleur du détecteur perméable aux gaz installé au fond de chaque flacon de culture passe du bleu-vert au jaune. La couleur plus claire entraîne une augmentation des unités de réflectance suivies par le système. La réflectance des flacons est suivie et enregistrée par l'instrument toutes les 10 minutes.

RÉACTIFS

Pour usage diagnostique *in vitro*.

AVERTISSEMENT : Pour réduire les risques d'exposition accidentelle aux agents infectieux, des précautions supplémentaires doivent être prises en utilisant le flacon de culture BacT/ALERT MB dans le système de détection microbienne BacT/ALERT. Il est vivement recommandé de placer l'instrument dans un laboratoire servant pour la culture systématique de *M. tuberculosis*. Pour les activités impliquant la multiplication et la manipulation de *M. tuberculosis* ou d'espèces du genre *Mycobacterium* en culture, le recours à des pratiques de niveau 3 en matière de sécurité biologique, à du matériel et des installations de confinement est préconisé.²

PRÉCAUTION : Manipuler les échantillons et les flacons de culture inoculés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Tous les flacons de culture inoculés, les aiguilles de prélèvement d'échantillons et les systèmes de prélèvement du sang doivent être décontaminés conformément aux procédures en vigueur dans l'établissement.³

BacT/ALERT® MB

BacT/ALERT MB (code de couleur noir) – Les flacons de culture stériles à usage unique BacT/ALERT MB contiennent 29 ml de milieu et un détecteur de dioxyde de carbone interne qui sert d'indicateur de la croissance microbienne. La formulation du milieu est la suivante : milieu liquide Middlebrook 7H9 (0,47 % m/v), hydrolysât pancréatique de caséine (0,1 % m/v), de glycérol (1,0 % m/v), de polyéthanol-sulfonate de sodium (0,025 % m/v) dans de l'eau purifiée. Les flacons arbitrent une atmosphère de CO₂ dans l'oxygène et l'azote, sous vide. La composition des milieux peut être ajustée pour répondre à des exigences de performances spécifiques.

PRÉCAUTION : Les flacons de culture BacT/ALERT MB sont incubés à 37 °C ce qui empêche potentiellement l'isolement des mycobactéries exigeant d'autres températures d'incubation (p. ex. *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). Les isolats suivants ont été détectés positifs dans l'instrument MB/BacT (sans agitation) et dans l'instrument BacT/ALERT (avec agitation), avec le flacon de culture BacT/ALERT MB pendant des études internes : *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. bovis*, *M. gordonae* et *M. simiae*.

PRÉCAUTION : Il est possible que certaines mycobactéries rares et exigeantes ne se développent pas ou se développent lentement dans le milieu du flacon de culture BacT/ALERT MB. Si des mycobactéries rares et exigeantes nécessitant des conditions de culture et des milieux spécialisés sont suspectées, il faut envisager d'autres méthodes d'isolement ou prolonger la durée d'incubation.

PRÉCAUTION : Plus rarement, il est possible que des organismes se développent dans le milieu du flacon de culture BacT/ALERT MB, mais ne produisent pas suffisamment de dioxyde de carbone pour que la réaction soit déterminée positive. Par exemple, les échantillons provenant de patients sous traitement antimycobactérien peuvent présenter une croissance altérée.

MB/BacT® Enrichment Fluid

Les flacons de solution MB/BacT® Enrichment Fluid contiennent un volume total de 5,5 ml chacun. La solution d'enrichissement MB/BacT contient de l'albumine sérique bovine (14,5 % m/v), du chlorure de sodium (2,05 % m/v), de l'acide oléique (0,174 % m/v), de la saponine (4,4 % m/v) dans de l'eau purifiée.

Autre matériel nécessaire

Système de détection des mycobactéries MB/BacT ou système de détection microbienne BacT/ALERT

Middlebrook 7H11 ou autre milieu de culture de mycobactéries ou milieu à l'œuf

Incubateur à CO₂, 37 °C ± 2 °C

Aiguilles et seringues stériles

Désinfectant mycobactéricide

Dispositif de prélèvement sanguin

Local de sécurité biologique

Gants stériles à usage unique

Blouses à usage unique

Masques à usage unique

Récepteurs pour déchets à risque biologique, adaptés aux matériaux potentiellement contaminés par des agents infectieux

Organismes de contrôle de qualité

Matériel disponible auprès de bioMérieux

Système de détection des mycobactéries MB/BacT et systèmes de détection microbienne BacT/ALERT

Conservation

Conserver les flacons de culture BacT/ALERT MB et de solution d'enrichissement MB/BacT à température ambiante (15 à 30 °C). Protéger de la lumière directe du soleil. Une date de péremption figure sur l'étiquette de chaque flacon. Ne pas utiliser les flacons de culture BacT/ALERT MB ou les flacons de solution d'enrichissement au-delà du dernier jour du mois indiqué. Porter les flacons à température ambiante avant utilisation.

APPAREILS

Avant l'emploi, consulter le manuel d'utilisation du système de détection microbienne BacT/ALERT approprié.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

La méthode de prélèvement est extrêmement importante pour les échantillons destinés à l'hémoculture. Les procédures de transport et de prélèvement appropriées pour les échantillons sont décrites dans le manuel de microbiologie clinique.³ Il est indispensable de bien désinfecter la peau pour réduire le risque de contamination.

bioMérieux recommande de placer les flacons de culture inoculés dans le système de détection microbienne BacT/ALERT dès que possible après le prélèvement. Les flacons de culture inoculés dont l'entrée est différenciée doivent être maintenus à température ambiante jusqu'à leur chargement dans l'incubateur.

PROCÉDURE DE TEST AVEC UN FLACON DE CULTURE BacT/ALERT MB

Remarques préliminaires et précautions

- ÉCHANTILLONS CLINIQUES POTENTIELLEMENT INFECTIEUX. Respecter les précautions universelles lors de la manipulation et de l'élimination de produits infectieux. Manipuler les échantillons et les cultures inoculées comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux.
- Pour réduire le risques de fuite lors de l'inoculation de l'échantillon dans les flacons de culture, utiliser des seringues munies d'aiguilles fixes.
- Tous les flacons de culture inoculés, les aiguilles de prélèvement d'échantillons et les systèmes de prélèvement du sang doivent être décontaminés conformément aux procédures en vigueur dans l'établissement.²
- Toujours transporter les flacons de culture inoculés dans un bloc ou dans un panier. En cas d'écoulement ou de bris des flacons, un aérosol de mycobactéries (y compris *M. tuberculosis*) ou d'autres bactéries risque de se produire. Respecter les directives de sécurité de l'établissement et du CDC/NIH.² Depuis l'apparition du syndrome d'immunodéficience acquise/virus de l'immunodéficience humaine, les mycobactériémies provoquées par *M. tuberculosis* se produisent plus fréquemment et le sang est désormais une source de transmission potentielle en laboratoire.²
- La manipulation du complexe *M. tuberculosis* en culture nécessite le recours à des pratiques de niveau 3 en matière de sécurité biologique, à un matériel et à des installations de confinement.²
- Veiller à éviter toute contamination pendant la préparation du flacon, le prélèvement et l'inoculation de l'échantillon patient dans le flacon de culture BacT/ALERT MB.
- La solution d'enrichissement MB/BacT contient des composants nécessaires pour assurer une croissance optimale des mycobactéries et un agent lytique destiné à la lyse des cellules sanguines. Ce produit doit être ajouté à tous les flacons de culture BacT/ALERT MB.
- La solution d'enrichissement MB/BacT peut être ajoutée jusqu'à 24 heures avant ou après l'inoculation du flacon avec l'échantillon sanguin. Respecter les pratiques de niveau 3 en matière de sécurité biologique si la solution d'enrichissement est ajoutée après l'inoculation du sang.²
- Ces flacons de culture doivent être utilisés uniquement par des techniciens de laboratoire spécialement formés.

Préparation du flacon

REMARQUE : Prendre soin de ne pas contaminer l'échantillon patient lors de la préparation et de l'inoculation des flacons.

Avant l'emploi, vérifier l'absence de dégâts ou de signes de détérioration des flacons de culture BacT/ALERT MB (décoloration). Les flacons montrant des traces de dommage, de fuite ou de détérioration doivent être mis au rebut. Les milieux dans les flacons non perturbés doivent être transparents. Ne pas utiliser de flacon contenant un milieu présentant un trouble, un détecteur jaune ou une pression gazeuse excessive, car cela témoigne d'une possible contamination. Inspecter également tous les flacons de solution d'enrichissement MB/BacT pour vérifier l'absence de dommage ou de contamination. Ne pas utiliser les flacons de solution d'enrichissement MB/BacT montrant un trouble.

- Étiqueter le flacon de culture en indiquant les informations patient. Les icônes de l'étiquette du flacon (☹, #, ⊕) peuvent être définies par l'utilisateur.
- Retirer la capsule en plastique du flacon de culture et désinfecter avec un écouvillon imprégné d'alcool ou équivalent. Laisser sécher à l'air libre.
- La solution d'enrichissement est fournie séparément et doit être ajoutée au flacon d'hémoculture pour la croissance des mycobactéries. La solution d'enrichissement peut être ajoutée dans les 24 heures suivant l'inoculation de l'échantillon ou, si l'inoculation de l'échantillon est effectuée au chevet du patient, la solution peut être ajoutée après la réception des flacons inoculés en laboratoire.
 - Retirer la capsule en plastique du flacon de solution d'enrichissement et désinfecter avec un écouvillon imprégné d'alcool ou équivalent. Laisser sécher à l'air libre.
 - Ajouter stérilement 1 ml de solution d'enrichissement à chaque flacon de culture BacT/ALERT MB.
 - Employer une technique aseptique judicieuse pour éviter la contamination de la solution d'enrichissement et du milieu dans le flacon de culture.

REMARQUE : Si la solution d'enrichissement est ajoutée après l'inoculation de l'échantillon sanguin, l'opérateur doit effectuer cette étape dans un local de sécurité biologique en portant les vêtements de protection appropriés conformément aux normes de sécurité définies par le CDC/NIH quant aux directives de niveau 3 en matière de sécurité biologique.² Pour éviter une contamination croisée, utiliser une seringue neuve avec chaque flacon contenant du sang.

Procédure d'inoculation par prélèvement direct

- Avant l'inoculation, désinfecter le capuchon du flacon de culture BacT/ALERT MB à l'aide d'un écouvillon imprégné d'alcool ou équivalent. Laisser sécher à l'air libre.
- Prélever le sang en utilisant un jeu d'aiguilles à ailettes et l'adaptateur pour prélèvement de sang BacT/ALERT et inoculer directement dans le flacon de culture BacT/ALERT MB au chevet du patient (3 à 5 ml par flacon). Pour éviter une surinoculation, surveiller le volume sanguin admis dans le flacon de culture en s'aidant des repères à incréments de 5 ml sur l'étiquette du flacon.
- Après l'inoculation, tamponner les capuchons des flacons avec de la gaze imprégnée d'AmphyI® à 2 % ou d'un autre agent mycobactériocide et laisser sécher à l'air libre.
- Transférer immédiatement les flacons de culture inoculés au laboratoire microbiologique.

Procédure d'inoculation des tubes de prélèvement sanguin

- Le sang peut également prélevé dans un tube hépariné ou SPS stérile et inoculé dans le flacon de culture BacT/ALERT MB en laboratoire. Aucun traitement préalable de l'échantillon n'est requis. Le sang prélevé dans l'EDTA est inacceptable car l'EDTA inhibe la croissance mycobactérienne même en quantités infinitésimales.
- Désinfecter le capuchon du tube de prélèvement sanguin et du flacon de culture BacT/ALERT MB à l'aide d'un écouvillon imprégné d'alcool ou équivalent. Laisser le septum sécher à l'air libre avant l'inoculation de l'échantillon sanguin.
- En utilisant une technique aseptique, retirer 3 à 5 ml du tube de prélèvement à l'aide d'une seringue stérile et inoculer dans le flacon de culture.
- Après l'inoculation, tamponner les capuchons des flacons avec de la gaze imprégnée d'AmphyI® à 2 % ou d'un autre agent mycobactériocide et laisser sécher à l'air libre.

INCUBATION ET SUIVI

PRÉCAUTION : Des précautions s'imposent lors du repiquage des flacons de culture positifs car ceux-ci peuvent présenter un trop-plein ou contenir des organismes dégageant une quantité importante de gaz. Le contenu des flacons de culture positifs peut être soumis à une pression interne accrue. Ventiler temporairement les flacons de culture positifs avant la coloration ou l'élimination pour libérer le gaz produit par le métabolisme microbien.

- Charger les flacons de culture inoculés BacT/ALERT MB dans le système de détection de mycobactéries MB/BacT (sans agitation) ou dans le système de détection des mycobactéries BacT/ALERT (avec agitation) en respectant les instructions du manuel d'utilisation.
- Une fois chargés dans l'instrument, les flacons de culture BacT/ALERT MB doivent y rester pendant au moins 42 jours ou dès qu'ils ont été déterminés positifs.

Les procédures suivantes exigent d'appliquer les pratiques de niveau 3 en matière de sécurité biologique et d'utiliser le matériel et les installations de confinement.²

- Lorsque l'instrument indique qu'une cellule contient un flacon positif, retirer le flacon conformément aux procédures fournies dans le manuel d'utilisation.
- Étaler et repiquer tous les flacons déterminés positifs pour la détection de bacilles acido-alcoolo-résistants. Dans un local de sécurité biologique, mélanger le contenu du flacon, désinfecter le bouchon du flacon à l'aide d'un écouvillon imprégné d'alcool ou équivalent, et laisser sécher à l'air libre. Prélever l'échantillon destiné à la coloration acido-alcoolo-résistante et au repiquage en utilisant une seringue et une aiguille. Désinfecter le bouchon du flacon à l'aide d'un agent mycobactériocide après le repiquage. Si l'étalement acido-alcoolo-résistant se révèle positif, passer aux procédures spécifiques d'identification des mycobactéries mises en œuvre par le laboratoire. Si l'étalement est négatif pour le bacille acido-alcoolo-résistant mais révèle la présence d'autres microorganismes, une coloration de Gram doit être effectuée. Si l'étalement acido-alcoolo-résistant et la coloration de Gram sont tous deux négatifs, ce qui indique la possibilité d'un faux positif, recharger le flacon dans l'instrument jusqu'à l'obtention d'une croissance du repiquage ou d'un reclassement en tant que positif ou négatif. Étaler et repiquer les cultures initialement déterminées fausses positives puis reclassées positives.
- Si les organismes non-mycobactériens sont observés sur la coloration de Gram, un autre échantillon de culture peut être obtenu le cas échéant. La possibilité d'une septïcémie bactérienne doit également être envisagée.
- Les cultures négatives peuvent être vérifiées par étalement et/ou repiquage avant leur élimination en tant que cultures négatives.
- Ne pas réutiliser les flacons de culture BacT/ALERT.** Éliminer les flacons de culture BacT/ALERT inoculés conformément au protocole du laboratoire. L'autoclavage et/ou l'incinération des flacons BacT/ALERT inoculés est adéquat.²

RAPPORTS DES RÉSULTATS

Résultats	Rapport
Signal +, étalement AFB +	AFB positif ; en instance d'identification
Signal +, étalement AFB -, coloration de Gram +	Pas de rapport ; ou échantillon contaminé par des organismes non-mycobactériens ; impossible de déterminer la présence/absence d'AFB
Signal +, étalement AFB -, coloration de Gram -	Pas de rapport. Repiquer pour déterminer les faux positifs éventuels

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Un Certificat de conformité est fourni avec chaque carton de flacons de culture BacT/ALERT MB indiquant une croissance satisfaisante de *M. avium* ATCC 25291 et de *M. intracellulare* ATCC 13950. Dès réception, un contrôle de qualité des nouveaux lots de réactifs ou de flacons de culture BacT/ALERT MB peut être effectué. Se reporter au document M22-A3 du CLSI/NCCLS pour connaître les organismes de contrôle de qualité appropriés. Suivre la procédure d'inoculation et de préparation des flacons :

- Ajouter 1,0 ml de solution d'enrichissement MB/BacT à chaque flacon de culture BacT/ALERT MB nécessaire pour le test.
- Inoculer dans les flacons représentatifs de 5,0 ml des organismes de contrôle dilués dans 10³ UFC/ml de sang de mouton stérile et défibriné. Repiquer sur des boîtes Middlebrook 7H11 pour déterminer la viabilité et la numération.
- Si les résultats obtenus correspondent aux résultats attendus, utiliser les flacons restants pour tester les échantillons cliniques. Si les résultats obtenus diffèrent des résultats attendus, contacter le service client de bioMérieux.

LIMITES DU TEST

En pratique, les nombreux paramètres intervenant dans le dépistage des mycobactéries ne permettent pas d'affirmer avec certitude que les résultats obtenus sont dus uniquement aux qualités propres d'un milieu de culture ou d'un système de détection.

- Les cultures obtenues dans le cadre d'un diagnostic primaire faisant suite à un traitement récemment débuté peuvent produire des résultats négatifs.
- L'isolement des mycobactéries dans les flacons de culture BacT/ALERT MB est fonction de la qualité de l'échantillon prélevé et du nombre d'organismes cultivables présents dans le volume d'échantillon. Comme le milieu n'est pas sélectif et ne contient pas d'antibiotiques, il est susceptible de favoriser la croissance des microorganismes présents.
- Plus rarement, la présence de leucocytes en très grand nombre dans l'échantillon sanguin peut entraîner des résultats positifs avec le flacon de culture BacT/ALERT MB. Ces échantillons seront déterminés négatifs par repiquage ou étalement.
- Les organismes sont souvent très peu nombreux. Il est généralement recommandé de prélever des échantillons sur une période de trois jours consécutifs.
- La morphologie et la pigmentation des colonies ne doivent être déterminées que sur milieu solide.
- Les flacons de culture BacT/ALERT MB signalés positifs peuvent contenir une ou plusieurs espèces de mycobactéries et/ou d'autres espèces non-mycobactériennes. Dans les cultures mycobactériennes mixtes en milieu liquide, un microorganisme à croissance lente peut être devancé par un microorganisme à croissance rapide, ou la culture peut être mise au rebut dès que le microorganisme à croissance rapide est détecté. L'identification des mycobactéries présentes nécessite un repiquage ainsi que la mise en œuvre de procédures supplémentaires d'identification des organismes présents. La constance de la morphologie microscopique dans le flacon de culture BacT/ALERT n'a pas été établie.
- Les mycobactéries peuvent avoir une acido-alcool-résistance différente selon la souche, l'âge de la culture et d'autres paramètres. Tous les flacons avec un signal positif de l'instrument doivent être repiqués sur les milieux mycobactériens sélectifs et non-sélectifs. Les non-mycobactéries peuvent se multiplier plus rapidement que les mycobactéries présentes.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE – MB/BacT (SANS AGITATION)

Des études internes d'ensemencement ont été effectuées dans un instrument MB/BacT (sans agitation) en utilisant les organismes testés suivants à des concentrations ≤ 10 UFC/flacon et ≤ 100 UFC/flacon en utilisant du sang humain prélevé chez des donneurs adultes sains.

