

88-0933-1  
Revised: July 1999**BBL™ SEPTI-CHEK™ AFB**  
**Mycobacteria Culture System**English: page 1 Italiano: pagin 4  
Français : page 2 Español: página 5  
Deutsch: Seite 3 Japanese: page 6**INTENDED USE**

The **BBL™ SEPTI-CHEK™** AFB Culture Bottle, **BBL™ SEPTI-CHEK™** AFB Supplement and **BBL™ SEPTI-CHEK™** AFB Slide are intended for use as an integrated, contained, in vitro diagnostic system for the detection and isolation of mycobacteria from sputum, bronchial washings or aspirate, body fluids (pleural, CSF, ascites, synovial), urine, stool, biopsy tissues or wounds and skin when mycobacteriosis is suspected.

**SUMMARY AND EXPLANATION**

Mycobacteria are infectious agents responsible for persistent and chronic clinical conditions most commonly of a respiratory nature, and some are spread by coughing and expectoration.<sup>1,2</sup> As a group, these organisms are capable of infecting nearly every organ of the body. This has become increasingly evident and frequent in cases of underlying immune dysfunction associated with conditions such as HIV infection and drug abuse.<sup>1,2</sup>

Historically, the most frequently encountered human pathogenic *Mycobacterium* is *M. tuberculosis*.<sup>1,2</sup> In some populations, this has been exceeded by the *Mycobacterium avium* complex.<sup>1,2</sup>

The mycobacteria have several characteristics which distinguish them from other bacteria. The most notable of these are resistance to decolorization after staining, relatively slow growth, and resistance to digesting agents.<sup>1</sup> Conventional culture media used for mycobacteria isolation are most often Lowenstein-Jensen (LJ), or Middlebrook 7H9, 7H10 or 7H11.<sup>1</sup> Growth in these media is observed in a range of 3 – 56 days, depending on the species isolated and concentration of viable bacteria. The **SEPTI-CHEK** AFB system is designed to promote rapid growth in a broth medium, while providing simultaneous subculture on three different media, a presumptive identification, and the ability to perform identification and susceptibility testing.

**PRINCIPLES OF THE PROCEDURE**

An appropriate patient sample is obtained, digested, concentrated and decontaminated as described in the "Specimen Collection" section of this insert. A measured portion of the treated specimen is then transferred aseptically to the **SEPTI-CHEK** AFB Culture Bottle to which **SEPTI-CHEK** AFB Culture Supplement has been added. The **SEPTI-CHEK** AFB Slide is immediately attached to the top of the bottle in place of the bottle cap in order to maintain the CO<sub>2</sub>-enriched atmosphere. The system is inverted and rotated initially, then periodically during incubation until colonies are observed on the slide or until the specimen is judged to be negative for mycobacteria (8 weeks). Both the broth and slides should be observed for growth. Acid-fast and Gram stains, additional subcultures, or probe assays may be performed from slide colonies and early broth growth can be used for additional testing, if desired.

**REAGENTS**

**SEPTI-CHEK AFB Mycobacteria Culture Bottle:** Modified Middlebrook 7H9 Broth.

Each bottle contains approximately 20 mL of medium in a CO<sub>2</sub>-enriched atmosphere.

Approximate Formula\* Per L of Processed Water

Casein Hydrolysate .....	1.053 g	Magnesium Sulfate Heptahydrate .....	0.053 g
Dipotassium Hydrogen Phosphate .....	1.579	L-glutamic Acid .....	0.526
Sodium Chloride .....	0.895	Ferrous Ammonium (II) Citrate .....	0.042
Ammonium Sulfate .....	0.526	Biotin .....	0.0005
Potassium Dihydrogen Phosphate .....	1.579	Malachite Green .....	0.001
Tri-Sodium Citrate Dihydrate .....	0.421		

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

**SEPTI-CHEK AFB Slide:** A slide with three numbered sides containing media –

Side 1 – Non-selective Middlebrook 7H11 Agar, modified, suitable for growth of most mycobacteria.

Side 2 – Egg based medium, suitable for growth of most mycobacteria.

Side 3 – Chocolate Agar for initial isolation of bacteria other than mycobacteria, which will grow on this agar only after extended incubation.