Résultats de BacT/ALERT MB dans l'instrument MB/BacT (sans agitation)

Mycobactérie	Inoculum (UFC/ flacon)	Temps de détection (en jours) ¹ BacT/ALERT® MB
Complexe TB		
<i>M. tuberculosis</i> (4 souches)		
CDC 18293, CDC 18280	≤ 100	13,3 - 27,2
CDC 18283, CDC 18286	≤ 10	14,3 - 30,0 ²
<i>M. bovis</i> (2 souches)	≤ 100	14,9 - 23,8
CDC 423, CDC 8131	≤ 10	16,2 - 25,5
Photochromogènes (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834,	≤ 100	10,0 - 14,6
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 10	13,1 - 39,9
Scotochromogènes (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470,	≤ 100	14,4 - 30,5
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 10	17,2 - 32,6 ²
Nonchromogènes (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (2 souches)	≤ 100	10,4 - 12,5
CDC 569, CDC 1155	≤ 10	13,8 - 14,8
<i>M. avium</i> (2 souches)	≤ 100	9,2 - 13,6 ³
CDC 440, CDC 768	≤ 10	10,9 ³ - 15,7
<i>M. intracellulare</i> (4 souches)		
CDC 403, VA 5,	≤ 100	8,5 - 12,1
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	11,0 - 12,9
Bactéries à croissance rapide (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100	2,2 - 2,3
	≤ 10	2,6 - 3,2

¹Chaque organisme a été testé en triple et les moyennes ont été calculées sauf mention contraire. Les valeurs obtenues sont les moyennes des répliqués.

²L'un des trois flacons n'a présenté aucune croissance ; la valeur indiquée est la moyenne des valeurs des deux autres flacons.

³L'un des trois flacons est contaminé ; la valeur indiquée est la moyenne des valeurs des deux autres flacons.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE – BacT/ALERT (AVEC AGITATION)

Des études internes d'ensemencement ont été effectuées en utilisant les organismes testés suivants à des concentrations ≤ 100 UFC/flacon et ≤ 10 UFC/flacon en utilisant du sang humain prélevé chez des donneurs adultes sains.

Résultats de BacT/ALERT MB dans l'instrument BacT/ALERT (avec agitation)

Mycobactérie	Inoculum (UFC/ flacon)	Temps de détection (en jours) ¹ BacT/ALERT® MB
Complexe TB		
<i>M. tuberculosis</i> (3 souches)		
CDC 18292, CDC 18280,	≤ 100	14,1 - 16,7
CDC 18286	≤ 10	14,6 - 18,4
<i>M. tuberculosis</i> CDC 18283	≤ 100	10,6
	≤ 10	13,2 ²
<i>M. bovis</i> CDC 423	≤ 100	19,8
	≤ 10	23,2
<i>M. bovis</i> CDC 8131	≤ 100	19,7
	≤ 10	NG ⁴
Photochromogènes (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834,	≤ 100	7,9 - 14,4 ²
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 10	8,9 - 16,8 ²
Scotochromogènes (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470,	≤ 100	17,8 - 37,2
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 10	21,3 - 43,2 ³
Nonchromogènes (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (3 souches)		
CDC 569, CDC 768,	≤ 100	7,5 - 11,5
CDC 1155	≤ 10	8,5 - 11,8
<i>M. avium</i> CDC 440	≤ 100	8,4
	≤ 10	9,3 ²
<i>M. intracellulare</i> (4 souches)		
CDC 403, VA 5,	≤ 100	9,0 - 11,6
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	9,9 - 13,1
Bactéries à croissance rapide (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100	2,1
	≤ 10	2,3

¹ Chaque organisme a été testé en triple et les moyennes ont été calculées. Les valeurs indiquées correspondent à une plage de ces moyennes, sauf *M. bovis*, *M. tuberculosis* CDC 18283 et *M. avium* CDC 440, où seule la moyenne est donnée.

² L'un des trois flacons est contaminé ; la valeur indiquée est la moyenne des valeurs des deux autres flacons.

³ L'un des trois flacons n'a présenté aucune croissance ; la valeur indiquée est la moyenne des valeurs des deux autres flacons.

REMARQUE : La liste des organismes rares et exigeants isolés avec les flacons de culture BacT/ALERT est disponible sur demande auprès de bioMérieux.⁴

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/ALERT: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Micro* 1990; 28(7), 1608-1612.
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
- Metchock B, Nolte FS, Wallace Jr RJ: Mycobacterium, in Murray PR, (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, ed 7. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1999, pp 399-437.
- Rare Organism Club, bioMérieux, Inc., 2007.

CONDITIONNEMENT

bioMérieux

BacT/ALERT® MB 25 par boîte [REF] 251011

MB/BacT® Enrichment Fluid 5 flacons par coffret [REF] 259877

Pour toute assistance technique aux États-Unis, contacter le service clientèle de bioMérieux au +1 800 682 2666. Pour les autres pays, contacter un représentant local de bioMérieux.

bioMérieux, le logo bleu, BacT/ALERT et MB/BacT sont des marques de commerce utilisées, en attente d'homologation et/ou déposées de bioMérieux SA ou de l'une de ses filiales.

Amphyl est une marque déposée de Linden Corporation.

ATCC est une marque déposée de American Type Culture Collection.

bioMérieux, Inc.
Box 15969
Durham, North Carolina 27704-0969



bioMérieux, S.A.
69280 Marcy-l'Étoile France
www.biomerieux.com

©BIOMÉRIEUX 2000, 2004, 2007, 2008

Juillet 2008

LIMITAZIONI DEL TEST

In pratica, non è possibile controllare le numerose variabili implicate nei test per la ricerca dei micobatteri e avere così la certezza assoluta che i risultati ottenuti siano unicamente imputabili a performance corrette o inappropriate di un terreno di coltura o del sistema di rilevazione.

- Le colture ottenute per la diagnosi primaria dopo l'inizio di una terapia possono produrre risultati negativi.
- Il recupero di micobatteri nei flaconi BacT/ALERT MB dipende dalla qualità del campione prelevato e dal numero di microrganismi presenti nel volume del campione. Poiché il terreno non è selettivo e non contiene antibiotici, sullo stesso può crescere qualsiasi microrganismo presente.
- Raramente, è possibile avere flaconi BacT/ALERT MB positivi a causa di un'elevata concentrazione dei globuli bianchi presenti nel campione di sangue. In questo caso, i risultati dello striscio e della subcoltura saranno negativi.
- I microrganismi sono spesso presenti in quantità esigue. Si raccomanda di prelevare i campioni per tre giorni consecutivi.
- La morfologia e la pigmentazione delle colonie dovrebbero essere determinate su terreno solido.
- I flaconi BacT/ALERT MB con un segnale positivo possono contenere una o più specie di micobatteri e/o altre specie diverse dai micobatteri. Nelle colture in brodo di più di una specie di micobatteri, è possibile che una specie a crescita lenta sia mascherata da una specie a crescita rapida oppure che la coltura sia gettata poco dopo la rilevazione della specie a crescita rapida. L'identificazione dei micobatteri presenti richiede una subcoltura e procedure supplementari volte a identificare i microrganismi presenti. La coerenza della morfologia microscopica nei flaconi BacT/ALERT non è stata stabilita.
- La acido-resistenza dei micobatteri può variare in relazione al ceppo, all'età della coltura e ad altri fattori. Tutti i flaconi con un segnale positivo devono essere posti in subcoltura con terreni per micobatteri selettivi e non selettivi. La crescita delle specie diverse dai micobatteri può mascherare quella dei micobatteri presenti.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI – MB/BacT (SENZA AGITAZIONE)

Sono stati condotti studi interni sullo strumento MB/BacT (senza agitazione) con i seguenti microrganismi di test a concentrazioni ≤ 10 CFU/flacone e ≤ 100 CFU/flacone usando sangue umano prelevato da una popolazione adulta sana.

Risultati di BacT/ALERT MB con lo strumento MB/BacT (senza agitazione)

Micobatterio	Inoculo (UCF/flacone)	Tempo di rilevazione (giorni) ¹ BacT/ALERT [®] MB
Complesso TB		
<i>M. tuberculosis</i> (4 ceppi) CDC 18293, CDC 18280 CDC 18283, CDC 18286	≤ 100 ≤ 10 ≤ 100	13,3 – 27,2 14,3 – 30,0 ² 14,9 – 23,8
<i>M. bovis</i> (2 ceppi) CDC 423, CDC 8131	≤ 100 ≤ 10	16,2 – 25,5
Fotocromogeni (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834, <i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 100 ≤ 10	10,0 – 14,6 13,1 – 39,9
Scotocromogeni (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470, <i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 100 ≤ 10	14,4 – 30,5 17,2 – 32,6 ²
Non cromogeni (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (2 ceppi) CDC 569, CDC 1155 <i>M. avium</i> (2 ceppi) CDC 440, CDC 768 <i>M. intracellulare</i> (4 ceppi) CDC 403, VA 5, CDC 644, CDC 1406	≤ 100 ≤ 10 ≤ 100 ≤ 10 ≤ 100 ≤ 10	10,4 – 12,5 13,8 – 14,8 9,2 – 13,6 ³ 10,9 ³ – 15,7 8,5 – 12,1 11,0 – 12,9
Microrganismi a crescita rapida (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100 ≤ 10	2,2 – 2,3 2,6 – 3,2

¹ Ogni microrganismo è stato testato in triplo e sono state ricavate le medie, salvo altrimenti specificato. I valori forniti sono le medie dei replicati.

² Uno dei tre flaconi non ha evidenziato alcuna crescita; il valore fornito è la media di due flaconi.

³ Uno dei tre flaconi è contaminato; il valore fornito è la media di due flaconi.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI – BacT/ALERT (CON AGITAZIONE)

Sono stati condotti studi interni utilizzando i seguenti microrganismi a concentrazioni ≤ 10 CFU/flacone e ≤ 100 CFU/flacone usando sangue umano prelevato da una popolazione adulta sana.

Risultati di BacT/ALERT MB con lo strumento BacT/ALERT (con agitazione)

Micobatterio	Inoculo (UCF/flacone)	Tempo di rilevazione (giorni) ¹ BacT/ALERT [®] MB
Complesso TB		
<i>M. tuberculosis</i> (3 ceppi) CDC 18292, CDC 18280, CDC 18286 <i>M. tuberculosis</i> CDC 18283	≤ 100 ≤ 10 ≤ 100 ≤ 10	14,1 - 16,7 14,6 - 18,4 10,6 13,2 ²
<i>M. bovis</i> CDC 423	≤ 100 ≤ 10	19,8 23,2
<i>M. bovis</i> CDC 8131	≤ 100 ≤ 10	19,7 NG ⁴
Fotocromogeni (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834, <i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 100 ≤ 10	7,9 - 14,4 ² 8,9 - 16,8 ²
Scotocromogeni (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470, <i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 100 ≤ 10	17,8 - 37,2 21,3 - 43,2 ³
Non cromogeni (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (3 ceppi) CDC 569, CDC 768, CDC 1155 <i>M. avium</i> CDC 440 <i>M. intracellulare</i> (4 ceppi) CDC 403, VA 5, CDC 644, CDC 1406	≤ 100 ≤ 10 ≤ 100 ≤ 10 ≤ 100 ≤ 10	7,5 - 11,5 8,5 - 11,8 8,4 9,3 ² 9,0 - 11,6 9,9 - 13,1
Microrganismi a crescita rapida (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100 ≤ 10	2,1 2,3

¹ Ogni microrganismo è stato testato in triplo e sono state ricavate le medie. I valori forniti rappresentano un intervallo di tali medie, salvo *M. bovis*, *M. tuberculosis* CDC 18283 e *M. avium* CDC 440 di cui viene data solo la media.

² Uno dei tre flaconi è contaminato; il valore fornito è la media di due flaconi.

³ Uno dei tre flaconi non ha evidenziato alcuna crescita; il valore fornito è la media di due flaconi.

NOTA: un elenco dei microrganismi rari ed esigenti ritrovati con i flaconi BacT/ALERT può essere richiesto a bioMérieux.⁴

BIBLIOGRAFIA

- Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/ALERT: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Micro* 1990; 28(7), 1608-1612.
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
- Metchock B, Nolte FS, Wallace Jr RJ: Mycobacterium, in Murray PR, (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, ed 7. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1999, pp 399-437.
- Rare Organism Club, bioMérieux, Inc., 2007.

DISPONIBILITÀ

bioMérieux

BacT/ALERT[®] MB

25/confezione

REF 251011

MB/BacT[®] Enrichment Fluid

Kit da 5 flaconcini

REF 259877

Per l'assistenza tecnica negli USA, contattare l'assistenza clienti bioMérieux al numero verde +1-800-682-2666. Al di fuori degli USA, contattare il rappresentante locale bioMérieux.

bioMérieux, il logo blu, BacT/ALERT e MB/BacT sono marchi utilizzati, in attesa di registrazione e/o registrati di proprietà di bioMérieux SA o di una delle sue filiali.

Amphyl è un marchio depositato di Linden Corporation.

ATCC è un marchio depositato di American Type Culture Collection.

bioMérieux, Inc.
Box 15969
Durham, North Carolina 27704-0969



bioMérieux, S.A.
69280 Marcy-l'Étoile France
www.biomerieux.com

© BIOMÉRIEUX 2000, 2004, 2007, 2008

Luglio 2008

TESTBEGRENSNINGER

Mange variabler involvert i mykobakterietesting kan i praksis ikke kontrolleres for å angi total visshet om at oppnådde resultater utelukkende skyldes korrekt eller ukorrekt ytelse av et kulturmediene eller deteksjonssystemet.

1. Kulturert tatt for primær diagnose etter at behandling er påbegynt, kan føre til negative resultater.
2. Gjennvinning av mykobakterier i BacT/ALERT MB kulturflasker avhenger av kvaliteten på den innhentede prøven og antallet dyrkbare organismer i prøvolumet. Siden mediet er ikke-selektivt og ikke inneholder antibiotika, kan alle mikroorganismer som er tilstede vokse i mediet.
3. En sjelden gang kan positive prøver oppstå i BacT/ALERT MB kulturflasker som følge av at svært mange hvite blodlegemer er tilstede i blodprøven. Dette vil føre til negative utstryk og subkulturer.
4. Antall organismer er ofte lavt. Det anbefales derfor normalt at prøver tas over tre sammenhengende dager.
5. Kolonimorfologi og pigmentering skal kun bestemmes på faste medier.
6. BacT/ALERT MB kulturflasker med et positivt signal kan inneholde én eller flere mykobakteriearter og/eller andre ikke-mykobakteriearter. I blandede mykobakteriekulturer i buljong kan en organisme som vokser langsomt utkonkurreres av en som vokser raskt, eller kulturen kan ha blitt kassert tidlig etter at den hurtigvoksende organismen er påvist. Identifikasjon av tilstedeværende mykobakterier krever subkultivering og tilleggsprosedyrer for å identifisere organismer som er tilstede. Overensstemmelsen av mikroskopisk morfologi i BacT/ALERT kulturflasker er ikke fastslått.
7. Mykobakterier kan variere mht. syrefasthet, avhengig av stamme, kulturens alder og andre variabler. Alle flasker med et positivt signal fra instrumentet skal subkultiveres i både mykobakterieselektive og ikke-selektive medier. Ikke-mykobakterier kan vokse over og dekke tilstedeværende mykobakterier.

YTELSESEGNSKAPER – MB/BacT (IKKE-RISTING)

Interne dyrkningsstudier ble utført i et MB/BacT-instrument (ikke-risting) ved bruk av følgende testorganismer med nivå på ≤ 10 CFU/flaske og ≤ 100 CFU/flaske i humant blod fra en frisk voksen populasjon.

Resultater av BacT/ALERT MB i MB/BacT instrument (ikke-risting)

Mykobakterie	Inokulat (CFU/flaske)	Deteksjonstid (antall dager) ¹ BacT/ALERT [®] MB
TB kompleks		
<i>M. tuberculosis</i> (4 stammer)		
CDC 18293, CDC 18280	≤ 100	13,3 – 27,2
CDC 18283, CDC 18286	≤ 10	14,3 – 30,0 ²
<i>M. bovis</i> (2 stammer)		
CDC 423, CDC 8131	≤ 100	14,9 – 23,8
	≤ 10	16,2 – 25,5
Fotokromogener (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834,		
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 100	10,0 – 14,6
	≤ 10	13,1 – 39,9
Scotokromogener (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470,		
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 100	14,4 – 30,5
	≤ 10	17,2 – 32,6 ²
Ikke-kromogener (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (2 stammer)		
CDC 569, CDC 1155	≤ 100	10,4 – 12,5
	≤ 10	13,8 – 14,8
<i>M. avium</i> (2 stammer)		
CDC 440, CDC 768	≤ 100	9,2 – 13,6 ³
	≤ 10	10,9 ³ – 15,7
<i>M. intracellulare</i> (4 stammer)		
CDC 403, VA 5,	≤ 100	8,5 – 12,1
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	11,0 – 12,9
Hurtigvoksende bakterier (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>		
	≤ 100	2,2 – 2,5
	≤ 10	2,6 – 3,2

¹ Hver organisme ble testet tre ganger og gjennomsnittsverdier ble bestemt, bortsett fra de som er merket. Oppgitte verdier er gjennomsnitt av replikaene.

² En av tre flasker viste ingen tegn på vekst. Oppgitt verdi er gjennomsnittet av to flasker.

³ En av tre flasker var kontaminert. Oppgitt verdi er gjennomsnittet av to flasker.

YTELSESEGNSKAPER – BacT/ALERT (RISTING)

Interne dyrkningsstudier ble utført ved bruk av følgende testorganismer med nivå på ≤ 10 CFU/flaske og ≤ 100 CFU/flaske i humant blod fra en frisk voksen populasjon.

Resultater av BacT/ALERT MB i BacT/ALERT instrument (risting)

Mykobakterie	Inokulat (CFU/flaske)	Deteksjonstid (antall dager) ¹ BacT/ALERT [®] MB
TB kompleks		
<i>M. tuberculosis</i> (3 stammer)		
CDC 18292, CDC 18280,	≤ 100	14,1 – 16,7
CDC 18286	≤ 10	14,6 – 18,4
<i>M. tuberculosis</i> CDC 18283		
	≤ 100	10,6
	≤ 10	13,2 ²
<i>M. bovis</i> CDC 423		
	≤ 100	19,8
	≤ 10	23,2
<i>M. bovis</i> CDC 8131		
	≤ 100	19,7
	≤ 10	NG ⁴
Fotokromogener (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834,		
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 100	7,9 – 14,4 ²
	≤ 10	8,9 – 16,8 ²
Scotokromogener (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470,		
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 100	17,8 – 37,2
	≤ 10	21,3 – 43,2 ³
Ikke-kromogener (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (3 stammer)		
CDC 569, CDC 768,	≤ 100	7,5 – 11,5
CDC 1155	≤ 10	8,5 – 11,8
<i>M. avium</i> CDC 440		
	≤ 100	8,4
	≤ 10	9,3 ²
<i>M. intracellulare</i> (4 stammer)		
CDC 403, VA 5,	≤ 100	9,0 – 11,6
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	9,9 – 13,1
Hurtigvoksende bakterier (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>		
	≤ 100	2,1
	≤ 10	2,3

¹ Hver organisme ble testet tre ganger og et gjennomsnitt ble bestemt. Oppgitte verdier er et spekter av disse gjennomsnittene, med unntak av *M. bovis*, *M. tuberculosis* CDC 18283 og *M. avium* CDC 440, der kun gjennomsnittet oppgis.

² En av tre flasker var kontaminert. Oppgitt verdi er gjennomsnittet av to flasker.

³ En av tre flasker viste ingen tegn på vekst. Oppgitt verdi er gjennomsnittet av to flasker.

MERK: En liste over sjeldne og kravfulle organismer funnet med BacT/ALERT kulturflasker er tilgjengelig på forespørsel fra bioMérieux.⁴

REFERANSELISTE

1. Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/ALERT: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Micro* 1990; 28(7), 1608-1612.
2. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
3. Metchnik B, Nolte FS, Wallace Jr RJ: Mycobacterium, in Murray PR, (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, ed 7. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1999, pp 399-437.
4. Rare Organism Club, bioMérieux, Inc., 2007.

TILJENGELIGHET

bioMérieux

BacT/ALERT[®] MB

25/eske

REF 251011

MB/BacT[®] Enrichment Fluid

5 ampuller/pk

REF 259877

For teknisk støtte i USA, ta kontakt med bioMérieux kundeservice, tlf: 1-800-682-2666. Utenfor USA, ta kontakt med din lokale bioMérieux-representant.

bioMérieux, den blå logo, BacT/ALERT og MB/BacT er varemerker som enten er i bruk, under behandling og/eller registrert og som tilhører bioMérieux SA eller et av datterselskapene.

Amphyl er et registrert varemerke som tilhører Linden Corporation.

ATCC er et registrert varemerke som tilhører American Type Culture Collection.



bioMérieux, Inc.
Box 15969
Durham, North Carolina 27704-0969



bioMérieux, S.A.
69280 Marcy-l'Étoile France
www.biomérieux.com

© BIOMÉRIEUX 2000, 2004, 2007, 2008

Juli 2008

BacT/ALERT® MB

43-02494

OZNACZA CZĘŚĆ Z POPRAWKAMI

Butelki hodowlane BacT/ALERT® MB oraz płyn wzbogacający MB/BacT® Enrichment Fluid należy przechowywać w temp. 15–30°C. Chronić przed bezpośrednim działaniem światła słonecznego.

Zob. słownik symboli na końcu ulotki.

ZASTOSOWANIE

Butelki hodowlane BacT/ALERT MB z dodatkiem płynu wzbogacającego MB/BacT Enrichment Fluid, kiedy są stosowane z systemem wykrywania mykobakterii MB/BacT® (bez wytrąsania) i z systemem detekcji drobnoustrojów BacT/ALERT® (z wytrąsaniem), są nieselektywnym podłożem hodowlanym do jakościowej hodowli i namnażania mykobakterii z próbek krwi.

PODSUMOWANIE I OBJAŚNIENIA

Butelki hodowlane BacT/ALERT MB w połączeniu z płynem wzbogacającym MB/BacT Enrichment Fluid są przeznaczone do hodowli gatunków *Mycobacterium* najczęściej izolowanych z krwi. Podłoże zapewnia wzrost innych tlenowców mikroorganizmów, w tym drożdży, grzybów i bakterii. Cały system zawiera czynnik lityczny (saponinę), polianietosulfonian sodu (SPS) i inne elementy wzbogacające pożywkę, które eliminują etap przetwarzania, zabezpieczając przed wykrzepianiem krwi i stymulują wzrost mykobakterii. Do butelki hodowlanej można posiać bezpośrednio 3 do 5 ml krwi. Inokulowane butelki są umieszczane w urządzeniu, w którym podlegają inkubacji (35–37°C) oraz ciągłemu monitorowaniu pod kątem wzrostu drobnoustrojów.

ZASADA BADAANIA

System wykrywania mykobakterii MB/BacT i systemy wykrywania drobnoustrojów BacT/ALERT wykorzystują czynnik kolonymetryczny i światło odbite, w celu monitorowania obecności i produkcji dwutlenku węgla (CO₂) rozpuszczonego w podłożu hodowlanym ¹. Jeżeli w próbce badanej obecne są drobnoustroje, w wyniku metabolizmu substratów zawartych w podłożu wytwarzany jest dwutlenek węgla. Gdy w wyniku wzrostu drobnoustrojów powstaje CO₂, kolor przepuszczalnego dla gazu czujnika umieszczonego na dnie każdej butelki hodowlanej zmienia się z niebieskozielonego na żółty. Jaśniejszy kolor zwiększa odbicie światła, co jest monitorowane przez system. Poziom światła odbitego przez butelki podlega monitorowaniu i jest rejestrowany przez urządzenie co 10 minut.

ODCZYNNIKI

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

OSTRZEŻENIE: Podczas używania butelki hodowlanej BacT/ALERT MB w systemie wykrywania drobnoustrojów BacT/ALERT należy przedsięwziąć dodatkowe środki ostrożności, aby zmniejszyć ryzyko przypadkowej ekspozycji na czynniki zakaźne. Zaleca się zdecydowanie, aby urządzenie znajdowało się w laboratorium rutynowo zajmującym się hodowlą *M. tuberculosis*. Do czynności związanych z namnażaniem i opracowywaniem gatunków *M. tuberculosis* lub *Mycobacterium sp.* hodowanych na podłożach, wymagani są sprzęt ochronny oraz urządzenia spełniające warunki ochrony biologicznej poziomu 3 (Biosafety Level 3) ².

UWAGA: Z próbkami oraz posianymi butelkami hodowlanymi należy obchodzić się jak z materiałem potencjalnie zakaźnym. Wszystkie posiane butelki, igły do pobierania próbek i zestawy do pobierania krwi należy odkażać zgodnie z procedurami obowiązującymi w danej instytucji ³.

BacT/ALERT® MB

BacT/ALERT MB (oznaczone kolorem czarnym) – sterylne butelki do jednorazowego użytku BacT/ALERT MB zawierają 29 ml podłoża oraz wewnętrzny czujnik wykrywający dwutlenek węgla jako wskaźnik wzrostu drobnoustrojów. Pożywka ma następujący skład: bulion Middlebrook 7H9 (0,47% wag./obj.), kazeina trawiona pankreatyną (0,1% wag./obj.), glicerol (1,0% wag./obj.), polianietosulfonian sodu (0,025 wag./obj.) w wodzie oczyszczonej. Butelki są przygotowywane w atmosferze CO₂ w tenie i azocie pod pompą próżniową. Skład pożywki można dostosowywać w zależności od jej przeznaczenia.

PRZESTROGA: Butelki hodowlane BacT/ALERT MB inkubowane są w temp. 37°C, co potencjalnie wyłącza wzrost mykobakterii wymagających do wzrostu innych temperatur inkubacji (np. *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). Następujące izolaty były wykrywane w urządzeniu MB/BacT (bez wytrąsania) i w urządzeniu BacT/ALERT (z wytrąsaniem), z butelką hodowlaną BacT/ALERT MB w trakcie badań wewnętrznych; *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. bovis*, *M. gordoniae* i *M. simiae*.

PRZESTROGA: Jest możliwe, że niektóre rzadkie i trudne w hodowli mykobakterie nie będą rosły lub będą rosły powoli na podłożu butelek hodowlanych BacT/ALERT MB. W przypadku podejrzenia obecności rzadko spotykanych, trudnych w hodowli mykobakterii, wymagających specjalistycznych pożywek oraz warunków hodowli, należy rozważyć zastosowanie alternatywnych metod namnażania lub dłuższego czasu inkubacji.

PRZESTROGA: W rzadkich przypadkach może się zdarzyć, że mikroorganizmy rosnące na podłożu butelek BacT/ALERT MB nie będą produkować wystarczających ilości dwutlenku węgla dla uzyskania dodatniego wyniku testu. Przykładowo, próbki uzyskane od pacjentów leczonych lekami przeciwgruźliczymi mogą wykazywać słabszy wzrost.

MB/BacT® Enrichment Fluid

Każda z fiolek z płynem wzbogacającym MB/BacT Enrichment Fluid posiada całkowitą objętość 5,5 ml. Płyn wzbogacający MB/BacT Enrichment Fluid składa się z albuminy surowicy wołowej (14,5% wag./obj.), chlorku sodu (2,5% wag./obj.), kwasu oleinowego (0,174% wag./obj.), saponiny (4,4% wag./obj.) w wodzie oczyszczonej.

Wymagane dodatkowe materiały

System wykrywania mykobakterii MB/BacT lub system wykrywania drobnoustrojów BacT/ALERT

Bulion Middlebrook 7H11 lub inne podłoże do hodowli mykobakterii na bazie agaru lub jaj

Inkubator CO₂, 37°C ± 2°C

Sterylny strzykawkki i igły

Środek do dezynfekcji aktywny w stosunku do mykobakterii

Systemy zamknięte do pobierania krwi

Komora bezpieczeństwa dla materiałów biologicznych

Jałowe rękawiczki jednorazowego użytku

Jednorazowe fartuchy

Jednorazowe maski

Odpowiednie pojemniki na odpady biologicznie niebezpieczne, przeznaczone do materiałów potencjalnie skażonych czynnikami zakaźnymi

Mikroorganizmy do kontroli jakości

Materiały dostępne w bioMérieux

System wykrywania mykobakterii MB/BacT i systemy wykrywania drobnoustrojów BacT/ALERT

Sposób przechowywania

Butelki hodowlane BacT/ALERT MB oraz płyn wzbogacający MB/BacT Enrichment Fluid należy przechowywać w temp. pokojowej (15–30°C). Chronić przed bezpośrednim działaniem światła słonecznego. Na etykietce każdej butelki wydrukowana jest data ważności. Butelek hodowlanych BacT/ALERT MB lub fiolek z płynem wzbogacającym nie należy używać po upływie ostatniego dnia wskazanego miesiąca. Przed użyciem butelki muszą osiągnąć temperaturę pokojową.

URZĄDZENIA

Przed użyciem należy zapoznać się z odpowiednią instrukcją obsługi systemu detekcji drobnoustrojów BacT/ALERT.

POBIERANIE I PRZYGOTOWYWANIE PRÓBEK

Właściwe pobieranie próbek jest niezwykle istotne w przypadku próbek do posiewów krwi. Właściwa procedura pobierania i transportowania próbek opisana jest w podręczniku mikrobiologii klinicznej ³. Właściwa dezynfekcja skóry stanowi podstawowy warunek ograniczenia częstości występowania skażeń.

Firma bioMérieux zaleca, aby umieścić posiane butelki hodowlane w systemie detekcji drobnoustrojów BacT/ALERT w jak najkrótszym czasie od pobrania materiału. Posiane butelki hodowlane, które nie są natychmiast umieszczone w systemie, należy przechowywać do czasu załadowania do inkubatora w temperaturze pokojowej.

PROCEDURA TESTOWA DLA BUTELKI BacT/ALERT MB

Wstępne uwagi i ostrzeżenia

1. **PRÓBKA TESTOWA POTENCJALNIE ZAKAŻNA.** Podczas przygotowania oraz przy usuwaniu materiałów zakaźnych należy zachować uniwersalne środki ostrożności. Z próbkami i zawierającymi posiewy hodowlami należy obchodzić się jak z materiałem potencjalnie zakaźnym.

2. Aby zminimalizować możliwość wycieku w trakcie zaszczerpania próbki do butelek hodowlanych, należy używać strzykawk z przymocowanymi igłami.

3. Wszystkie posiane butelki, igły do pobierania próbek i zestawy do pobierania krwi należy odkażać zgodnie z procedurami obowiązującymi w danej instytucji ³.

4. Zawsze przenosić posiane butelki hodowlane w stelażu lub w koszu. W przypadku wylania lub stłuczenia może powstać aerozol mykobakterii (w tym *M. tuberculosis*) lub innych bakterii. Należy przestrzegać zaleceń dotyczących bezpieczeństwa dla swojej instytucji oraz zaleceń CDC/NIH ². Wraz z rozprzestrzenieniem się ludzkiego wirusa niedoboru odporności/(nabytej zespołu niedoboru odporności, mykobakteriemia wywołana przez *M. tuberculosis* występuje częściej i krew jest aktualnie uważana za możliwe źródło transmisji w laboratorium ².

5. Praca z mikroorganizmami kompleksu *M. tuberculosis* wymaga zachowania zasad bezpieczeństwa biologicznego stopnia 3, wyposażenia oraz pomieszczeń umożliwiających izolację ².

6. Podczas przygotowywania butelki, pobierania próbki od pacjenta oraz posiewania materiału do butelki hodowlanej BacT/ALERT MB, należy zachować ostrożność, aby zapobiec skażeniu próbki.

7. Płyn wzbogacający MB/BacT Enrichment Fluid zawiera składniki niezbędne do zapewnienia optymalnego wzrostu mykobakterii oraz czynnik lityczny czerwonych krwinek. Ten produkt musi zostać dodany do wszystkich butelek hodowlanych BacT/ALERT MB.

8. Płyn wzbogacający MB/BacT Enrichment Fluid może być dodany do 24 godzin przed lub po posianiu butelki próbka krwi. Jeśli płyn wzbogacający zostanie dodany po posianiu krwi, musi zostać dodany przy użyciu odpowiednich procedur ochrony biologicznej poziomu 3 (Biosafety Level 3) ².

9. Te butelki hodowlane powinny podlegać utylizacji wyłącznie przez wykwalifikowany personel laboratoryjny.

Przygotowanie butelek

UWAGA: W celu uniknięcia skażenia należy zachować ostrożność, zarówno podczas przygotowywania butelek, jak i przy inokulacji próbki materiału.

Przed użyciem butelki hodowlane BacT/ALERT MB należy poddać kontroli pod kątem uszkodzeń lub wad (odbarwienia). Butelki wykazujące objawy uszkodzenia, nieszczelności lub pogorszenia jakości należy wyrzucić. Podłoże w nienaruszonych butelkach powinno być klarowne. Nie używać butelki, w której podłoże wykazuje zmętnienie, czujnik ma kolor żółty lub jest nadmierne ciśnienie gazu; są to oznaki możliwego skażenia. Należy także zbadać wzrokowo wszystkie fiolki z płynem wzbogacającym MB/BacT Enrichment Fluid na obecność śladów uszkodzeń lub skażenia. Nie używać fiolek z płynem wzbogacającym MB/BacT Enrichment Fluid wykazujących zmętnienie.

- Oznaczyć butelkę hodowlaną danymi pacjenta. Ikony na etykietcie butelki (☹, #, ☹) mogą być definiowane przez użytkownika.
- Usunąć plastikową zatyczkę z butelki hodowlanej i zdezynfekować przy pomocy wacika nasączonego alkoholem lub innego środka odkażającego. Pozostawić do wyschnięcia.
- Płyn wzbogacający jest dostarczany oddzielnie i musi zostać dodany do butelki do hodowli krwi, celem zapewnienia wzrostu mykobakterii. Dodanie może zostać wykonane w ciągu 24 godzin od posiania próbki, lub jeśli posiew jest przeprowadzany przy łóżku pacjenta, płyn wzbogacający może zostać dodany po dostarczeniu posianych butelek do laboratorium.

- Usunąć plastikową zatyczkę z fiołki z płynem wzbogacającym i zdezynfekować przy pomocy wacika nasączonego alkoholem lub innego środka odkażającego. Pozostawić do wyschnięcia.
- Przy zachowaniu jałowości dodać 1 ml płynu wzbogacającego do wszystkich butelek hodowlanych BacT/ALERT MB.
- Należy postępować w sposób ostrożny i zachować jałowość, aby uniknąć skażenia płynu wzbogacającego i podłoża w butelce hodowlanej.

UWAGA: Jeśli płyn wzbogacający jest dodawany po pobraniu próbki krwi, etap ten należy wykonywać w komorze bezpieczeństwa dla materiałów biologicznych, używając odpowiedniej odzieży ochronnej, zgodnie ze standardami bezpieczeństwa ustalonymi przez CDC/NIH dla wytycznych bezpieczeństwa biologicznego stopnia 3 ². Aby uniknąć krzyżowego skażenia, należy używać nowej strzykawki dla każdej butelki zawierającej krew.

Procedura bezpośredniego pobierania i posiewu

- Przed posiewem, zdezynfekować górę butelki hodowlanej BacT/ALERT MB przy pomocy wacika nasączonego alkoholem lub innego środka odkażającego. Pozostawić do wyschnięcia.
- Pobrać krew używając zestawu motylkowego i nasadki łącznika do pobierania krwi BacT/ALERT bezpośrednio do butelki hodowlanej BacT/ALERT MB przy łóżku pacjenta (3–5 ml na butelkę). Aby zapobiec pobraniu zbyt dużej ilości krwi, należy monitorować ilość krwi dodanej do butelki, używając skali na etykietcie butelki (co 5 ml).
- Po pobraniu przetrzeć górne części butelek gazikiem nasączonym roztworem 2% Amphyl® lub innego środka prątkobójczego, a następnie pozostawić do wyschnięcia.
- Posianą butelkę hodowlaną należy natychmiast przenieść do laboratorium diagnostycznego.

Procedura posiewu poprzez pobieranie krwi do próbek

- Krew może być także pobierana do jałowych próbek z SPS lub heparyną i posiewana do butelek hodowlanych BacT/ALERT MB w laboratorium. Nie jest wymagane żadne wcześniejse przetwarzanie próbek. Nie jest dopuszczalne pobieranie krwi na EDTA, ponieważ EDTA hamuje wzrost mykobakterii nawet w śladowych ilościach.
- Zdezynfekować górę próbówki oraz górę butelki hodowlanej BacT/ALERT MB przy pomocy wacika nasączonego alkoholem lub innego środka odkażającego. Pozostawić korki do wyschnięcia przed posianiem próbki krwi.
- Stosując zasady aseptyki, pobrać 3–5 ml z próbówki do pobierania krwi za pomocą jałowej igły i posiać krew do butelki hodowlanej.
- Po posiewie przetrzeć górne części butelek gazikiem nasączonym roztworem 2% Amphyl lub innego środka prątkobójczego, a następnie pozostawić do wyschnięcia.

INKUBACJA I MONITOROWANIE

PRZESTROGA: Podczas zakładania hodowli wtórnych z butelek o dodatnim wyniku hodowli należy zachować ostrożność, ponieważ mogły one zostać przepełnione lub mogą zawierać mikroorganizmy produkujące duże ilości gazów. Zawartość dodatnich butelek do posiewów może być pod zwiększonym ciśnieniem. Butelki hodowlane z wynikiem dodatnim przed barwieniem lub utylizacją należy na krótko przewentylować, aby odprowadzić gaz powstałe w wyniku metabolizmu bakterii.

- Posiane butelki hodowlane BacT/ALERT MB włożyć do systemu wykrywania mykobakterii MB/BacT (bez wytrąsania) lub do systemu wykrywania drobnoustrojów BacT/ALERT (z wytrąsaniem), stosując się do instrukcji zamieszczonej w Podręczniku użytkownika.
- Po włożeniu butelek BacT/ALERT MB do urządzenia powinny one pozostać w nim przez co najmniej 42 dni lub do momentu oznaczenia ich jako dodatnich.

Następujące procedury wymagają zachowania zasad bezpieczeństwa biologicznego stopnia 3, wyposażenia oraz pomieszczeń umożliwiających izolację ².