**BBL™ SEPTI-CHEK™ AFB Slide:** Approximate Formula\* Per L of Processed Water

Side 1: 7H11	Side 2: Egg	Side 3: Chocolate
Middlebrook 7H11 Agar Base .....	Middlebrook 7H11 Agar Base .....	GC Agar Base .....
21.0 g	21.0 g	36.0 g
Glycerol .....	Glycerol .....	Hemoglobin Powder .....
6.2	6.2	15.0
OADC .....	OADC .....	IsoVitalEX™ Enrichment ...
40.0 ml	40.0 ml	10.0
	Malachite Green .....	Granulated Agar .....
	0.05 g	4.0
	Egg Powder .....	
	50.0 (from whole eggs)	

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

**SEPTI-CHEK AFB Mycobacteria Culture Supplement:** Antibiotic and enrichment supplement for culture of mycobacteria. Approximately 2.2 g per bottle containing:

Approximate Formula\* Per L of Processed Water

HCl .....	0.16 g	Sodium Desoxycholate .....	0.01 g
Oleic Acid .....	0.45	Polymixin B Sulfate .....	0.13
Bovine Albumin Fract. V .....	100.00	Amphotericin B .....	0.13
Pyridoxal .....	0.02	Nalidixic Acid .....	0.40
Catalase .....	0.40	Trimethoprim Lactate.....	0.13
Glucose Monohydrate .....	40.00	Adiocillin .....	0.21
Glycerin .....	63.05		

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

**Precautions:** *in vitro* Diagnostic

As with any diagnostic procedure, clinical considerations and professional judgement should be used in interpreting any test result, particularly a single test result.

The **SEPTI-CHEK** AFB System is intended for use in laboratories experienced in handling mycobacteria or mycobacteria-containing specimens.<sup>1</sup> Since *M. tuberculosis* is highly infectious, specimens and **SEPTI-CHEK** AFB components should be handled by qualified personnel in compliance with "Universal Precautions"<sup>1</sup> and institutional guidelines. Bottles and slides should be autoclaved prior to being discarded.

**Instructions for Reagent Handling:** **SEPTI-CHEK** AFB Culture Bottles must be inoculated with 1 mL of reconstituted **SEPTI-CHEK** AFB Culture Supplement prior to use.

To reconstitute **SEPTI-CHEK** AFB Culture Supplement, add 9 mL of sterile distilled water. Gently swirl vial to dissolve contents. Dispense 1 mL to each **SEPTI-CHEK** AFB Culture Bottle to be used. One bottle of reconstituted **SEPTI-CHEK** AFB Culture Supplement is enough for 10 bottles of culture medium.

**Storage and Stability:**

**SEPTI-CHEK AFB Mycobacteria Culture Bottle** – Store at 15 – 25°C. Protect from light. Do not use if turbid. Broth should appear pale green to colorless. Broth to which 1 mL of supplement has been added is stable at 2 – 8°C for 14 days. DO NOT FREEZE. Do not inoculate after expiration date shown on bottle label.

**SEPTI-CHEK AFB Slide** – Store at 2 – 8°C. DO NOT FREEZE. Do not use dehydrated or contaminated slides. Do not attach to bottle after expiration date shown on package.

**SEPTI-CHEK AFB Mycobacteria Culture Supplement** – Store at 2 – 8°C. Protect from light. Supplement reconstituted with sterile distilled water can be stored at 2 – 8°C or at -20°C for up to 14 days prior to use. Do not use to supplement culture bottle after the expiration date shown on the bottle label.

**SPECIMEN COLLECTION**

All specimens should be collected and transported as recommended by the CDC, the *Manual of Clinical Microbiology* or your laboratory procedure manual.<sup>1,2</sup>