- Gdy urządzenie wskazuje, że dana komora zawiera butelkę z wynikiem dodatnim, należy wyjąć butelkę zgodnie z procedurą opisaną w podręczniku użytkownika.
- Ze wszystkich butelek oznaczonych jako dodatnie należy wykonać preparaty oraz dodatkowe przesiewy na obecność pałeczek kwasoopornych. W komorze bezpieczeństwa dla materiałów biologicznych zmieszać zawartość butelki, odkazić korek gazikiem nasączonym alkoholem lub innym środkiem odkażającym i pozostawić do wyschnięcia. Pobierać próbkę do barwienia na bakterie kwasooporne i do tworzenia hodowli wtórnych przy użyciu strzykawki i igły. Po wykonaniu przesiewu odkazić korek butelki środkiem prątkobójczym. Jeśli wynik preparatu w kierunku bakterii kwasoopornych jest dodatni, wykonać specjalne procedury identyfikacji mykobakterii używane w Państwie instytucji. Jeśli preparat jest ujemny dla pałeczek kwasoopornych, ale wykazuje obecność innych mikroorganizmów, należy wykonać barwienie metodą Grama. Jeśli zarówno preparat w kierunku bakterii kwasoopornych, jak i barwiony metodą Grama są ujemne, co wskazuje na możliwy wynik fałszywie dodatni, butelkę należy włożyć ponownie do urządzenia do chwili uzyskania wzrostu przesianego materiału bądź ponownego oznaczenia jako wynik dodatni lub ujemny. Z materiału z hodowli z początkowym wynikiem fałszywie dodatnim, ponownie oznaczonego jako dodatni, należy wykonać preparat oraz posiew wtórny.
- Jeśli w barwieniu metodą Grama widoczne są mikroorganizmy inne niż mykobakterie, należy uzyskać drugą próbkę do hodowli, jeśli jest to wymagane. Należy rozważyć także możliwość występowania u pacjenta bakteriami.
- Hodowle z wynikiem ujemnym można przed odrzuceniem dodatkowo skontrolować wykonując preparat oraz/lub posiew wtórny.
- Nie należy ponownie używać butelek hodowlanych BacT/ALERT.** Należy utylizować posiane butelki hodowlane BacT/ALERT zgodnie z protokołem postępowania danego laboratorium. Stosowne jest poddawanie posianych butelek BacT/ALERT działaniu autoklawu lub spaleniu ².

RAPORTY Z WYNIKAMI

Wyniki	Raport
Sygnal +, Preparat w kierunku AFB (paleczek kwasoopornych) +	Wzrost dodatni paleczek kwasoopornych; identyfikacja w toku
Sygnal +, Preparat w kierunku AFB (paleczek kwasoopornych) -, Barwienie metodą Grama +	Brak raportu; lub próbka zanieczyszczona mikroorganizmami innymi niż mykobakterie; niemożliwe oznaczenie obecności / nieobecności paleczek kwasoopornych (AFB)
Sygnal +, Preparat w kierunku AFB (paleczek kwasoopornych) -, Barwienie metodą Grama -	Brak raportu. Wykonać posiew wtórny w celu rozstrzygnięcia możliwego wyników fałszywie dodatniego

KONTROLA JAKOŚCI

Każde opakowanie butelek hodowlanych BacT/ALERT MB zawiera Świadectwo Zgodności wskazujące na odpowiednie wzrost *M. avium* ATCC 25291 i *M. intracellulare* ATCC 13950. Przy odbiorze nowych serii lub dostaw butelek hodowlanych BacT/ALERT MB oraz odczynników, można dokonać oceny jakości. Odpowiednie organizmy do przeprowadzenia kontroli jakości opisane są w dokumencie CLSI/NCCLS M22-A3. Należy postępować zgodnie z procedurą przygotowania i posiewu butelek:

1. Dodać 1,0 ml płynu wzbogacającego MB/BacT Enrichment Fluid do każdej z butelek hodowlanych BacT/ALERT MB przeznaczonych do przetestowania.
2. Do wybranych butelek pojąć po 5,0 ml szczepów kontrolnych wymienionych poniżej, rozcieńczonych do 10⁵ CFU/ml w jałowej, pozabawionej włókna krwi owczej. Przenieść na płytki Middlebrook 7H11, aby określić żywotność i liczbę bakterii.
3. Po uzyskaniu oczekiwanych wyników używać pozostałych butelek do badania próbek klinicznych. W przypadku nieuzyskania spodziewanych wyników, skontaktować się z Działem Obsługi Klienta bioMérieux.

OGRANICZENIA TESTU

Wielu zmiennych związanych z badaniem posiewów w kierunku mykobakterii nie można w praktyce kontrolować tak, aby mieć całkowitą pewność, że otrzymane wyniki zależą wyłącznie od prawidłowego lub nieprawidłowego działania danego podłoża hodowlanego albo systemu detekcji.

1. Hodowle zakładane dla uzyskania pierwotnego rozpoznania, po włączeniu leczenia, mogą dawać wyniki ujemne.
2. Wzrost mykobakterii w butelkach hodowlanych BacT/ALERT MB zależy od jakości pobranej próbki oraz liczby hodowlanych mikroorganizmów w objętości próbki. Ponieważ podłoże jest nieselektywne i nie zawiera antybiotyków, inne obecne mikroorganizmy mogą wykazywać w tym medium wzrost.
3. W rzadkich przypadkach wyniki dodatnie dla butelek hodowlanych BacT/ALERT MB mogą być skutkiem obecności w próbce krwi wysokiego poziomu białych krwinek. W takim przypadku preparat oraz posiew materiału z próbki będą miały wynik ujemny.
4. Liczba mikroorganizmów jest często niewielka. Zwykle zaleca się pobieranie próbek przez trzy kolejne dni.
5. Ocena morfologii i zabarwienia kolonii powinna być przeprowadzana wyłącznie na podłożach stałych.
6. Butelki hodowlane BacT/ALERT MB z wynikiem dodatnim mogą zawierać jeden lub więcej gatunków mykobakterii oraz/lub gatunków innych niż mykobakterie. W mieszanych hodowlach bulionowych mykobakterii mikroorganizm o wolniejszym tempie wzrostu może zostać wyparty z hodowli na skutek konkurencji ze strony mikroorganizmu szybciej rosnącego lub hodowla może zostać wyrzucona po wykryciu mikroorganizmu rosnącego szybko. Identyfikacja obecności mykobakterii wymaga wykonania przesiewu oraz dodatkowych procedur identyfikacji mikroorganizmów. Nie ustalono dotąd zgodności morfologii mikroskopowej w butelkach hodowlanych BacT/ALERT.
7. Mykobakterie mogą różnić się kwasoopornością w zależności od szczepu, wieku hodowli oraz innych zmiennych. Ze wszystkich butelek z dodatnim sygnałem z urządzenia należy wykonać posiewy, zarówno na podłoża wybiórcze dla mykobakterii, jak i niewybiórcze. Gatunki inne niż mykobakterie mogą stłumić wzrost prątków.

CHARAKTERYSTYKA SKUTECZNOŚCI – MB/BacT (BEZ WYTRZĄSIANIA)

Wewnątrzzakładowe badania z posiewem przeprowadzono w urządzeniu MB/BacT (bez wytrząsania) z wykorzystaniem następujących organizmów testowych w ilości ≤ 10 CFU/butelkę oraz ≤ 100 CFU/butelkę przy użyciu ludzkiej krwi pobranej w populacji zdrowych dorosłych.

Wyniki butelek hodowlanych BacT/ALERT MB w urządzeniu MB/BacT (bez wytrząsania)

Mycobacterium	Posiew (CFU/butelkę)	Czas do wykrycia (dni) ¹ BacT/ALERT® MB
Kompleks TB		
<i>M. tuberculosis</i> (4 szczepy)		
CDC 18293, CDC 18280	≤ 100	13,3–27,2
CDC 18283, CDC 18286	≤ 10	14,3–30,0 ²
<i>M. bovis</i> (2 szczepy)		
CDC 423, CDC 8131	≤ 100	14,9–23,8
	≤ 10	16,2–25,5
Fotokromogenne (Runyoum I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834,		
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 100	10,0–14,6
	≤ 10	13,1–39,9
Skotokromogenne (Runyoum II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470,		
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 100	14,4–30,5
	≤ 10	17,2–32,6 ²
Niechromogenne (Runyoum III)		
<i>M. avium</i> (2 szczepy)		
CDC 569, CDC 1155	≤ 100	10,4–12,5
	≤ 10	13,8–14,8
<i>M. avium</i> (2 szczepy)		
CDC 440, CDC 768	≤ 100	9,2–13,6 ³
	≤ 10	10,9 ³ –15,7
<i>M. intracellulare</i> (4 szczepy)		
CDC 403, VA 5,	≤ 100	8,5–12,1
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	11,0–12,9
Szybkorosnące (Runyoum IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>		
	≤ 100	2,2–2,3
	≤ 10	2,6–3,2

¹ Dla każdego mikroorganizmu przeprowadzono trzykrotnie próbę i obliczano wartości średnie, z wyjątkiem zaznaczonych inaczej. Podane wartości są średnimi powtórzeń.

² Jedna z trzech butelek wykazywała brak wzrostu; wartość podana jest średnią dla dwóch butelek.

³ Jedna z trzech butelek była zanieczyszczona; wartość podana jest średnią dla dwóch butelek.

CHARAKTERYSTYKA SKUTECZNOŚCI – BacT/ALERT (Z WYTRZĄSIANIEM)

Wewnątrzzakładowe badania z posiewem przeprowadzono z wykorzystaniem następujących organizmów testowych w ilości ≤ 10 CFU/butelkę oraz ≤ 100 CFU/butelkę przy użyciu ludzkiej krwi pobranej w populacji zdrowych dorosłych.

Wyniki butelek hodowlanych BacT/ALERT MB w urządzeniu BacT/ALERT (z wytrząsaniem)

Mycobacterium	Posiew (CFU/butelkę)	Czas do wykrycia (dni) ¹ BacT/ALERT® MB
Kompleks TB		
<i>M. tuberculosis</i> (3 szczepy)		
CDC 18292, CDC 18280,	≤ 100	14,1–16,7
CDC 18286	≤ 10	14,6–18,4
<i>M. tuberculosis</i> CDC 18283		
	≤ 100	10,6
	≤ 10	13,2 ²
<i>M. bovis</i> CDC 423		
	≤ 100	19,8
	≤ 10	23,2
<i>M. bovis</i> CDC 8131		
	≤ 100	19,7
	≤ 10	NG ⁴
Fotokromogenne (Runyoum I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834,		
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 100	7,9–14,4 ²
	≤ 10	8,9–16,8 ²
Skotokromogenne (Runyoum II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470,		
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 100	17,8–37,2
	≤ 10	21,3–43,2 ³
Niechromogenne (Runyoum III)		
<i>M. avium</i> (3 szczepy)		
CDC 569, CDC 768,	≤ 100	7,5–11,5
CDC 1155	≤ 10	8,5–11,8
<i>M. avium</i> CDC 440		
	≤ 100	8,4
	≤ 10	9,3 ²
<i>M. intracellulare</i> (4 szczepy)		
CDC 403, VA 5,	≤ 100	9,0–11,6
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	9,9–13,1
Szybkorosnące (Runyoum IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>		
	≤ 100	2,1
	≤ 10	2,3

¹ Dla każdego mikroorganizmu przeprowadzono trzykrotnie próbę i obliczano wartości średnie. Podane wartości stanowią przedziały tych średnich, za wyjątkiem *M. bovis*, *M. tuberculosis* CDC 18283 i *M. avium* CDC 440, gdzie podana jest tylko wartość średnia.

² Jedna z trzech butelek była zanieczyszczona; wartość podana jest średnią dla dwóch butelek.

³ Jedna z trzech butelek wykazywała brak wzrostu; wartość podana jest średnią dla dwóch butelek.

UWAGA: Lista mikroorganizmów rzadkich i trudnych w hodowli, które namnażają się w butelkach hodowlanych BacT/ALERT dostępna jest w firmie bioMérieux⁴.

PIŚMIENNICTWO

1. Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/ALERT: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Micro* 1990; 28(7), 1608-1612.
2. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
3. Metchock B, Nolte FS, Wallace Jr RJ: Mycobacterium, in Murray PR, (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, ed 7. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1999, pp 399-437.
4. Rare Organism Club, bioMérieux, Inc., 2007.

ASORTYMENT

bioMérieux

BacT/ALERT® MB Opakowanie po 25 sztuk  251011


MB/BacT® Enrichment Fluid 5 fiolek/zestaw  259877

W celu uzyskania pomocy technicznej w USA, należy kontaktować się z biurem obsługi Klienta bioMérieux pod numerem 1-800-682-2666. Poza USA kontaktować się z lokalnym przedstawicielstwem bioMérieux.

bioMérieux, niebieskie logo BacT/ALERT i MB/BacT są używanymi, zgłoszonymi i/lub zarejestrowanymi znakami towarowymi należącymi do firmy bioMérieux SA lub jednej z jej filii.

Amphyl jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Linden Corporation.

ATCC jest zastrzeżonym znakiem towarowym American Type Culture Collection.

 bioMérieux, Inc.
Box 15969
Durham, North Carolina 27704-0969



bioMérieux, S.A.
69280 Marcy-l'Étoile France
www.biomerieux.com

©BIOMÉRIEUX 2000, 2004, 2007, 2008

Lipiec 2008

BacT/ALERT® MB

43-02494

INDICAÇÃO DE SECÇÃO REVISTA

Armazenar os frascos de cultura BacT/ALERT® MB e o MB/BacT® Enrichment Fluid entre 15° e 30° C. Proteger da luz solar directa.

Consulte o glossário de símbolos no final do folheto.

APLICAÇÃO

Os frascos de cultura BacT/ALERT MB com adição do Líquido de Enriquecimento MB/BacT, quando utilizados com o Sistema de Detecção Microbiana MB/BacT® (sem agitação) e o Sistema de Detecção Microbiana BacT/ALERT® (com agitação), são um meio de cultura não selectivo para a cultura e isolamento qualitativos de micobactérias em amostras de sangue.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

Os frascos de cultura BacT/ALERT MB em combinação com o Líquido de Enriquecimento MB/BacT foram concebidos para o cultivo de *Mycobacterium sp.* normalmente isoladas a partir de sangue. O meio suporta o crescimento de outros microrganismos aeróbios, incluindo leveduras, fungos e bactérias. Este sistema completo inclui um agente lítico (saponina), polienatolsulfonato de sódio (SPS) e outros suplementes de meio que eliminam a etapa de processamento, impedem a coagulação do sangue e melhoram o crescimento de micobactérias. É possível inocular um volume de 3 ml a 5 ml de sangue directamente para dentro do frasco de cultura. Os frascos inoculados são colocados no aparelho onde são incubados (35° - 37° C) e continuamente monitorizados quanto ao crescimento microbiano.

PRINCÍPIO DO TESTE

O Sistema de Detecção Microbiana MB/BacT e os Sistemas de Detecção Microbiana BacT/ALERT utilizam um sensor colorimétrico e a reflexão da luz para monitorizar a presença e a produção de dióxido de carbono (CO₂) dissolvido no meio de cultura.¹ Se houver presença de microrganismos na amostra de teste, haverá produção de dióxido de carbono, à medida que os microrganismos forem metabolizando os substratos no meio de cultura. Quando o crescimento de microrganismos produz CO₂, a cor do sensor permeável a gás, instalado no fundo de cada frasco de cultura, muda de verde-azulado para amarelo. As cores mais claras resultam num aumento das unidades de reflectância de acordo com a monitorização do sistema. A reflectância do frasco é monitorizada e registada pelo aparelho de 10 em 10 minutos.

REAGENTES

Para diagnóstico *in vitro*.

AVISO: para reduzir os riscos de exposição accidental a agentes infecciosos, devem ser tomadas precauções adicionais ao utilizar o frasco de cultura BacT/ALERT MB no Sistema de Detecção Microbiana BacT/ALERT. Recomenda-se vivamente que o aparelho seja colocado num laboratório utilizado para a rotina de cultura de *M. tuberculosis*. Em relação às atividades que envolvem a propagação e manipulação de *M. tuberculosis* ou de *Mycobacterium sp.* que tenham crescido em cultura, recomenda-se que estas sejam manipuladas utilizando técnicas, equipamento de contenção e instalações de segurança biológica de nível 3, no interior de câmaras de segurança biológica.²

PRECAUÇÃO: manipular as amostras e os frascos de cultura inoculados como produtos potencialmente infecciosos. Todos os frascos de cultura inoculados, agulhas de colheita e dispositivos de colheita de sangue devem ser descontaminados de acordo com os procedimentos da instituição.³

BacT/ALERT® MB

BacT/ALERT MB (codificado com a cor preta) – Os frascos de cultura BacT/ALERT MB descartáveis esterilizados contêm 29 ml de meio de cultura e um sensor interno para deteção de dióxido de carbono, o qual é utilizado como indicador do crescimento microbiano. A formulação do meio consiste em meio líquido Middlebrook 7H9 (0,47% p/v), caseína de digestão pancreática (0,1% p/v), glicerol (1,0% p/v), polienatolsulfonato de sódio (0,025% p/v) em água purificada. Os frascos contêm uma atmosfera de CO₂ em oxigénio e nitrogénio só vácuo. A composição do meio pode ser ajustada para satisfazer requisitos específicos de comportamento funcional.

PRECAUÇÃO: os frascos de cultura BacT/ALERT MB são incubados a 37° C, o que exclui potencialmente o isolamento das micobactérias que exigem outras temperaturas de incubação (por exemplo, *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). Durante estudos internos com o frasco de cultura BacT/ALERT MB, os seguintes isolados foram detectados como sendo positivos no aparelho MB/BacT (sem agitação) e no aparelho BacT/ALERT (com agitação): *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. bovis*, *M. gordonae* e *M. simiae*.

PRECAUÇÃO: é possível que algumas micobactérias raras e de crescimento lento não cresçam ou cresçam lentamente no meio de crescimento do frasco de cultura BacT/ALERT MB. Se suspeitar da existência de micobactérias raras e de crescimento lento, que precisem de condições de meios e de cultura específicas, deve considerar métodos alternativos ou um tempo de incubação prolongado como meio de recuperação.

PRECAUÇÃO: em ocasiões raras podem encontrar-se microrganismos que crescem no meio de crescimento do frasco de cultura BacT/ALERT MB, mas não produzem dióxido de carbono suficiente para ser determinado positivo. Por exemplo, as amostras de doentes que se encontram em tratamento com agentes antimicobacterianos podem apresentar o crescimento comprometido.

MB/BacT® Enrichment Fluid

Os frascos de MB/BacT® Enrichment Fluid contêm um volume de enchimento total de 5,5 ml cada. O Líquido de Enriquecimento MB/BacT consiste em albumina de soro de bovino (14,5% p/v), cloreto de sódio (2,5% p/v), ácido oleico (0,174% p/v) e saponina (4,4% p/v) em água purificada.

Materiais adicionais necessários

Sistema de Detecção de Micobactérias MB/BacT ou Sistema de Detecção Microbiana BacT/ALERT

Middlebrook 7H11 ou outro meio de gelose micobacteriano ou à base de ovo

Incubadora de CO₂, 37° C ± 2° C

Seringas e agulhas estéreis

Desinfectante micobactericida

Dispositivo para colheita de sangue

Câmara de segurança biológica

Luvas estéreis, descartáveis

Batas descartáveis

Máscaras descartáveis

Recipientes adequados para eliminação de resíduos biológicos perigosos, potencialmente contaminados com agentes infecciosos

Organismos para Controlo de Qualidade

Materiais disponíveis junto do bioMérieux

Sistema de Detecção de Micobactérias MB/BacT e Sistemas de Detecção Microbiana BacT/ALERT

Instruções de armazenamento

Armazenar os frascos de cultura BacT/ALERT MB e o Líquido de Enriquecimento MB/BacT à temperatura ambiente (15° a 30° C). Proteger da luz solar directa. Nas etiquetas dos frascos está impresso o prazo de validade. Não utilizar os frascos de cultura BacT/ALERT MB ou do Líquido de Enriquecimento para além do último dia do mês indicado na etiqueta. Antes de serem utilizados, os frascos deverão encontrar-se à temperatura ambiente.

APARELHOS

Antes de utilizar o sistema de deteção microbiana BacT/ALERT, leia o respectivo Manual do Utilizador.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Para obter amostras de sangue, é extremamente importante efectuar correctamente a colheita. Consulte o Manual de Clinical Microbiology³ para obter informações sobre o procedimento de colheita e transporte. É imprescindível proceder a uma adequada desinfecção da pele para reduzir a possibilidade de contaminação.

A bioMérieux recomenda que os frascos de cultura inoculados sejam colocados no Sistema de Detecção Microbiana BacT/ALERT o mais rapidamente possível após a colheita. Os frascos de cultura inoculados que sofrem um tipo de atraso ao serem colocados no incubador, devem ser mantidos à temperatura ambiente até poderem ser colocados no referido incubador.

PROCEDIMENTO DE TESTE PARA FRASCOS DE CULTURA BacT/ALERT MB

Observações e precauções prévias

1. AMOSTRAS DE TESTE POTENCIALMENTE INFECCIOSAS. Ter em atenção as Precauções Universais quando manipular e eliminar materiais infecciosos. Manipular as amostras e as culturas inoculadas como produtos potencialmente infecciosos.
2. Para minimizar o potencial de dispersão durante a inoculação de amostras para os frascos de cultura, utilizar seringas com agulhas fixas.
3. Todos os frascos de cultura inoculados, agulhas de colheita e dispositivos de colheita de sangue devem ser descontaminados de acordo com os procedimentos da instituição.³
4. Transportar sempre os frascos de cultura inoculados num suporte ou cesto. Em caso de dispersão ou quebra, é possível que seja produzido um aerossol de micobactérias (incluindo a *M. tuberculosis*) ou de outras bactérias. Sigã as instruções de orientação de segurança da sua instituição e do CDC/NIH.² Com o aparecimento do vírus da imunodeficiência humana/síndrome da imunodeficiência adquirida, a micobacteriemia causada pelo *M. tuberculosis* ocorreu com maior frequência, sendo actualmente o sangue considerado uma potencial fonte de transmissão no laboratório.²
5. A manipulação de microrganismos do complexo *M. tuberculosis* que tenham crescido em cultura exige a utilização de técnicas, equipamento de contenção e instalações de segurança biológica de nível 3.²
6. Tenha cuidado para evitar a contaminação durante a preparação do frasco, durante a colheita da amostra do doente e durante a inoculação da amostra do doente no frasco de cultura BacT/ALERT MB.
7. O Líquido de Enriquecimento MB/BacT contém os componentes necessários para assegurar um crescimento óptimo das micobactérias e contém um agente lítico para a lise das células sanguíneas. Este produto tem de ser adicionado a todos os frascos de cultura BacT/ALERT MB.
8. O Líquido de Enriquecimento MB/BacT pode ser adicionado até 24 horas antes ou após a inoculação do frasco com a amostra de sangue. Se o Líquido de Enriquecimento for adicionado após a inoculação do sangue, tem de ser adicionado utilizando técnicas de segurança biológica de nível 3.²
9. Estes frascos de cultura devem ser utilizados apenas por técnicos de laboratório experientes.

Preparação do frasco

NOTA: ter cuidado para evitar a contaminação durante a preparação e inoculação dos frascos com a amostra do doente.

Antes de utilizar, os frascos de cultura BacT/ALERT MB devem ser inspeccionados visualmente quanto à existência de vestígios de danos ou deterioração (descoloração). Os frascos que apresentem sinais de danos, dispersão ou deterioração devem ser eliminados. O meio em frascos em repouso deve estar transparente. Não utilize um frasco cujo meio apresente turvação, um sensor amarelo ou excesso de pressão gasosa, pois tais características são indícios de possível contaminação. Inspeccionar todos os frascos de Líquido de Enriquecimento MB/BacT quanto à existência de vestígios de danos ou contaminação. Não utilizar frascos de Líquido de Enriquecimento MB/BacT que apresentem turvação.

1. Rotular o frasco de cultura com as informações do doente. Os ícones na etiqueta do frasco (Ⓢ,Ⓜ,Ⓞ) podem ser definidos pelo utilizador.
2. Retire a tampa de plástico do frasco de cultura e desinfecte, utilizando uma zaragatoa com álcool ou um produto equivalente. Deixe secar ao ar.
3. O Líquido de Enriquecimento é fornecido em separado e tem de ser adicionado ao frasco de hemocultura para promover o crescimento de micobactérias. É possível proceder a esta adição num período de 24 horas da inoculação da amostra ou, se a inoculação da amostra for realizada junto da cabeceira, é possível adicionar o Líquido de Enriquecimento após a recepção dos frascos inoculados no laboratório.
 - Retire a tampa de plástico do frasco de Líquido de Enriquecimento e desinfecte com uma zaragatoa com álcool ou um produto equivalente. Deixe secar ao ar.
 - Adicione asepticamente 1 ml de Líquido de Enriquecimento a cada um dos frascos de cultura BacT/ALERT MB.
 - Com cuidado, utilize uma técnica asséptica para evitar a contaminação do Líquido de Enriquecimento e do meio do frasco de cultura.

NOTA: se o Líquido de Enriquecimento for adicionado após a inoculação da amostra de sangue, então esta etapa deve ser efectuada numa câmara de segurança biológica e utilizando vestuário de protecção adequado em conformidade com as normas de segurança definidas pelo CDC/NIH referentes às precauções de Segurança Biológica de Nível 3.² Utilize uma seringa nova para cada frasco contendo sangue, para evitar uma contaminação cruzada.

Procedimento de inoculação na colheita directa

1. Antes da inoculação, desinfecte a parte de cima do frasco de cultura BacT/ALERT MB utilizando uma zaragatoa com álcool ou um produto equivalente. Deixe secar ao ar.
2. Efectue a colheita de sangue utilizando um conjunto sutureante e a Tampa do Acessório para Colheita de Sangue BacT/ALERT, e proceda à inoculação directamente no frasco de cultura BacT/ALERT MB, junto da cabeceira do doente (3 - 5 ml por frasco). Para evitar a inoculação excessiva, monitorize a admissão de volume de sangue para o frasco de cultura, utilizando as marcações com incrementos de 5 ml, na etiqueta do frasco.
3. Após a inoculação, limpar a parte de cima dos frascos com uma gaze embebida em 2% de Amphyll® ou outro agente micobactericida e deixar secar ao ar.
4. Transfira o frasco de cultura inoculado o mais rapidamente possível para o laboratório de análise.

Procedimento de inoculação com o tubo de colheita de sangue

1. A colheita de sangue pode ainda ser efectuada num tubo estéril de SPS ou num tubo heparinizado e inoculado no frasco de cultura BacT/ALERT MB no laboratório. Não é necessário um processamento prévio da amostra. O sangue colhido em EDTA é inaceitável, uma vez que o EDTA inibe o crescimento micobacteriano, mesmo apenas na presença de vestígios de EDTA.
2. Desinfecte a parte de cima do tubo e do frasco de cultura BacT/ALERT MB com uma zaragatoa com álcool ou um produto equivalente. Deixar o septo secar ao ar antes da inoculação da amostra de sangue.
3. Utilizando uma técnica asséptica, retire 3 - 5 ml do tubo de colheita com uma seringa estéril e proceda à inoculação para o frasco de cultura.
4. Após a inoculação, limpar a parte de cima dos frascos com uma gaze embebida em 2% de Amphyll ou outro agente micobactericida e deixar secar ao ar.

INCUBAÇÃO E MONITORIZAÇÃO

PRECAUÇÃO: durante a repicagem de frascos de cultura positiva, deverá tomar precauções gerais, uma vez que estes podem estar demasiado cheios ou conter organismos produtores de gás. O conteúdo dos frascos de cultura positiva pode estar sob pressão interna elevada. Os frascos de cultura positiva devem ser rapidamente arajados antes de se proceder à coloração ou eliminação, para eliminar o gás eventualmente produzido durante o metabolismo microbiano.

1. Coloque os frascos de cultura inoculados BacT/ALERT MB no Sistema de Detecção de Micobactérias MB/BacT (sem agitação) ou no Sistema de Detecção Microbiana BacT/ALERT (com agitação), seguindo as instruções fornecidas no Manual do Utilizador.
2. Depois de os frascos de cultura BacT/ALERT MB serem introduzidos no aparelho, devem permanecer aí durante, pelo menos, 42 dias ou até serem designados como positivos.

Os seguintes procedimentos requerem a utilização de técnicas, equipamento de contenção e instalações de nível 3 de segurança biológica.²

3. Quando o aparelho indicar que uma determinada célula contém um frasco positivo, retirar o frasco de acordo com os procedimentos indicados no Manual do Utilizador.
4. Deve ser efectuada um esfregão e uma repicagem para bacilos ácido-álcool-resistentes de todos os frascos designados como positivos. Numa câmara de segurança biológica, misturar o conteúdo do frasco, desinfectar a tampa do frasco com zaragatoa com álcool ou um produto equivalente e deixar secar ao ar. Retirar as amostras para coloração ácido-resistente e para repicagem utilizando uma agulha e uma seringa. Desinfectar a tampa do frasco com um agente micobactericida após a repicagem. Se o resultado do esfregão ácido-álcool-resistente for positivo, continuar com os procedimentos de identificação de micobactérias específicas empregues pela sua instituição. Se o esfregão for negativo para bacilos ácido-álcool-resistentes, mas revelar a presença de outros microrganismos, deve realizar-se uma coloração de Gram. Se tanto o esfregão ácido-resistente como a coloração de Gram forem negativos, indicando um possível falso positivo, o frasco deve ser recarregado no aparelho até ao crescimento da repicagem ou à sua redesignação como positivo ou negativo. Deve ser efectuada um esfregão e uma repicagem das culturas que foram inicialmente determinadas como falsas positivas e posteriormente designadas como positivas.
5. Se forem detetados microrganismos não micobacterianos na coloração de Gram, obtenha outra amostra para cultura, se assim o desejar. Deve também ser considerada a possibilidade de septicémia bacteriana.
6. Os resultados de culturas negativas devem ser confirmados por meio de esfregão e/ou subcultura, antes de tais culturas serem consideradas negativas.
7. **Não reutilize frascos de cultura BacT/ALERT.** Elimine frascos de cultura BacT/ALERT inoculados de acordo com o protocolo utilizado no seu laboratório. É apropriado proceder à autoclavagem e/ou incineração dos frascos BacT/ALERT inoculados.²

APRESENTAÇÃO DO RELATÓRIO DOS RESULTADOS

Resultados	Relatório
Sinal +, esfregaço BAAR +	Positivo para BAAR; identificação pendente
Sinal +, esfregaço BAAR -, coloração de Gram +	Sem relatório; ou a amostra está contaminada com microrganismos não micobacterianos; impossível determinar a presença/ausência de BAAR
Sinal +, esfregaço BAAR -, coloração de Gram -	Sem relatório. Subcultura para determinar um possível falso positivo

CONTROLO DE QUALIDADE

Cada caixa de frascos de cultura BacT/ALERT MB inclui um Certificado de Conformidade indicando um desempenho de crescimento satisfatório de *M. avium* ATCC 25291 e *M. intracellulare* ATCC 13950. Após a receção, os novos lotes ou carregamentos de frascos de cultura de BacT/ALERT MB ou reagentes podem ser testados para controlo de qualidade. Consulte o procedimento M22-A3 do CLSI/NCCLS quanto aos microrganismos de controlo de qualidade apropriados. Seguir o procedimento de preparação e inoculação do frasco:

- Adicionar 1,0 ml de Líquido de Enriquecimento MB/BacT a cada frasco de cultura BacT/ALERT MB necessário para o teste.
- Inocular os frascos representativos com 5,0 ml dos microrganismos de controlo, diluídos até 10³ UFC/ml, em sangue de carneiro estéril, desfibrinado. Subcultura em placas de Middlebrook 7H11 para determinar a viabilidade e a contagem.
- Depois de obter os resultados antecipados, utilizar os restantes frascos para testar as amostras clínicas. Se não forem obtidos os resultados esperados, contactar a Assistência a Clientes da bioMérieux.

LIMITAÇÕES DO TESTE

Muitas variáveis envolvidas em testes micobacterianos não podem, sob o ponto de vista prático, ser controladas de forma a fornecer uma total confiança de que os resultados obtidos se devam apenas ao comportamento funcional correcto ou incorrecto de qualquer meio de cultura ou sistema de detecção.

- As culturas obtidas para um diagnóstico primário após a iniciação da terapia podem produzir resultados negativos.
- A recuperação das micobactérias nos frascos BacT/ALERT MB depende da qualidade da amostra recolhida, do número de microrganismos passíveis de crescer em cultura existentes no volume da amostra. Uma vez que o meio é não selectivo e não contém antibióticos, quaisquer microrganismos presentes podem crescer no meio.
- Embora seja uma situação pouco frequente, o frasco de cultura BacT/ALERT MB poderá apresentar resultados positivos devido à presença de um número muito elevado de leucócitos na amostra de sangue. Isto resultará em amostras com resultados negativos na subcultura e no esfregaço.
- Os microrganismos são, muitas vezes, em número reduzido. É geralmente recomendada a colheita de amostras durante três dias consecutivos.
- A morfologia e a pigmentação da colónia devem apenas ser determinadas em meios sólidos.
- Os frascos de cultura BacT/ALERT MB com um sinal positivo podem conter uma ou mais espécies de micobactérias e/ou outras espécies não micobacterianas. Nas culturas micobacterianas mistas em meio líquido, as micobactérias de crescimento mais lento podem ser ultrapassadas pelas de crescimento mais rápido ou a cultura pode ser eliminada mais cedo, após ser descoberta a micobactéria de crescimento mais rápido. A identificação das micobactérias presentes exige a realização de uma repicagem e de outros procedimentos adicionais para identificação dos microrganismos presentes. A consistência da morfologia microscópica no frasco de cultura BacT/ALERT ainda não foi estabelecida.
- As micobactérias podem variar na ácido-álcool-resistência dependendo da estirpe, tempo da cultura e de outras variáveis. Todos os frascos com um sinal positivo devem ser repicados para meios micobacterianos selectivos e não selectivos. As espécies não micobacterianas podem ultrapassar as micobactérias presentes.

CARACTERÍSTICAS DO COMPORTAMENTO – MB/BacT (SEM AGITAÇÃO)

A nível interno, foram realizados estudos com culturas inoculadas num aparelho MB/BacT (sem agitação) com os seguintes microrganismos de teste em níveis ≤ 10 UFC/frasco e ≤ 100 UFC/frasco, utilizando sangue humano obtido a partir de uma população saudável.

Resultados de BacT/ALERT MB no Aparelho MB/BacT (sem agitação)

Micobactéria	Inóculo (UFC/frasco)	Tempo até à detecção (dias) ¹ BacT/ALERT [®] MB
Complexo TB		
<i>M. tuberculosis</i> (4 estirpes)		
CDC 18293, CDC 18280	≤ 100	13,3 - 27,2
CDC 18283, CDC 18286	≤ 10	14,3 - 30,0 ²
<i>M. bovis</i> (2 estirpes)	≤ 100	14,9 - 23,8
CDC 423, CDC 8131	≤ 10	16,2 - 25,5
Fotocromogéneos (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834,	≤ 100	10,0 - 14,6
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 10	13,1 - 39,9
Escotocromogéneos (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470,	≤ 100	14,4 - 30,5
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 10	17,2 - 32,6 ²
Não-cromogéneos (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (2 estirpes)	≤ 100	10,4 - 12,5
CDC 569, CDC 1155	≤ 10	13,8 - 14,8
<i>M. avium</i> (2 estirpes)	≤ 100	9,2 - 13,6 ³
CDC 440, CDC 768	≤ 10	10,9 ³ - 15,7
<i>M. intracellulare</i> (4 estirpes)		
CDC 403, VA 5,	≤ 100	8,5 - 12,1
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	11,0 - 12,9
De crescimento rápido (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100	2,2 - 2,3
	≤ 10	2,6 - 3,2

¹ Cada microrganismo foi testado três vezes, tendo-se calculado as médias, excepto quando assinalado. Os valores apresentados constituem uma média dos duplicados.

² Um de três frascos não apresentou qualquer crescimento; o valor fornecido é a média de dois frascos.

³ Um de três frascos contaminou; o valor fornecido é a média de dois frascos.

CARACTERÍSTICAS DO COMPORTAMENTO – BacT/ALERT (COM AGITAÇÃO)

A nível interno, foram realizados estudos com culturas inoculadas com os seguintes microrganismos de teste em níveis ≤ 10 UFC/frasco e ≤ 100 UFC/frasco, utilizando sangue humano obtido a partir de uma população saudável.

Resultados de BacT/ALERT MB no Aparelho BacT/ALERT (com agitação)

Micobactéria	Inóculo (UFC/frasco)	Tempo até à detecção (dias) ¹ BacT/ALERT [®] MB
Complexo TB		
<i>M. tuberculosis</i> (3 estirpes)		
CDC 18292, CDC 18280,	≤ 100	14,1 - 16,7
CDC 18286	≤ 10	14,6 - 18,4
<i>M. tuberculosis</i> CDC 18283	≤ 100	10,6
	≤ 10	13,2 ²
<i>M. bovis</i> CDC 423	≤ 100	19,8
	≤ 10	23,2
<i>M. bovis</i> CDC 8131	≤ 100	19,7
	≤ 10	NG ³
Fotocromogéneos (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834,	≤ 100	7,9 - 14,4 ²
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 10	8,9 - 16,8 ²
Escotocromogéneos (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470,	≤ 100	17,8 - 37,2
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 10	21,3 - 43,2 ³
Não-cromogéneos (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (3 estirpes)		
CDC 569, CDC 768,	≤ 100	7,5 - 11,5
CDC 1155	≤ 10	8,5 - 11,8
<i>M. avium</i> CDC 440	≤ 100	8,4
	≤ 10	9,3 ²
<i>M. intracellulare</i> (4 estirpes)		
CDC 403, VA 5,	≤ 100	9,0 - 11,6
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	9,9 - 13,1
De crescimento rápido (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100	2,1
	≤ 10	2,3

¹ Cada microrganismo foi testado três vezes, tendo-se calculado as médias. Os valores apresentados constituem um intervalo dessas médias, excepto o *M. bovis*, *M. tuberculosis* CDC 18283 e *M. avium* CDC 440, para os quais é apenas apresentada a média.

² Um de três frascos contaminou; o valor fornecido é a média de dois frascos.