Specimen Type	Specific Specimen Handling Recommendations	Pretreatment before Culture Inoculation <sup>1,2</sup>
Sputum Bronchial Washing Bronchial Aspirate	3 early morning samples on successive days, not to exceed 10 mL each.	Decontaminate with N-acetyl-L-cysteine/NaOH (NALC-NaOH) or equivalent method. Resuspend pellet to final volume of 1 – 2 mL. Inoculate.
Body Fluid (Pleural, CSF, Ascites, Synovial)		Specimens which are collected aseptically and are expected to have no other bacteria can be inoculated without decontamination. If specimen is suspected of containing other bacteria, decontaminate with NALC-NaOH or equivalent method and proceed as for sputum.
Stool		Take small sample from specimen. Proceed as for sputum.
Tissues and Biopsy	Specimens may be frozen when a delay in processing is necessary.	Grind in a sterile tissue homogenizer in sterile saline. Bring volume to 2.0 mL. Inoculate. If specimen is suspected of containing other bacteria, decontaminate with NALC-NaOH or equivalent method prior to inoculation.
Urine	3 clean catch or catheterized morning urine specimens on successive days. 24 h pooled specimen is not recommended due to potential contamination.	Centrifuge (≥ 3,000 x g, 30 min). Decant and resuspend in 2 – 5 mL sterile distilled water. Decontaminate with NALC-NaOH or equivalent method. Resuspend pellet to final volume of 1 – 2 mL. Inoculate.
Wounds and Skin		For swabs, suspend in sterile saline, vortex 30 sec, and decontaminate with NALC-NaOH or equivalent method. Resuspend to 2.0 mL. Inoculate.

**PROCEDURE**

**Materials Provided:** Ten 20-mL **SEPTI-CHEK** AFB Mycobacteria Culture Bottles, Ten **SEPTI-CHEK** AFB Slides, One vial **SEPTI-CHEK** AFB Mycobacteria Culture Supplement sufficient for ten slides/bottles (See "Availability").

**Materials Not Provided:** Sterile specimen collection container and centrifuge tubes (non-breakable, sealed), sterile pipettes or needle and syringe, sterile distilled water, N-acetyl-L-cysteine powder, 4% NaOH, tissue homogenizer, sterile swab (tissue, wound, biopsy), centrifuge (2000 – 3500 x g), incubator (30 – 37°C), autoclave, vertical laminar flow hood, and bottle racks (See "Availability").

**Instructions for Use When Using a SEPTI-CHEK AFB Slide:**

- All manipulations should be carried out aseptically under a vertical laminar flow hood using standard precautions for mycobacteria.
- Reconstitute the **SEPTI-CHEK** AFB Mycobacteria Culture Supplement with 9 mL sterile distilled water. Add 1 mL supplement to each **SEPTI-CHEK** AFB Mycobacteria Culture Bottle. (Remove screw cap or inject through stopper.)
- Prepare specimen according to the chart found in "Specimen Collection" section of this insert.
- Add 0.5 – 1.0 mL of treated specimen to culture bottle by removing the screw cap.  
NOTE: The larger the volume of specimen used, the greater the sensitivity of the system. Particulate or turbid specimens may decrease the ability to recognize mycobacterial growth.
- Hold the **SEPTI-CHEK** AFB Slide upright while unscrewing the white bottom cap of the slide container. Do not touch the inner thread. Immediately attach the slide to the culture bottle. Inspect for tightness of fit. Label slide so as not to obscure any bacterial growth.
- Slowly rotate the system 360° around the vertical axis twice. (The **BBL™ SEPTI-CHEK™** Small Bottle Inversion Rack can be used to manipulate multiple systems. See "Availability.")  
NOTE: Delaying the first inversion until 48 h after incubation may decrease contamination.
- Incubate in a vertical position at 37°C (except for skin specimens, which require one system at 37°C and another at 30°C). A CO<sub>2</sub> incubator is **not** required, but may be used.
- Invert and rotate daily during the first week and then weekly for eight weeks or until growth is observed. In the event of condensation on the inside of the slide housing, carefully rotate the bottle so the broth washes the condensation clear but does not contact the slide. Inversion may wash off colonies and is not recommended once any colonies are seen.