³ Um de três frascos não apresentou qualquer crescimento; o valor fornecido é a média de dois frascos.


NOTA: pode solicitar uma lista de microrganismos raros e de crescimento lento, isolados com os frascos de cultura BacT/ALERT à bioMérieux.⁴


BIBLIOGRAFIA

- Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/ALERT: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Micro* 1990; 28(7), 1608-1612.
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
- Metchock B, Nolte FS, Wallace Jr RJ: Mycobacterium, in Murray PR, (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, ed 7. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1999, pp 399-437.
- Rare Organism Club, bioMérieux, Inc., 2007.

APRESENTAÇÃO

bioMérieux

BacT/ALERT[®] MB 25/caixa  251011


MB/BacT[®] Enrichment Fluid 5 frascos/kit  259877

Para obter assistência técnica nos EUA, contacte o Serviço de Atendimento ao Cliente da bioMérieux, através do telefone 1-800-682-2666. Fora dos EUA, contacte o representante local da bioMérieux.

bioMérieux, o logotipo azul, BacT/ALERT e MB/BacT são marcas comerciais utilizadas, pendentes e/ou registadas pertencentes à bioMérieux SA ou a uma das suas filiais.

Amphyl é uma marca comercial registada da Linden Corporation.

ATCC é uma marca comercial registada da American Type Culture Collection.

 bioMérieux, Inc.
Box 15969
Durham, North Carolina 27704-0969



bioMérieux, S.A.
69280 Marcy-l'Étoile France
www.biomerieux.com

©BIOMÉRIEUX 2000, 2004, 2007, 2008

Julho de 2008

BacT/ALERT® MB

433-02494

INDICA SEÇÃO REVISADA

Armazene os frascos de cultura BacT/ALERT® MB e o MB/BacT® Enrichment Fluid entre 15-30°C. Proteja da luz solar direta.

Consulte o glossário de símbolos no final do documento.

USO INDICADO

Os frascos de cultura BacT/ALERT MB com a adição do MB/BacT Enrichment Fluid, quando usados com o Sistema de Detecção de Micobactéria MB/BacT® (não agítavel) e o Sistema de Detecção Microbiana BacT/ALERT® (agítavel), é um meio de cultura não seletivo para cultura qualitativa e recuperação de micobactéria a partir de amostras sanguíneas.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

Os frascos de cultura BacT/ALERT MB em combinação com o MB/BacT Enrichment Fluid foram projetados para o cultivo de *Mycobacterium sp.* comumente isolada no sangue. O meio permitirá o crescimento de outros organismos aeróbios, incluindo leveduras, fungos e bactérias. O sistema completo inclui um agente lítico (Saponina), polianetolsulfonato de sódio (SPS) e outros meios suplementares que eliminam a etapa de processamento, evitam a coagulação do sangue e estimulam o crescimento de micobactérias. Um volume de sangue de 3 ml a 5 ml pode ser inoculado diretamente no frasco de cultura. Os frascos inoculados são colocados no aparelho, onde são incubados (35°C-37°C) e continuamente monitorados para verificação do crescimento microbiano.

PRINCÍPIO DO TESTE

O Sistema de Detecção de Micobactéria MB/BacT e os Sistemas de Detecção Microbiana BacT/ALERT utilizam um sensor colorimétrico e luz refletida para monitorar a presença e a produção de dióxido de carbono (CO₂) dissolvido no meio de cultura.¹ Se houver microrganismos presentes na amostra de teste, o dióxido de carbono é produzido à medida que os organismos metabolizam os substratos no meio de cultura. Quando o crescimento de microrganismos produz CO₂, a cor do sensor permeável a gás instalado no fundo de cada frasco de cultura muda de azul esverdeado para amarelo. As cores mais claras resultam em um aumento nas unidades de refletância monitoradas pelo sistema. A cada 10 minutos, o aparelho monitora e registra a refletância do frasco.

REAGENTES

Para uso em diagnóstico *in vitro*.

ADVERTÊNCIA: Para reduzir os riscos de exposição acidental a agentes infecciosos, devem-se tomar precauções adicionais ao usar o frasco de cultura BacT/ALERT MB no Sistema de Detecção Microbiana BacT/ALERT. É altamente recomendável que o aparelho seja colocado em um laboratório utilizado para a cultura rotineira de *M. tuberculosis*. Para atividades que envolvam a propagação e a manipulação de *M. tuberculosis* ou o crescimento de *Mycobacterium sp.* na cultura, recomendamos práticas, equipamentos de contenção e instalações com nível de biossegurança 3.²

UIDADO: Manipule as amostras e os frascos de cultura inoculados como produtos potencialmente infecciosos. Todos os frascos de cultura inoculados, agulhas de coleta de amostras e dispositivos de retirada de sangue devem ser descontaminados de acordo com os procedimentos da sua instituição.³

BacT/ALERT® MB

BacT/ALERT MB (código de cor preto) – os frascos de cultura descartáveis e estéreis BacT/ALERT MB contêm 29 ml de meio e um sensor interno que detecta o dióxido de carbono como indicador de crescimento microbiano. A fórmula do meio consiste em caldo Middlebrook 7H9 (0,47% p/v), dígênio pancreático de caseína (0,1% p/v), Glicerol (1,0% p/v), polianetolsulfonato de sódio (0,025% p/v) em água destilada. Os frascos contêm uma atmosfera de CO₂ em oxigênio e nitrogênio a vácuo. A composição do meio pode ser ajustada para atender aos critérios específicos de desempenho.

UIDADO: Os frascos de cultura BacT/ALERT MB são incubados a 37°C, o que potencialmente impede a recuperação de micobactérias que requeriam outras temperaturas de incubação (p.ex., *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). Os seguintes isolados foram positivamente detectados no aparelho MB/BacT (não agítavel) e no aparelho BacT/ALERT (agítavel) com o frasco de cultura BacT/ALERT MB durante estudos internos: *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. bovis*, *M. gordonae* e *M. simiae*.

UIDADO: É possível que certas micobactérias raras e exigentes não cresçam ou cresçam lentamente no meio de cultura dos frascos BacT/ALERT MB. Se houver suspeita de micobactérias raras e exigentes, que requeriam meio de cultura e condições especiais, deve-se recorrer a métodos alternativos ou aumentar o tempo de incubação para a recuperação.

UIDADO: Em algumas ocasiões raras, é possível encontrar organismos que crescem nos meios de cultura dos frascos BacT/ALERT MB mas não produzem uma quantidade suficiente de dióxido de carbono para serem determinados como positivos. Por exemplo, as amostras de pacientes que estejam sendo submetidos a tratamento com agentes antimicobacterianos podem apresentar um crescimento deficiente.

MB/BacT® Enrichment Fluid

Cada ampola de MB/BacT Enrichment Fluid contém um volume total de 5,5 ml. O MB/BacT Enrichment Fluid é composto de albumina sérica bovina (14,5% p/v), cloreto de sódio (2,5% p/v), ácido oléico (0,174% p/v), Saponina (4,4% p/v), em água destilada.

Materiais adicionais necessários

Sistema de Detecção de Micobactéria MB/BacT ou Sistema de Detecção Microbiana BacT/ALERT

Caldo Middlebrook 7H11 ou outro ágar para micobactérias ou meio de cultura com ovo

Incubadora de CO₂, 37°C ± 2°C

Seringas e agulhas estéreis

Desinfetante micobactericida

Aparelhagem para coleta de sangue

Cabine de segurança biológica

Luvas descartáveis estéreis

Jalecos descartáveis

Máscaras descartáveis

Recipientes adequados para o descarte de materiais biológicos perigosos, potencialmente contaminados com agentes infecciosos

Organismos de Controle de Qualidade

Materiais disponíveis da bioMérieux

Sistema de Detecção de Micobactéria MB/BacT ou Sistemas de Detecção Microbiana BacT/ALERT

Instruções de armazenamento

Armazene os frascos de cultura BacT/ALERT MB e o MB/BacT Enrichment Fluid à temperatura ambiente (15-30°C). Proteja da luz solar direta. O prazo de validade está impresso na etiqueta de cada frasco. Não use os frascos de cultura BacT/ALERT MB ou as ampolas de Enrichment Fluid após o último dia do mês indicado. Antes de serem utilizados, os frascos devem estar à temperatura ambiente.

APARELHOS

Leia o Manual do Usuário antes de usar o Sistema de Detecção Microbiana BacT/ALERT.

COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

É extremamente importante colher as amostras corretas para a cultura sanguínea. Consulte o Manual de Microbiologia Clínica³ para obter informações sobre os procedimentos apropriados para coleta e transporte de amostras. Desinfetar a pele adequadamente é um requisito essencial para reduzir a incidência de contaminação.

A bioMérieux recomenda que, após a coleta, os frascos de cultura inoculados sejam colocados no Sistema de Detecção Microbiana BacT/ALERT o mais rápido possível. Os frascos de cultura inoculados que ficarem do lado de fora devem ser mantidos à temperatura ambiente até poderem ser colocados na incubadora.

PROCEDIMENTO DE TESTE PARA FRASCO DE CULTURA BacT/ALERT MB

Observações e precauções preliminares

- AMOSTRA DE TESTE POTENCIALMENTE INFECTANTE. Observe as precauções universais ao manusear e descartar materiais infectantes. Manipule as amostras e os frascos de cultura inoculados como produtos potencialmente infecciosos.
- Para minimizar o potencial de vazamento durante a inoculação das amostras nos frascos de cultura, use seringas com agulhas fixas.
- Todos os frascos de cultura inoculados, agulhas de coleta de amostras e dispositivos de retirada de sangue devem ser descontaminados de acordo com os procedimentos da sua instituição.³

- Sempre transporte os frascos de cultura inoculados em um rack ou cesta. Em caso de derramamento ou quebra, pode-se formar um aerossol de micobactérias (incluindo *M. tuberculosis*) ou de outras bactérias. Siga as diretrizes de segurança da sua instituição e do CDC/NIH.² Com o aparecimento do vírus da imunodeficiência humana/síndrome da imunodeficiência adquirida, micobacteremia causada por *M. tuberculosis* tem ocorrido com mais frequência e o sangue agora é considerado uma fonte potencial de transmissão no laboratório.²
- A manipulação de organismos complexos de *M. tuberculosis* desenvolvidos em cultura exige práticas, equipamentos de contenção e instalações com nível de biossegurança 3.²
- Tome cuidado para evitar contaminação durante a preparação do frasco, a coleta da amostra do paciente e a inoculação da amostra do paciente no frasco de cultura BacT/ALERT MB.
- O MB/BacT Enrichment Fluid contém componentes que são necessários para assegurar um crescimento ideal de micobactérias, além de um agente lítico para lise das células sanguíneas. Este produto deve ser adicionado a todos os frascos de cultura BacT/ALERT MB.
- O MB/BacT Enrichment Fluid pode ser adicionado até 24 horas antes ou depois da inoculação do frasco com a amostra de sangue. Se a adição ocorrer depois da inoculação do sangue, o Enrichment Fluid deve ser adicionado usando as práticas com nível de biossegurança 3 apropriadas.²
- Os frascos de cultura devem ser utilizados apenas por técnicos de laboratório treinados.

Preparação dos frascos

NOTA: Tome cuidado para evitar contaminação durante o preparo do frasco e durante a inoculação da amostra do paciente.

Antes de serem usados, os frascos de cultura BacT/ALERT MB devem ser examinados para assegurar que não há sinais de dano ou deterioração (descoloração). Frascos que apresentem evidências de danos, vazamento ou deterioração devem ser descartados. O meio em frascos não movimentados deve ser claro. Não use frascos com meio turvo, excesso de pressão gasosa ou sensor amarelo; essas características são indícios de possível contaminação. Também inspecione todas as ampolas de MB/BacT Enrichment Fluid para verificar se houve dano ou contaminação. Não use ampolas de MB/BacT Enrichment Fluid que apresentem turbidez.

- Rotule o frasco de cultura com as informações do paciente. Os ícones no rótulo do frasco (⊕,#,⊗) podem ser definidos pelo usuário.
- Retire a tampa plástica do frasco de cultura e desinfete com álcool ou equivalente. Deixe secar.
- O Enrichment Fluid é fornecido separadamente e deve ser adicionado aos frascos de cultura sanguínea para o crescimento de micobactérias. Essa adição pode ser feita em até 24 horas da inoculação da amostra ou, se a inoculação da amostra for realizada na cama, após o recebimento das ampolas inoculadas no laboratório.
 - Retire a tampa plástica da ampola de Enrichment Fluid e desinfete com álcool ou equivalente. Deixe secar.
 - Adicione assepticamente 1 ml de Enrichment Fluid a cada frasco de cultura BacT/ALERT MB.
 - Empregue técnicas assépticas detalhadas para evitar a contaminação do Enrichment Fluid e do meio no frasco de cultura.

NOTA: Se o Enrichment Fluid for adicionado depois da inoculação da amostra de sangue, esta etapa deve ser realizada em uma cabine de segurança biológica e usando roupas de proteção apropriadas para atender aos padrões de segurança estabelecidos pelo CDC/NIH para as diretrizes de nível de biossegurança 3.² Para evitar contaminação cruzada, use uma seringa nova para cada frasco contendo sangue.

Procedimento de inoculação direta

- Antes da inoculação, desinfete a tampa do frasco de cultura BacT/ALERT MB com algodão com álcool ou equivalente. Deixe secar.
- Colha o sangue usando um conjunto em formato borboleta e uma Tampa do Adaptador BacT/ALERT para Coleta de Sangue e inocule diretamente no frasco de cultura BacT/ALERT MB na cama do paciente (3-5 ml por frasco). Para impedir inoculação em excesso, monitore o volume de sangue colocado no frasco de cultura, usando as marcas incrementais de 5 ml no rótulo do frasco.
- Após a inoculação, limpe as tampas dos frascos com gaze embebida em 2% de AmphyI® ou outro agente micobactericida e deixe secar.
- Leve o frasco de cultura inoculado para o laboratório de testes imediatamente.

Procedimento de inoculação em tubo de coleta de sangue

- O sangue também pode ser colhido em um tubo estéril com SPS ou heparinizado e inoculado no frasco de cultura BacT/ALERT MB no laboratório. Não é necessário processamento prévio da amostra. Sangue colhido em EDTA não é aceito porque o EDTA, mesmo em quantidades muito pequenas, inibe o crescimento de micobactérias.
- Desinfete a tampa do tubo de coleta de sangue e a tampa do frasco de cultura BacT/ALERT MB com algodão com álcool ou equivalente. Deixe as divisórias secarem antes da inoculação da amostra de sangue.
- Usando técnicas assépticas, retire 3-5 ml do tubo de coleta com uma seringa estéril e inocule no frasco de cultura.
- Após a inoculação, limpe a tampa do frasco com gaze embebida em 2% de AmphyI ou outro agente micobactericida e deixe secar.

INCUBAÇÃO E MONITORAMENTO

UIDADO: É preciso precaução ao fazer subcultura de frascos de cultura positivos, pois eles podem estar cheios demais ou conter organismos que produzem grande quantidade de gases. O conteúdo dos frascos de cultura positivos pode estar sob pressão interna elevada. Os frascos de cultura positivos devem ser temporariamente ventilados antes da coloração ou do descarte, para eliminar o gás produzido durante o metabolismo microbiano.

- Coloque os frascos de cultura BacT/ALERT MB inoculados no Sistema de Detecção de Micobactéria MB/BacT (não agítavel) ou no Sistema de Detecção Microbiana BacT/ALERT (agítavel), seguindo as instruções fornecidas no Manual do Usuário.
- Uma vez colocados, os frascos de cultura BacT/ALERT MB devem permanecer no aparelho por, no mínimo, 42 dias ou até que haja comprovação de resultado positivo.

Os procedimentos a seguir requerem o uso de práticas, equipamentos de contenção e instalações com nível de biossegurança 3.²

- Quando o aparelho indicar que uma célula específica contém um frasco positivo, retire o frasco de acordo com os procedimentos fornecidos no Manual do Usuário.
- Devem-se fazer esfregaço e subcultura de todos os frascos determinados como positivos para a detecção de bacilos ácido-resistentes. Em uma cabine de segurança biológica, misture os conteúdos dos frascos, desinfete a tampa com algodão com álcool ou equivalente e deixe secar. Retire a amostra para coloração ácido-resistente e subcultura usando uma seringa e agulha. Desinfete a tampa do frasco com um agente micobactericida após a subcultura. Se o esfregaço para bactérias ácido-resistentes for positivo, realize os procedimentos de identificação de micobactéria específicos empregados por sua instituição. Se o esfregaço der negativo para bacilos ácido-resistentes, mas revelar a presença de outros microrganismos, deve-se realizar uma coloração de Gram. Se o esfregaço ácido-resistente e a coloração de Gram derem negativos, indicando um possível falso positivo, o frasco deve ser colocado de volta no aparelho até ocorrer o crescimento da subcultura ou até ser identificado como positivo ou negativo. Deve-se fazer esfregaço e subcultura das culturas que inicialmente apresentarem resultados falso positivos e em seguida positivos.
- Se outros organismos diferentes de micobactérias forem vistos na coloração de Gram, obtenha outra amostra para cultura, se desejar. A possibilidade de septicemia bacteriana deve ser levada em consideração.
- As culturas negativas podem ser verificadas com esfregaço e/ou subcultura antes de serem descartadas como negativas.
- Não reutilize os frascos de cultura BacT/ALERT.** Descarte os frascos de cultura BacT/ALERT inoculados de acordo com o protocolo do seu laboratório. É conveniente usar autoclave e/ou incinerar os frascos BacT/ALERT inoculados.²

RELATÓRIO DOS RESULTADOS

Resultados	Relatório
Sinal +, Esfregaço AFB +	AFB positivo; identificação pendente
Sinal +, Esfregaço AFB –, Coloração Gram +	Sem relato; ou amostra contaminada com organismos não micobacterianos; impossível determinar presença/ausência de AFB
Sinal +, Esfregaço AFB –, Coloração Gram –	Sem relato. Subcultura para determinar possível falso positivo

CONTROLE DE QUALIDADE

Um Certificado de Conformidade acompanha cada caixa de frascos de cultura BacT/ALERT MB, indicando desempenho de crescimento de *M. avium* ATCC 25291 e *M. intracellulare* ATCC 13950 satisfatório. Após o recebimento, novos lotes ou remessas de frascos de cultura BacT/ALERT MB ou reagentes podem ser testados para controle de qualidade. Consulte o CLSI/NCCLS M22-A3 para obter informações sobre os organismos de Controle de Qualidade apropriados. Siga o procedimento de preparo e inoculação do frasco:

1. Adicione 1,0 ml de MB/BacT Enrichment Fluid a cada frasco de cultura BacT/ALERT MB necessário para o teste.
2. Inocule frascos representativos com 5,0 ml de organismos de controle, diluídos em 10³ CFU/ml de sangue de ovelha desfibrinado. Faça a subcultura em placas com Middlebrook 7H11 para determinar a viabilidade e a contagem.
3. Após a obtenção dos resultados esperados, use os frascos restantes para testar amostras clínicas. Se não obtiver os resultados esperados, entre em contato com o Serviço de Atendimento ao Cliente da bioMérieux.

LIMITAÇÕES DO TESTE

Na prática, muitas das variáveis envolvidas no teste micobacteriano não podem ser controladas para garantir que os resultados obtidos sejam devidos exclusivamente ao desempenho adequado ou inadequado de qualquer meio de cultura ou sistema de detecção.

1. Culturas obtidas para diagnóstico primário após o início da terapia podem produzir resultados negativos.
2. A recuperação de micobactérias em frascos de cultura BacT/ALERT MB depende da qualidade da amostra colhida e do número de organismos "culturáveis" por volume de amostra. Como o meio é não seletivo e não contém antibióticos, qualquer microrganismo presente pode crescer ali.
3. Com pouca frequência, podem ocorrer frascos de cultura BacT/ALERT MB positivos devido ao número muito alto de glóbulos brancos presentes na amostra de sangue. Isso resulta em amostras de esfregaço e subcultura negativas.
4. O número de organismos normalmente é pequeno. Geralmente, recomenda-se a coleta de amostras por três dias consecutivos.
5. A morfologia e a pigmentação das colônias devem ser determinadas apenas em meio sólido.
6. Os frascos de cultura BacT/ALERT MB com sinal positivo podem conter uma ou mais espécies de micobactéria e/ou outras espécies não micobacterianas. Em culturas de micobactérias mistas em caldo, uma cultura de crescimento rápido pode excluir por competição uma cultura de crescimento lento, ou a cultura pode ser descartada prematuramente após a detecção de organismos de crescimento rápido. A identificação da micobactéria presente requer a execução de subcultura e procedimentos adicionais para identificar os organismos presentes. Não se estabeleceu a uniformidade da morfologia microscópica em frascos de cultura BacT/ALERT MB.
7. Dependendo da estirpe, da idade da cultura e de outras variáveis, o grau de resistência a ácido das micobactérias pode variar. Todos os frascos com sinal positivo devem ser subculturados em meio seletivo e em meio não seletivo para micobactérias. As não-micobactérias podem crescer mais do que as micobactérias presentes.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO – MB/BacT (NÃO AGITÁVEL)

Foram realizados estudos de inoculação internos em um aparelho MB/BacT (não agitado) usando os seguintes organismos de teste em níveis ≤ 10 UFC/frasco e ≤ 100 UFC/frasco em sangue humano de uma população de adultos saudáveis.

Resultados de BacT/ALERT MB em aparelho MB/BacT (não agitado)

Micobactéria	Inóculo (UFC/frasco)	Intervalo de tempo até a detecção (dias) ¹ BacT/ALERT® MB
Complexo TB		
<i>M. tuberculosis</i> (4 estirpes)		
CDC 18293, CDC 18280	≤ 100	13,3 – 27,2
CDC 18283, CDC 18286	≤ 10	14,3 – 30,0 ²
<i>M. bovis</i> (2 estirpes)	≤ 100	14,9 – 23,8
CDC 423, CDC 8131	≤ 10	16,2 – 25,5
Fotocromógenos (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834,	≤ 100	10,0 – 14,6
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 10	13,1 – 39,9
Escotocromógenos (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470,	≤ 100	14,4 – 30,5
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 10	17,2 – 32,6 ²
Não-cromógenos (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (2 estirpes)	≤ 100	10,4 – 12,5
CDC 569, CDC 1155	≤ 10	13,8 – 14,8
<i>M. avium</i> (2 estirpes)	≤ 100	9,2 – 13,6 ³
CDC 440, CDC 768	≤ 10	10,9 ³ – 15,7
<i>M. intracellulare</i> (4 estirpes)		
CDC 403, VA 5,	≤ 100	8,5 – 12,1
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	11,0 – 12,9
Crescimento rápido (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100	2,2 – 2,3
	≤ 10	2,6 – 3,2

¹ Cada organismo foi testado em triplicata e as médias foram obtidas, exceto quando mencionado. Os valores dados são médias das réplicas.

² Um dos três frascos não mostrou crescimento; o valor é a média de dois frascos.

³ Um dos três frascos está contaminado; o valor é a média de dois frascos.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO – BacT/ALERT (AGITÁVEL)

Foram realizados estudos de inoculação internos usando os seguintes organismos de teste em níveis ≤ 10 UFC/frasco e ≤ 100 UFC/frasco em sangue humano de uma população de adultos saudáveis.

Resultados de BacT/ALERT MB em aparelho MB/BacT (Agitado)

Micobactéria	Inóculo (UFC/frasco)	Intervalo de tempo até a detecção (dias) ¹ BacT/ALERT® MB
Complexo TB		
<i>M. tuberculosis</i> (3 estirpes)		
CDC 18292, CDC 18280,	≤ 100	14,1 – 16,7
CDC 18286	≤ 10	14,6 – 18,4
<i>M. tuberculosis</i> CDC 18283	≤ 100	10,6
	≤ 10	13,2 ²
<i>M. bovis</i> CDC 423	≤ 100	19,8
	≤ 10	23,2
<i>M. bovis</i> CDC 8131	≤ 100	19,7
	≤ 10	NG ⁴
Fotocromógenos (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834,	≤ 100	7,9 – 14,4 ²
<i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 10	8,9 – 16,8 ²
Escotocromógenos (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470,	≤ 100	17,8 – 37,2
<i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 10	21,3 – 43,2 ³
Não-cromógenos (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (3 estirpes)		
CDC 569, CDC 768,	≤ 100	7,5 – 11,5
CDC 1155	≤ 10	8,5 – 11,8
<i>M. avium</i> CDC 440	≤ 100	8,4
	≤ 10	9,3 ²
<i>M. intracellulare</i> (4 estirpes)		
CDC 403, VA 5,	≤ 100	9,0 – 11,6
CDC 644, CDC 1406	≤ 10	9,9 – 13,1
Crescimento rápido (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100	2,1
	≤ 10	2,3

¹ Cada organismo foi testado em triplicata e foram calculadas as médias. Os valores são um conjunto dessas médias, exceto para *M. bovis*, *M. tuberculosis* CDC 18283 e *M. avium* CDC 440, para os quais apenas a média é dada.

² Um dos três frascos está contaminado; o valor é a média de dois frascos.

³ Um dos três frascos não mostrou crescimento; o valor é a média de dois frascos.

NOTA: Uma lista de organismos raros e exigentes recuperados com frascos de cultura BacT/ALERT está disponível no bioMérieux⁴ mediante solicitação.

BIBLIOGRAFIA

1. Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/ALERT: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Micro* 1990; 28(7), 1608-1612.
2. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
3. Metchock B, Nolte FS, Wallace Jr RJ: Mycobacterium, in Murray PR, (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, ed 7. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1999, pp 399-437.
4. Rare Organism Club, bioMérieux, Inc., 2007.

DISPONIBILIDADE

bioMérieux

BacT/ALERT® MB	25/caixa	REF 251011
MB/BacT® Enrichment Fluid	5 ampolas/kit	REF 259877

Para obter assistência técnica nos EUA, entre em contato com o Serviço de Atendimento ao Cliente da bioMérieux, no número 1-800-682-2666. Em outros países, entre em contato com um representante regional da bioMérieux.

bioMérieux, o logotipo azul, BacT/ALERT e MB/BacT são marcas comerciais utilizadas, pendentes e/ou registradas da bioMérieux SA ou de uma de suas subsidiárias.

Amphyl é uma marca registrada da Linden Corporation.

ATCC é uma marca registrada da American Type Culture Collection.

Atendimento ao Consumidor Tel. 0800-26 48 48

Fabricado por: bioMérieux, Inc., Durham, North Carolina, EUA

Distribuído por bioMérieux Brasil S/A

Estrada do Mapuá, 491 – Jacarepaguá

CEP 22710-261 Rio de Janeiro – RJ

CNPJ: 33.040.635/0001-71

bioMérieux, Inc.
Box 15969
Durham, North Carolina 27704-0969

©BIOMÉRIEUX 2000, 2003, 2007, 2008



bioMérieux, S.A.
69280 Marcy-l'Étoile France
www.biomerieux.com

Julho de 2008

BacT/ALERT® MB

43-02494

BETECKNAR ETT REVIDERAT AVSNITT

Förvara BacT/ALERT® MB-odlingsflaskor och MB/BacT® Enrichment Fluid vid 15–30 °C. Skydda mot direkt solljus.

Se symbolistan sist i bipacksedeln.

AVSEDD ANVÄNDNING

När BacT/ALERT MB-odlingsflaskor används med tillsats av MB/BacT Enrichment Fluid i MB/BacT® system för detektering av mykobakterier (icke-skakande) och BacT/ALERT® system för detektering av mikrober (skakande) är det ett icke-selektivt odlingsmedium för kvalitativ odling och påvisning av mykobakterier i blodprover.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

BacT/ALERT MB-odlingsflaskor i kombination med MB/BacT Enrichment Fluid är avsedda för odling av *Mycobacterium sp.* vanligtvis isolerat från blod. Mediet främjar växt av andra aeroba organismer, inklusive jäst, svampar och bakterier. Detta kompletta system inkluderar ett lytiskt ämne (saponin), natriumpolyanetolsulfonat (SPS) och andra mediatillsatser som eliminerar bearbetningssteget, förhindrar koagulering av blod och befriar tillväxt av mykobakterier. En volym om 3 ml till 5 ml blod kan inokuleras direkt i odlingsflaskan. Inokulerade flaskor placeras i instrumentet, där de inkuberas (35 till 37 °C) och kontinuerligt övervakas för mikrobiell växt.

ANALYSPRINCIP

MB/BacT system för detektering av mykobakterier och BacT/ALERT system för detektering av mikrober använder en kolorimetrisk sensor och reflekterar ljus för att övervaka förekomsten och produktion av koldioxid (CO₂) som lösts i odlingsmediet.1 Vid förekomst av mikroorganismer i provet, produceras koldioxid i takt med att organismerna metaboliserar substratet i odlingsmediet. När tillväxande mikroorganismer producerar CO₂, ändras färgen på den gaspermeabla sensorn som finns i botten av varje odlingsflaska från blågrönt till gult. Den ljusare färgen resulterar i en ökning av de reflektansenheter som registreras av systemet. Flaskans reflektans kontrolleras och registreras av instrumentet var tionde minut.

REAGENSER

För *in vitro*-diagnostik.

VARNING: För att minska riskerna för oavsiktlig exponering för smittämnen ska ytterligare försiktighetsåtgärder vidtas när BacT/ALERT MB-odlingsflaska används i BacT/ALERT system för detektering av mikrober. Det rekommenderas starkt att instrumentet placeras på ett laboratorium som används för rutinodling av *M. tuberculosis*. För aktiviteter som innefattar förökning och hantering av *M. tuberculosis* eller *Mycobacterium sp.* som odlas på medium rekommenderas förfarande enligt biosäkerhetsnivå 3, spridningsskyddande utrustning och anläggningar.2

FÖRSIKTIGHET: Prover och inokulerade odlingsflaskor ska hanteras som potentiellt infektiösa. Alla inokulerade odlingsflaskor, provtagningsnålar och anordningar för blodprovstagning ska dekontamineras enligt rutinerna vid din institution.3

BacT/ALERT® MB

BacT/ALERT MB (svart färgkod) – BacT/ALERT MB sterila odlingsflaskor för engångsbruk innehåller 29 ml odlingsmedium samt en intern sensor för detektering av koldioxid som en indikator på mikrobiell växt. Odlingsmediets sammansättning utgörs av Middlebrook 7H9-buljong (0,47 % vikt/volym), kasein nedbrutet med pankreasenzzymer (0,1 % vikt/volym), glycerol (1,0 % vikt/volym), natriumpolyanetolsulfonat (0,025 % vikt/volym), i renat vatten. Flaskorna innehåller en gasblandning av CO₂ i syrgas och kvävgas i vakuum. Mediets sammansättning kan justeras för att uppfylla specifika funktionskrav.

FÖRSIKTIGHET: BacT/ALERT MB-odlingsflaskor inkuberas vid 37 °C vilket potentiellt utesluter påvisning av mykobakterier som kräver andra inkuberings temperaturer (t.ex. *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. haemophilum*). Följande isolat detekteras som positiva i MB/BacT-instrumenten (icke-skakande) och i BacT/ALERT-instrumentet (skakande), med BacT/ALERT MB-odlingsflaska vid interna studier; *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. bovis*, *M. goodnae* och *M. simiae*.

FÖRSIKTIGHET: Det är möjligt att vissa sällsynta och krävande mykobakterier inte växer eller växer långsamt i odlingsmediet i BacT/ALERT MB-odlingsflaskorna. Vid misstanke om förekomst av sällsynta, krävande mykobakterier som fordrar speciella medier och odlingsförhållanden bör alternativa metoder eller förlängd inkubationstid för påvisning övervägas.

FÖRSIKTIGHET: I enstaka fall kan organismer påträffas, vilka växer i odlingsmediet i BacT/ALERT MB-odlingsflaskorna, men som inte producerar tillräckligt med koldioxid för att kunna klassas som positiva. Prover från patienter som behandlas med tuberkulosläkemedel kan till exempel uppvisa nedsatt växt.

MB/BacT® Enrichment Fluid

MB/BacT Enrichment Fluid-ampullerna innehåller en total flylnadsvolym på 5,5 ml vardera. MB/BacT Enrichment Fluid består av bovint serumalbumin (14,5 % vikt/volym), natriumklorid (2,5 % vikt/volym), oleinsyra (0,174 % vikt/volym), saponin (4,4 % vikt/volym), i renat vatten.

Ytterligare material som behövs

MB/BacT system för detektering av mykobakterier eller BacT/ALERT system för detektering av mikrober
Middlebrook 7H11 eller annat agar- eller äggbaserat medium för odling av mykobakterier
CO₂-inkubator, 37 °C ± 2 °C
Sterila sprutor och kanyler
Mikobakteriedödande desinfektionsmedel
Apparatur för blodprovstagning
Biologisk säkerhetsbänk
Sterila engångshandskar
Engångskläder
Engångsmasker
Lämpliga riskavfallsbehållare för material som kan vara kontaminerade med smittämnen
Kvalitetskontrollorganism

Material som kan beställas från bioMérieux

MB/BacT system för detektering av mykobakterier och BacT/ALERT system för detektering av mikrober

Förvaringsanvisningar

Förvara BacT/ALERT MB-odlingsflaskor och MB/BacT Enrichment Fluid vid rumstemperatur (15–30 °C). Skydda mot direkt solljus. Utgångsdatum är tryckt på varje flasketikett. Använd inte BacT/ALERT MB odlingsflaskor eller Enrichment Fluid-ampuller efter sista dagen i angiven månad. Flaskorna måste ha rumstemperatur innan de tas i bruk.

INSTRUMENT

Läs igenom användarhandboken till BacT/ALERT system för detektering av mikrober före användning.

PROVTAGNING OCH BEREDNING AV PROVER

Det är mycket viktigt att provtagningen görs på rätt sätt när man tar prover för blododling. Se Manual of Clinical Microbiology² för instruktioner för provtagning och transport. En förutsättning är att huden desinficeras noggrant för att förhindra kontaminering.

bioMérieux rekommenderar att inokulerade odlingsflaskor sätts in i BacT/ALERT system för detektering av mikrober så snart som möjligt efter provtagning. Inokulerade odlingsflaskor som inte sätts in direkt ska förvaras i rumstemperatur tills de kan placeras i inkubatorn.

ANALYSFÖRFARANDE FÖR BacT/ALERT MB-ODLINGSFASKOR

Inledande kommentarer och försiktighetsåtgärder

- POTENTIellt INFEKTIOSt PROv. Iakttag generella försiktighetsåtgärder vid hantering och kassering av infektöst material. Prover och inokulerade odlingar ska hanteras som potentiellt infektiösa.
- Minimera risken för läckage vid inokulation av prov i odlingsflaskor genom att använda sprutor med fasta kanyler.
- Alla inokulerade odlingsflaskor, provtagningsnålar och anordningar för blodprovstagning ska dekontamineras enligt rutinerna vid din institution.3
- Inokulerade odlingsflaskor ska alltid bäras i ställ eller korg. Om du råkar spilla eller om flaskan går sönder kan en aerosol med mykobakterier (inklusive *M. tuberculosis*) eller andra bakterier genereras. Följ de säkerhetsföreskrifter som utfärdats vid din institution och av CDC/NIH.2 I och med spridningen av humant immunbristsvirus/förvärt immunbristsyndrom förekommer mykobakteriemfi orsakat av *M. tuberculosis* allt oftare och blod klassas nu som en potentiell överföringskälla på laboratorier.2
- Vid hantering av *M. tuberculosis*-komplexorganismen som odlas på medium krävs förfarande enligt biosäkerhetsnivå 3, spridningsskyddande utrustning och anläggningar.2

- Vidta försiktighetsåtgärder för att förhindra kontaminering vid beredning av flaskan, när patientprovet tas och vid inokulering av patientprovet i BacT/ALERT MB-odlingsflaska.
- MB/BacT Enrichment Fluid innehåller komponenter som är nödvändiga för att säkerställa optimal växt av mykobakterier samt ett lytiskt ämne för lysering av blodkroppar. Denna produkt måste tillsättas till alla BacT/ALERT MB odlingsflaskor.
- MB/BacT Enrichment Fluid kan tillsättas upp till 24 timmar före eller efter inokulation av flaskan med blodprov. Om Enrichment Fluid tillsätts efter inokulation av blodet, måste det ske med förfaranden enligt biosäkerhetsnivå 3.2
- Dessa odlingsflaskor får endast användas av utbildad laboratoriepersonal.

Beredning av flaska

OBSt! Vidta försiktighetsåtgärder för att förhindra kontaminering både vid beredning av flaskan och vid inokulering av patientprovet.

Före användning ska BacT/ALERT MB-odlingsflaskor inspekteras för tecken på skador eller annan försämring (missfärgning). Flaskor som uppvisar tecken på skador, läckage eller annan försämring ska kasseras. Mediet i orörda flaskor ska vara klart. Flaskor med grumligt medium, högt gstryck eller en gul sensor ska ej användas; dessa fynd kan vara tecken på kontaminering. Inspektera även alla MB/BacT Enrichment Fluid-ampuller för tecken på skador eller kontaminering. Använd inte MB/BacT Enrichment Fluid-ampuller som visar tecken på grumlighet.

- Märk odlingsflaskan med patientinformation. Symbolerna på flasketiketten (☺,#,Ⓞ) kan definieras av användaren.
- Ta av plastlocket från odlingsflaskan och desinficera med en alkoholtork eller liknande. Låt lufttorka.
- Enrichment Fluid tillhandahålls separat och måste tillsättas i blododlingsflaskan för att växt av mykobakterier ska kunna ske. Tillsatsen kan ske inom 24 timmar från inokulation av provet. Om inokulation av provet görs vid patientens säng kan Enrichment Fluid tillsättas när de inokulerade ampullerna anländer till laboratoriet.
 - Ta av plastlocket från Enrichment Fluid-ampullen och desinficera med en alkoholtork eller liknande. Låt lufttorka.
 - Tillsätt med aseptisk teknik 1 ml Enrichment Fluid i varje BacT/ALERT MB-odlingsflaska.
 - Använd omsorgsfull aseptisk teknik för att undvika kontaminering av Enrichment Fluid och medium i odlingsflaskan.