**Instructions for Use When NOT Using a SEPTI-CHEK AFB Slide:**

- All manipulations should be carried out aseptically under a vertical laminar flow hood using standard precautions for mycobacteria.
- Reconstitute the **SEPTI-CHEK** AFB Mycobacteria Culture Supplement with 9 mL sterile distilled water. Add 1 mL supplement to each **SEPTI-CHEK** AFB Mycobacteria Culture Bottle. (Remove screw cap or inject through stopper.)
- Prepare specimen according to the chart found in "Specimen Collection" section of this insert.
- Add 0.5 – 1.0 mL of treated specimen to culture bottle by either removing the screw cap or by injecting the specimen directly into the bottle through the rubber stopper using a sterile syringe with a permanently attached needle or **Luer-Lok®** brand tip. Prior to injection of specimen, disinfect rubber stoppers using a 70% isopropyl alcohol solution.  
NOTE: The larger the volume of specimen used, the greater the sensitivity of the system. Particulate or turbid specimens may decrease the ability to recognize mycobacterial growth. If the specimen is injected, briefly loosen screw cap to increase the oxygen content of the bottle. Close cap tightly.

TRANSLINGUA  
ENG – 5 pt on 5.75 pt leading  
MLL – 4.75 pt on 5.25 pt leadingEdited: BDMS Package Design  
Date: 05/27/97  
MAP Format & revisionsReformatted: Translingua  
Date: 07/15/97  
MAP Format & revisionsEdited: BDMS Package Design  
Date: 09/10/97  
Re-sizeEdited: Translingua  
Date: 10/22/97  
AA-L Jap &  
Lasers/Negs/Disk-MLL & JapTRIM: 4.5" W x 18.5" L  
COLOR: Standard BLACK  
Lasers: MLL 85%  
Jap. 100%

5. If specimen is injected into culture bottle, disinfect rubber stopper immediately using a mycobactericidal disinfectant followed by cleaning with a 70% isopropyl alcohol solution.
6. Observe the contents of the bottle daily during the first week to detect rapidly growing mycobacteria or potential contaminants. After one week, examine negative cultures weekly for up to eight weeks. Observed changes may include turbidity, flakes or granules in broth.
7. Make subcultures to appropriate media and stains of broth when growth is suspected.

**Quality Control:** Test procedures for the SEPTI-CHEK AFB Mycobacteria Culture Bottle with supplement added, and the SEPTI-CHEK AFB Slide have been prepared in compliance with National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Vol. 5, No. 20, *Quality Assurance for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*.

Upon receipt of a new shipment or lot number, one of the following organisms is recommended for inoculation of SEPTI-CHEK AFB Mycobacteria Culture Bottle or SEPTI-CHEK AFB Slide at 10<sup>6</sup> CFU/bottle:

a)	<i>M. tuberculosis</i> ..... ATCC <sup>®</sup> 25177	<i>M. intracellulare</i> ..... ATCC 13950
	<i>M. kansasii</i> ..... ATCC 12478	<i>M. fortuitum</i> ..... ATCC 6841
	<i>M. scrofulaceum</i> ..... ATCC 19811	

and one of the following organisms is recommended for inoculation at 10<sup>6</sup> CFU/bottle:

b)	<i>Escherichia coli</i> ..... ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ..... ATCC 25923
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ..... ATCC 6305	

The growth in the bottle of the (a) group is checked after 21 and 28 days at 37°C with the following anticipated results:

(+) = Weak Growth.  
+ = Moderate-Strong Growth.

Mycobacterium	Growth After	
	21 Days	28 Days
<i>M. tuberculosis</i>	+	+
<i>M. kansasii</i>	+	+
<i>M. scrofulaceum</i>	(+)	(+)
<i>M. intracellulare</i>	(+)	(+)
<i>M. fortuitum</i>	+	+

Growth of the (a) group on slides should be observed after 21 days with the following expected results:

+ = Growth.  
- = No Growth.

The (b) group should show no or weak growth in the bottle after 7 days at 37°C.

Mycobacterium	Side 1: 7H11	Side 2: Egg	Side 3: Choc.
<i>M. tuberculosis</i>	+	+	+/-
<i>M. kansasii</i>	+	+	+/-
<i>M. scrofulaceum</i>	+	+	+/-
<i>M. intracellulare</i>	+	+	-
<i>M. fortuitum</i>	+	+	+/-

If the SEPTI-CHEK AFB Mycobacteria Culture Bottle with supplement added or the SEPTI-CHEK AFB Slide do not give the expected results, do not use the media until Technical Services (U.S.A.) has been contacted, 1-800-638-8663.