OBSt! Om Enrichment Fluid tillsätts efter inokulation av blodprovet måste det här steget utföras vid en biologisk säkerhetsbänk och lämpliga skyddskläder måste användas för att uppfylla de säkerhetsstandarder som utfärdats av CDC/NIH för biosäkerhetsnivå 3.2 Undvik korskontaminering genom att använda en ny spruta för varje flaska med blod.

Inokulationsprocedur vid direktdragnig

- Desinficera före inokulering BacT/ALERT MB-odlingsflaskans topp med en alkoholtork eller liknande. Låt lufttorka.
- Samla upp blodet med hjälp av en butterfly-kanyl och BacT/ALERT adapterhylsa för blodprovstagning och inokulera direkt i BacT/ALERT MB-odlingsflaska vid patientens säng (3–5 ml per flaskas). Förhindra överinokulering genom att övervaka blodvolymen i odlingsflaskan med hjälp av 5 ml-märkena på flasketiketten.
- Efter inokulationen torkar du av flaskornas lock med en kompress indränkt med 2 % Amphyll® eller annat mykobakteriedödande medel och låt lufttorka.
- Transportera den inokulerade odlingsflaskan direkt till testlaboratoriet.

Inokulationsprocedur med blodprovsrör

- Blodprov kan även tas i ett sterilt SPS-rör eller ett hepariniserat rör och inokuleras i BacT/ALERT MB-odlingsflaskan på laboratoriet. Ingen förbehandling av provet krävs. Blodprov tagna i EDTA-rör får inte användas eftersom EDTA hämmar växt av mykobakterier till och med i små mängder.
- Desinficera blodprovsrörets topp och BacT/ALERT MB-odlingsflaskans topp med en alkoholtork eller liknande. Låt septa lufttorka före inokulering av blodprovet.
- Dra med aseptisk teknik upp 3–5 ml från provröret med en steril spruta och inokulera i odlingsflaskan.
- Efter inokulationen torkar du av flaskornas lock med en kompress indränkt med 2 % Amphyll eller annat mykobakteriedödande medel och låt lufttorka.

INKUBATION OCH MONITORERING

FÖRSIKTIGHET: Vid utodling av positiva odlingsflaskor bör allmänna försiktighetståtgärder vidtas då de kan vara överfulla eller innehålla kraftigt gasproducerande organismer. Ökat internt tryck kan uppstå i positiva odlingsflaskor. Positiva odlingsflaskor bör luftas under en kort period före färgning eller kassering så att de gaser som bildats vid den mikrobiella metabolismen frigörs.

- Sätt in de inokulerade BacT/ALERT MB-odlingsflaskorna i MB/BacT system för detektering av mykobakterier (icke-skakande) eller BacT/ALERT system för detektering av mikrober (skakande) enligt instruktionerna i användarhandboken.
- När BacT/ALERT MB-odlingsflaskorna har satts in i instrumentet ska de stå kvar i minst 42 dagar eller tills de betecknas som positiva.

Följande procedurer kräver förfarande enligt biosäkerhetsnivå 3, spridningsskyddande utrustning och anläggningar.2

- När instrumentet anger att en specifik cell innehåller en positiv flaskas ska flaskan tas ut i enlighet med de procedurer som finns i användarhandboken.
- Från alla flaskor som betecknas som positiva bör prov tas för fortsatt undersökning av utstryk och för utodling av syrafasta stavar. Blanda flaskinnehållet i en biologisk säkerhetsbänk, desinficera flaskproppen med en alkoholtork eller liknande och låt lufttorka. Avlägsna prov för syrafast färgning och odla ut med en spruta och kanyl. Desinficera flaskproppen med mykobakteriedödande medel efter utodling. Gå vidare med de specifika förfaranden för identifiering av mykobakterier som används vid din institution om det syrafasta utstryket är positivt. Om utstryket är negativt för syrafasta stavar, men visar förekomst av andra mikroorganismer, utför du en Gramfärgning. Om både det syrafasta utstryket och Gramfärgningen är negativa, vilket tyder på ett falskt positivt resultat, ska flaskan sättas tillbaka i instrumentet och lämnas kvar där tills växt uppstår i utodlingen eller flaskan omklassificeras som positiv eller negativ. Odlingar som initialt bedömts såsom falskt positiva och därefter omklassificerats som positiva ska undersökas vidare med utstryk och odlas ut.
- Om icke-mykobakteriella organismer visas i Gramfärgningen tar du ett nytt prov för odling om så önskas. Bakteriell septikemi bör också övervägas som en möjlighet.
- Negativa odlingar kan kontrolleras via utstryk och/eller fortsatt odling innan de kasseras såsom negativa.
- Återanvänd inte BacT/ALERT odlingsflaskor.** Kassera inokulerade BacT/ALERT odlingsflaskor i enlighet med laboratoriets rutiner. Autoklavering och/eller förbränning av inokulerade BacT/ALERT-flaskor är lämpligt.2

RAPPORTERING AV RESULTAT

Resultat	Rapportering
Signal +, AFB-utstryk +	Positiv för syrafasta stavar; identifiering pågår
Signal +, AFB-utstryk –, Gramfärgning +	Engen rapportering, eller provet är kontaminerat med andra organismer än mykobakterier, närvaro/frånvaro av syrafasta stavar kan inte bedömas
Signal +, AFB-utstryk –, Gramfärgning –	Engen rapportering. Odla ut för att fastställa möjliga falska positiva

KVALITETSKONTROLL

Ett intyg om uppfyllande av gällande krav medföljer varje förpackning med BacT/ALERT MB-odlingsflaskor och indikerar fullgod prestanda avseende växt av *M. avium* ATCC 25291 och *M. intracellulare* ATCC 13950. Efter mottagandet kan nya partier eller leveranser av BacT/ALERT MB-odlingsflaskor eller reagenser kvalitetskontrollerstas. Se CLSI/NCCLS M22-A3 för relevanta organismer för kvalitetskontroll. Följ proceduren Beredning och inokulering av flaskor:

- Tillsätt 1,0 ml MB/BacT Enrichment Fluid till varje BacT/ALERT MB-odlingsflaska som ska användas för testning.
- Inokulera representativa flaskor med 0,5 ml av kontrollorganismerna, utspädda till 10³ CFU/ml i sterilt desinficerat förblod. Odla ut på Middlebrook 7H11-plattor för att fastställa värlighet och antal.
- Efter att förväntade resultat erhållits kan resterande flaskor användas för analys av kliniska prover. Om förväntade resultat inte erhållits kontaktar du bioMérieux Customer Service.

ANALYSENS BEGRÄNSNINGAR

Det är många variabler vid test för mykobakterier som inte praktiskt kan kontrolleras för att totalt säkerställa att erhållna resultat uteslutande beror på korrekt respektive felaktig funktion i ett odlingsmedium eller detektionssystem.

- Odlingar som tagits för primärdiagnos efter insatt behandling kan ge negativa resultat.
- Påvisning av mykobakterier i BacT/ALERT MB-odlingsflaskorna är beroende av kvaliteten på det tagna provet och antalet odlingsbara organismer i provvolymen. Eftersom odlingsmedierna är icke-selektiva och inte innehåller antibiotika kan alla typer av förekommande mikroorganismer växa på odlingsmedierna.
- Det kan i enstaka fall förekomma positiva BacT/ALERT MB-odlingsflaskor beroende på att det finns ett mycket stort antal vita blodkroppar i blodprovet. Dessa prover ger negativa resultat vid utstryk och utodling.
- Det är ofta endast få organismer i provet. I allmänhet rekommenderas att prover tas under tre dagar i följd.
- Kolonimorfologi och pigmentering ska endast fastställas på fasta medier.
- BacT/ALERT MB-odlingsflaskor som signaleras som positiva kan innehålla en eller flera mykobakteriearter och/eller andra icke-mykobakteriearter. Vid blandade mykobakterieodlingar i buljong kan en långsamt växande art utkonkurreras av en snabbt växande, eller så kan odlingen ha kasserats så snart den snabbväxande arten detekteras. För identifiering av förekommande mykobakterier krävs utodling och ytterligare förfaranden för att identifiera närvarande organismer. Överensstämmelse vad gäller mikroskopisk morfologi i BacT/ALERT odlingsflaskor har ej fastställts.
- Mykobakteriernas svafasthet kan variera med stam, odlingsålder och andra variabler. Alla flaskor med en positiv signal från instrumentet ska utodlas på för mykobakterier både selektiva och icke-selektiva medier. Icke-mykobakterier kan ge övertaxt över de mykobakterier som finns närvarande.

PRESTANDAKARAKTÄRISTIK – MB/BacT (ICKE-SKAKANDE)

Interna inokulationsstudier har utförts i ett MB/BacT-instrument (icke-skakande) med följande testorganismer med nivåer på ≤ 10 CFU/flaska och ≤ 100 CFU/flaska med humant blod från en frisk vuxenpopulation.

Resultat av BacT/ALERT MB i MB/BacT-instrumentet (icke-skakande)

Mycobacterium	Inokulat (CFU/flaska)	Detektionstid (dagar) ¹ BacT/ALERT [®] MB
TB-komplex		
<i>M. tuberculosis</i> (4 stammar)		
CDC 18293, CDC 18280	≤ 100	13,3–27,2
CDC 18283, CDC 18286	≤ 10	14,3–30,0 ²
<i>M. bovis</i> (2 stammar)	≤ 100	14,9–23,8
CDC 423, CDC 8131	≤ 10	16,2–25,5
Fotokromogena (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834, <i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 100 ≤ 10	10,0–14,6 13,1–39,9
Scotokromogena (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470, <i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 100 ≤ 10	14,4–30,5 17,2–32,6 ²
Icke-kromogena (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (2 stammar)	≤ 100	10,4–12,5
CDC 569, CDC 1155	≤ 10	13,8–14,8
<i>M. avium</i> (2 stammar)	≤ 100	9,2–13,6 ³
CDC 440, CDC 768	≤ 10	10,9 ³ –15,7
<i>M. intracellulare</i> (4 stammar)		
CDC 403, VA 5, CDC 644, CDC 1406	≤ 100 ≤ 10	8,5–12,1 11,0–12,9
Snabbväxande (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100 ≤ 10	2,2–2,3 2,6–3,2

¹ Varje organism analyserades i tripliket, varefter medelvärden beräknades utom där så anges. Angivna värden är medelvärden för replikaten.

² En av tre flaskor uppvisade ingen växt; det angivna värdet är medelvärdet av två flaskor.

³ En av tre flaskor kontaminerade; det angivna värdet är medelvärdet av två flaskor.

PRESTANDAKARAKTÄRISTIK – BacT/ALERT (SKAKANDE)

Interna inokulationsstudier har utförts med följande testorganismer med nivåer på ≤ 10 CFU/flaska och ≤ 100 CFU/flaska med humant blod från en frisk vuxenpopulation.

Resultat av BacT/ALERT MB i BacT/ALERT-instrumentet (skakande)

Mycobacterium	Inokulat (CFU/flaska)	Detektionstid (dagar) ¹ BacT/ALERT [®] MB
TB-komplex		
<i>M. tuberculosis</i> (3 stammar)		
CDC 18292, CDC 18280, CDC 18286	≤ 100 ≤ 10	14,1–16,7 14,6–18,4
<i>M. tuberculosis</i> CDC 18283	≤ 100 ≤ 10	10,6 13,2 ²
<i>M. bovis</i> CDC 423	≤ 100 ≤ 10	19,8 23,2
<i>M. bovis</i> CDC 8131	≤ 100 ≤ 10	19,7 NG ³
Fotokromogena (Runyoun I)		
<i>M. kansasii</i> CDC 834, <i>M. simiae</i> CDC 524	≤ 100 ≤ 10	7,9–14,4 ² 8,9–16,8 ²
Scotokromogena (Runyoun II)		
<i>M. goodii</i> ATCC 14470, <i>M. xenopi</i> CDC 725	≤ 100 ≤ 10	17,8–37,2 21,3–43,2 ³
Icke-kromogena (Runyoun III)		
<i>M. avium</i> (3 stammar)		
CDC 569, CDC 768, CDC 1155	≤ 100 ≤ 10	7,5–11,5 8,5–11,8
<i>M. avium</i> CDC 440	≤ 100 ≤ 10	8,4 9,3 ²
<i>M. intracellulare</i> (4 stammar)		
CDC 403, VA 5, CDC 644, CDC 1406	≤ 100 ≤ 10	9,0–11,6 9,9–13,1
Snabbväxande (Runyoun IV)		
<i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i>	≤ 100 ≤ 10	2,1 2,3

¹ Varje organism analyserades i tripliket, varefter medelvärden beräknades. Angivna värden utgör intervall av dessa medelvärden med undantag för *M. bovis*, *M. tuberculosis* CDC 18283 och *M. avium* CDC 440, där endast medelvärdet är angivet.

² En av tre flaskor kontaminerade; det angivna värdet är medelvärdet av två flaskor.

³ En av tre flaskor uppvisade ingen växt; det angivna värdet är medelvärdet av två flaskor.

OBS! En lista över sällsynta och krävande organismer som påvisas med BacT/ALERT odlingsflaskor kan fås på begäran från bioMérieux.⁴

REFERENSER

- Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/ALERT: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Micro* 1990; 28(7), 1608-1612.
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
- Metchock B, Nolte FS, Wallace Jr RJ: Mycobacterium, in Murray PR, (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, ed 7. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1999, pp 399-437.
- Rare Organism Club, bioMérieux, Inc., 2007.

BESTÄLLNINGSPERIOD

bioMérieux

BacT/ALERT[®] MB 25/låda REF 251011

MB/BacT[®] Enrichment Fluid 5 ampuller/kit REF 259877

För teknisk assistans i USA, kontakta bioMérieux Customer Service på 1-800-682-2666. Utanför USA, kontakta lokal representant för bioMérieux.

bioMérieux, den blå logotypen, BacT/ALERT och MB/BacT är patentsökta och/eller registrerade varumärken som tillhör och används av bioMérieux SA eller något av dess dotterbolag.

Amphyl är ett registrerat varumärke som tillhör Linden Corporation.

ATCC är ett registrerat varumärke som tillhör American Type Culture Collection.
















bioMérieux, Inc.
Box 15969
Durham, North Carolina 27704-0969



bioMérieux, S.A.
69280 Marcy-l'Étoile France
www.biomerieux.com

© BIOMÉRIEUX 2000, 2004, 2007, 2008

Juli 2008

	<p>EN Consult Instructions for Use DA Se brugsanvisning DE Gebrauchsanweisung beachten EL Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης ES Consulte las instrucciones de uso FR Consulter les instructions d'utilisation IT Consultare le istruzioni per l'uso NO Se bruksanvisningen PL Sprawdź w instrukcji obsługi PT Consulte as instruções de utilização ptBR Consulte as instruções de uso SV Se handhavandebeskrivningen</p>	 <p>EN Use by DA Holdbar til DE Verwendbar bis EL Ημερομηνία λήξης ES Fecha de caducidad FR Utiliser jusque IT Utilizzare entro NO Brukes før PL Użyć przed PT Prazo de validade ptBR Usar até SV Använd före</p>
	<p>EN Temperature limitation DA Temperaturbegrænsning DE Temperaturbegrenzung EL Περιορισμοί θερμοκρασίας ES Límite de temperatura FR Limites de température IT Limiti di temperatura NO Temperaturbegrænsning PL Przestrzegać zakresu temperatury PT Limites de temperatura ptBR Limitação de temperatura SV Temperaturbegränsning</p>	 <p>EN Manufacturer DA Producent DE Hersteller EL Κατασκευαστής ES Fabricante FR Fabricant IT Fabbicante NO Produsent PL Producent PT Fabricante ptBR Fabricante SV Tillverkare</p>
	<p>EN In Vitro Diagnostic Medical Device DA Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik DE In Vitro Diagnostikum EL In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν ES Producto sanitario para diagnóstico in vitro FR Dispositif médical de diagnostic in vitro IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro NO In Vitro-Diagnostisk medisinsk utstyr PL Wyrób do diagnostyki In Vitro PT Dispositivo médico para diagnóstico in vitro ptBR Dispositivo médico de diagnóstico in vitro SV Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik</p>	 <p>EN Catalog number DA Katalognummer DE Bestellnummer EL Αριθμός καταλόγου ES Número de catálogo FR Référence du catalogue IT Numero di catalogo NO Katalognummer PL Numer katalogowy PT Referência de catálogo ptBR Número de catálogo SV Artikelnummer</p>
	<p>EN Batch code DA Lotnummer DE Chargenbezeichnung EL Αριθμός Παρτίδας ES Código de lote FR Code du lot IT Codice del lotto NO Batchkode PL Kod partii PT Código do lote ptBR Código do lote SV Lotnummer</p>	 <p>EN Sterile DA Sterilt DE Steril EL Αποστειρωμένο ES Estéril FR Stérile IT Sterile NO Steril PL Jałowe PT Estéril ptBR Esterilizado SV Sterilt</p>
	<p>EN Contains sufficient for <n> tests DA Indeholder tilstrækkeligt til <n> test DE Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen EL Περιεχόμενο επαρκές για <n> εξετάσεις ES Contenido suficiente para <n> ensayos FR Contenu suffisant pour <n> tests IT Contenuto sufficiente per <n> saggi NO Inneholder tilstrekkelig til <n> tester PL Wystarczy na wykonanie <n> testów PT Conteúdo suficiente para <n> ensaios ptBR Conteúdo suficiente para <n> testes SV Råcker till <n> antal tester</p>	 <p>EN Do not reuse DA Må ikke genbruges DE Nicht zur Wiederverwendung EL Μην κάνετε επαναληπτική χρήση ES No reutilizar FR Ne pas réutiliser IT Non riutilizzare NO Må ikke gjenbrukes PL Nie używać powtórnie PT Não reutilizar ptBR Não reutilize SV Återanvänd ej</p>
	<p>EN Fragile, handle with care DA Forsigtig, kan gå i stykker DE Zerbrechlich, mit Sorgfalt behandeln EL Ευθραυστο, να χρησιμοποιείται με προσοχή ES Frágil, manipular con precaución FR Fragile, manipuler avec précaution IT Fragile, maneggiare con cura NO Lettknuselig, må behandles med forsiktighet PL Ostrożnie, krucha PT Frágil, manusear com cuidado ptBR Frágil, manusear com cuidado SV Ömtåligt, hantera med försiktighet</p>	 <p>EN Authorized representative in the European Community DA Repræsentant i det Europæiske Fællesskab DE Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft EL Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα ES Representante autorizado en la Comunidad Europea FR Mandataire dans la Communauté européenne IT Mandatario nella Comunità Europea NO Autorisert representant i Europeiske Felleskap PL Autoryzowany przedstawiciel w Unii Europejskiej PT Representante Autorizado na Comunidade Europeia ptBR Representante autorizado na Comunidade Europeia SV Auktoriserad representant inom Europeiska gemenskapen</p>
	<p>EN Caution, consult accompanying documents DA Forsigtig, se brugsanvisning DE Achtung: Begleitdokumente beachten EL Προσοχή, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα ES Atención, consultar documentos adjuntos FR Attention, voir notice d'instructions IT Attenzione: vedere le istruzioni per l'uso NO Advarsel, les vedlagt dokumentasjon PL Uwaga, zapoznaj się z instrukcją stosowania PT Atenção, consultar a documentação incluída ptBR Atenção, consultar os documentos em anexo SV Se upp! Läs medföljande dokumentation</p>	