**RESULTS**

Growth on Slide			Interpretation of Growth on the Slide: Conclusion
1 7H11	2 Egg	3 Choc.	
+	-	-	High probability of mycobacteria.
-	+	-	High probability of mycobacteria.
+	+	-	High probability of mycobacteria.
+	+	+	High probability of mycobacteria. Moderate probability of mycobacteria and contaminant.
-	-	+	High probability of non-mycobacterial contaminant.

Confirmation or differentiation of non-mycobacterial contaminants should always be done by microscopic examination for acid-fast bacilli.

**Interpretation of Growth in Broth:**

Observation	Conclusion
Broth only	High probability of mycobacteria.
Broth & Side 1 & 2 or 1 or 2, or 1, 2 & 3	High probability of mycobacteria.
Not in Broth or on Slide	Uninoculated system or no viable organisms in sample.
Broth and Side 3 only	Probable mycobacteria and non-mycobacterial contaminant. Low probability of non-mycobacterial contaminant alone. Low probability of mycobacteria alone.

NOTE: Mycobacteria may sometimes generate a non-homogeneous turbidity in the growth culture medium, but often give rise to merely grains or flakes of varying diameter and quantity. Microscopic inspection of positive cultures is recommended for detection of acid-fast bacilli.

**LIMITATIONS OF PROCEDURE**

Mycobacteria are often fastidious, and a single negative culture should not be used to rule out their presence.

Cultures with large amounts of non-mycobacterial contaminants should be repeated and/or subcultured by transfer of broth from an inoculated system to a new system. Mycobacterial growth can often be inhibited or obscured by contaminants but enhanced by subculture. If mixture of contaminant and mycobacteria is present, digestion and decontamination may allow recovery of mycobacteria. The BBL™ SEPTI-CHEK™ AFB system is intended for use in the detection, isolation and subculture of mycobacteria. An acid-fast stain from the culture broth and/or slide is required for confirmation. Species identification from growth on the slide may be performed using either conventional methods or probe technologies.

**PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

The SEPTI-CHEK AFB system permits the recovery of mycobacteria from clinical specimens. Three independent published studies have evaluated the performance of the SEPTI-CHEK AFB system as shown in the following tables:<sup>9,10,11</sup>

**STUDY A<sup>9</sup>**

Organism	# of Isolates	% Recovery			SEPTI-CHEK TTD <sup>‡</sup> (days)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC™ 460TB	Conventional Media*	
<i>M. tuberculosis</i> complex	75	100	N/A	90	23
<i>M. avium</i> complex	40	100	N/A	60	18 – 21
<i>Mycobacterium</i> species <sup>†</sup>	17	100	N/A	71	24 – 26

\* Conventional media reflects combination of Lowenstein-Jensen and 7H11.  
† *M. fortuitum* (4), *M. chelonae* (3), *M. goodii* (5), *M. kansasii* (4) and *M. xenopi* (1).  
‡ TTD (Time-To-Detection) based on SEPTI-CHEK AFB broth-slide combination.

**STUDY B<sup>10</sup>**

Organism	# of Isolates	% Recovery			SEPTI-CHEK TTD <sup>‡</sup> (days)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC™ 460TB	Conventional Media*	
<i>M. tuberculosis</i> complex	34	100	100	82	19 – 37
<i>M. avium</i> complex	25	92	92	68	18 – 20
<i>Mycobacterium</i> species <sup>†</sup>	2	50	50	50	36

\* Lowenstein-Jensen. † *M. goodii* (2).

**STUDY C<sup>11</sup>**

Organism	# of Isolates	% Recovery			SEPTI-CHEK TTD <sup>‡</sup> (days)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC™ 460TB	Conventional Media*	
<i>M. tuberculosis</i> complex	9	100	89	67	20
<i>M. avium</i> complex	47	94	74	62	14
<i>Mycobacterium</i> species <sup>†</sup>	10	90	40	40	17

\* Lowenstein-Jensen. † *M. chelonae* (4), *M. fortuitum* (2), *M. scrofulaceum* (1) and *M. goodii* (3).

**AVAILABILITY**

Cat. No.	Description	Description
243558	BBL™ SEPTI-CHEK™ AFB Mycobacteria Culture Bottles, 10 x 20 mL bottles.	BBL™ SEPTI-CHEK™ Small Bottle Inversion Rack.
	BBL™ SEPTI-CHEK™ AFB Mycobacteria Culture Supplement, 5 x 2.2 g bottles.	BBL™ SEPTI-CHEK™ Slide, cpu 10.
	BBL™ SEPTI-CHEK™ AFB Slide, 10 per carton.	BBL™ SEPTI-CHEK™ Slide, cpu 50.

For specific catalog number information, visit our website <http://www.bd.com/microbiology>, or contact the nearest Becton Dickinson Microbiology Systems office.

**REFERENCES**

1. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. *Bailey and Scott's diagnostic microbiology*, 9th ed. St Louis: Mosby-Year Book, Inc., 1994: 590-633.
2. Wentworth, B.B., coordinating ed. *Diagnostic procedures for bacterial infections*, 7th ed. Washington, DC: American Public Health Association, Inc., 1987: Chapter 30.
3. Joklik, W., H.P. Willett, D.B. Amos, C. Wilfert eds., *Zinsser microbiology*, 19th ed. New York: Appleton and Lange, 1988: Chapter 33.
4. Kiehn, T.E., et al., *J. Clin. Microbiol.*, 21:168-73, 1985.
5. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover, eds. *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 400-437, 1995.
6. Mac Donald, N., Paper C-24 Abstracts American Soc. Microb. Annual Meeting 1988:336.
7. Kent, P.T., and G.P. Kubica. *Public health mycobacteriology: A guide for the level III laboratory*. U.S. Department of Health and Human Services, PHS CDC, 1985.
8. *Bloodborne Pathogens. Code of Federal Regulations, Title 29, Part 1910.1030, Fed. Regist.*, 1991, 56:64175-64182.
9. D'Amato, R.F., Isenberg, H.D., Hochstein, L., Mastellone, A.J., and Alperstein, P.J. *Clin. Microbiol.*, 29:2906-2908, 1991.
10. Sewell, D.L., Rashad, A.L., Rourke, W.J., Poor, S.L., McCarthy, J.C. and Pfaller, M.A. *J. Clin. Microbiol.*, 31:2689-2691, 1993.
11. Whittier, P.S., Westfall, K., Setterquist, S. and Hopfer, R.L. *Eur. J. Clin. Microbiol. and Infect. Dis.*, 11:915-917, 1992.

TECHNICAL INFORMATION: In the United States, telephone Technical Services, toll free (800) 638-8663.



© 1999 Becton Dickinson and Company  
BACTEC, BBL, IsoVistaX, Luer-Lok and SEPTI-CHEK are trademarks of Becton Dickinson and Company.  
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

**BECTON DICKINSON**

Becton Dickinson Microbiology Systems  
Becton Dickinson and Company  
7 Loveton Circle  
Sparks, Maryland 21152 USA



Becton Dickinson France S.A.  
11 rue Aristide Bergès  
38800 Le Pont de Claix, France

MADE IN U.S.A.

88-0933-1  
Révisé : 07-99

Produit enregistré auprès de l'ADM.

FRANÇAIS

# BBL SEPTI-CHEK AFB

## Système pour culture de mycobactéries

### APPLICATION

Le flacon de culture **BBL SEPTI-CHEK AFB**, le supplément **BBL SEPTI-CHEK AFB** et la lame **BBL SEPTI-CHEK AFB** forment en cas de suspicion d'une mycobactériose, un système de diagnostic *in vitro* intégré, destiné à détecter et à isoler des mycobactéries provenant de crachats, lavages broncho-alvéolaires ou ponctions bronchiques, liquides physiologiques (pleural, céphalorachidien, ascitique, synovial), urine, selles, biopsie ou plaies, et de la peau.

### RESUME ET EXPLICATION

Les mycobactéries sont des agents infectieux responsables d'états pathologiques chroniques et persistants, le plus fréquemment de nature respiratoire, certaines se propageant par la toux et l'expectoration.<sup>1,2</sup> En groupe, ces organismes sont capables d'infecter presque tous les organes. Dans les cas de dysfonctionnement immunitaire liés aux infections VIH et à la toxicomanie, cette observation devient de plus en plus évidente et fréquente.<sup>3,4</sup>

Historiquement, la mycobactérie pathogène la plus fréquemment rencontrée chez l'homme est *M. tuberculosis*.<sup>1,2</sup> Dans certaines populations, celle-ci est supplantée par le complexe *Mycobacterium avium*.<sup>5,6</sup>

Les mycobactéries présentent plusieurs caractéristiques qui les distinguent des autres bactéries. Parmi les plus notables, on note une résistance à la décoloration, une croissance relativement lente, une résistance aux agents digestifs.<sup>7</sup> Les milieux de culture les plus fréquemment utilisés pour isoler les mycobactéries sont les milieux de Lowenstein-Jensen (LJ) ou les milieux de Middlebrook 7H9, 7H10 et 7H11.<sup>8</sup> On observe une croissance des mycobactéries dans ces milieux après une période de 3 à 56 jours suivant le type de bactérie isolé et la concentration de bactéries viables. Le système **SEPTI-CHEK AFB** est conçu pour favoriser une croissance rapide en milieu liquide tout en permettant un repiquage simultané sur trois milieux différents, une identification préliminaire et la possibilité d'effectuer des tests d'identification et de sensibilité.

### PRINCIPES DE LA METHODE

Un échantillon approprié est prélevé, digéré, concentré et décontaminé conformément aux instructions figurant dans la rubrique "Prélèvement des échantillons" de cette notice. Une certaine fraction de l'échantillon traité est ensuite transférée aseptiquement dans un flacon de culture **SEPTI-CHEK AFB** auquel on a ajouté le supplément de culture **SEPTI-CHEK AFB**. La lame **SEPTI-CHEK AFB** est immédiatement fixée à l'emboîture du flacon à la place du capuchon afin de préserver l'atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub>. Le système est retourné et centrifugé en début de manipulation, puis périodiquement en cours d'incubation jusqu'à l'apparition de colonies sur la lame ou jusqu'à ce que l'échantillon soit considéré négatif pour la détection de mycobactéries (8 semaines). Veiller à la croissance des bactéries à la fois dans le bouillon et sur les lames. Des colorations acido-résistant et de Gram, des cultures supplémentaires, ou des tests avec des sondes peuvent être réalisés à partir des colonies sur lame et le tout premier développement en bouillon de culture peut servir à des tests supplémentaires, si désiré.

### REACTIFS

**Flacon pour culture de mycobactéries SEPTI-CHEK AFB** : Bouillon 7H9 de Middlebrook modifié.

Chaque flacon contient approximativement 20 mL de milieu dans une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub>.

Formule approximative\* par L d'eau traitée

Hydrolysat de caséine .....	1,053 g	Sulfate de magnésium heptahydraté .....	0,053 g
Phosphate bipotassique d'hydrogène .....	1,579	Acide L-glutamique .....	0,526
Chlorure de sodium .....	0,895	Citrate d'ammonium ferrique (HI) .....	0,042
Sulfate d'ammonium .....	0,526	Biotine .....	0,0005
Phosphate de potassium dihydrogéné .....	1,579	Vert malachite .....	0,001
Citrate trisodique dihydraté .....	0,421		

\*Ajustée et/ou supplémentée en fonction des critères de performance imposés.

**Lame SEPTI-CHEK AFB** : lame sur laquelle figurent trois faces contenant des milieux numérotés –

Face 1 – Gélose, 7H11 de Middlebrook non-sélective, modifiée et adaptée à la culture de la plupart des bactéries.

Face 2 – Milieu à base d'oeuf, adapté à la culture de la plupart des mycobactéries.

Face 3 – Gélose chocolat destinée à l'isolement initial de bactéries (à l'exclusion des mycobactéries) qui ne pousseront sur cette gélose qu'après une incubation prolongée.

**Lame BBL SEPTI-CHEK AFB** : formule approximative\* par L d'eau traitée

Face 1 : 7H11	Face 2 : Oeuf	Face 3 : Chocolat
Base de gélose Middlebrook 7H11 ..... 21,0 g	Base de gélose Middlebrook 7H11 ..... 21,0 g	Base de gélose GC..... 36,0 g
Glycérol ..... 6,2	Glycérol ..... 6,2	Poudre d'hémoglobine ..... 15,0
QADC ..... 40,0 ml	QADC ..... 40,0 ml	Enrichissement de Vitalek ..... 10,0
	Vert malachite ..... 0,05 g	Gélose en granules ..... 4,0
	Poudre d'oeuf ..... 50,0 (d'oeufs entiers)	

\*Ajustée et/ou supplémentée en fonction des critères de performance imposés.

**Supplément pour culture de mycobactéries SEPTI-CHEK AFB** : antibiotique et supplément enrichi pour la culture des mycobactéries. Approximativement 2,2 g par flacon contenant :

Formule approximative\* par L d'eau traitée

HCl .....	0,16 g	Désoxycholate de sodium .....	0,01 g
Acide oléique .....	0,45	Sulfate de polymyxine B .....	0,13
Albumine bovine (fraction V) .....	100,00	Amphotéricine B .....	0,13
Pyridoxal .....	0,02	Acide nalidixique .....	0,40
Catalase .....	0,40	Lactate de triméthoprime .....	0,13
Monohydrate de glucose .....	40,00	Azlocilline .....	0,21
Glycérine .....	63,05		

\*Ajustée et/ou supplémentée en fonction des critères de performance imposés.

### Précautions : diagnostic *in vitro*

Comme pour tout diagnostic, les considérations cliniques et le jugement professionnel doivent servir à l'interprétation de tout résultat, particulièrement en cas de test unique.

Le système **SEPTI-CHEK AFB** est destiné aux laboratoires ayant une expérience confirmée en matière de manipulation de mycobactéries ou d'échantillons contenant des mycobactéries.<sup>7</sup> Compte tenu du caractère très infectieux de *M. tuberculosis*, les échantillons et les éléments composant le **SEPTI-CHEK AFB** doivent être manipulés par un personnel qualifié, conformément aux règlements en vigueur et aux "Précautions Universelles".<sup>8</sup> Les flacons et lames doivent être autoclavés avant d'être jetés.

**Instructions pour la manipulation de réactifs** : avant utilisation, introduire 1 mL de supplément pour culture de mycobactéries **SEPTI-CHEK AFB** reconstitué dans les flacons de culture **SEPTI-CHEK AFB**.

Pour reconstituer le supplément de culture **SEPTI-CHEK AFB**, ajouter 9 mL d'eau distillée stérile puis agiter délicatement afin de dissoudre les différents éléments contenus dans le flacon. Verser 1 mL dans chaque flacon de culture **SEPTI-CHEK AFB**. Un flacon de supplément de culture **SEPTI-CHEK AFB** suffit pour 10 flacons de milieu de culture.

### Conservation et stabilité :

**Flacon pour culture de mycobactéries SEPTI-CHEK AFB** – Conserver à 15 – 25 °C. Protéger de la lumière. Ne pas utiliser si le milieu est trouble. La couleur du bouillon peut varier de vert pâle à transparent. Après ajout de 1 mL de supplément de culture, le bouillon reste stable pendant 14 jours à 2 – 8 °C. NE PAS CONGELER. Ne pas inoculer après la date d'expiration indiquée sur l'étiquette du flacon.

**Lame SEPTI-CHEK AFB** – Conserver à 2 – 8 °C. NE PAS CONGELER. Ne pas utiliser de lames déshydratées ou contaminées. Ne pas fixer de lame sur le flacon après la date d'expiration indiquée sur l'étiquette de l'emballage.

**Supplément pour culture de mycobactéries SEPTI-CHEK AFB** – Conserver à 2 – 8 °C. Protéger de la lumière. Le supplément reconstitué avec de l'eau distillée stérile peut être stocké à 2 – 8 °C ou à -20 °C pendant un maximum de 14 jours avant d'être utilisé. Ne pas utiliser pour supplémenter des flacons de culture après la date d'expiration indiquée sur l'étiquette.

### PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

Tous les échantillons doivent être prélevés et transportés selon les recommandations du CDC (U.S. Centers for Disease Control and Prevention), ou celles du *Manual of Clinical Microbiology* ou les procédures en vigueur dans votre laboratoire.<sup>5,7</sup>

Type d'échantillon	Recommandation pour la manipulation d'un échantillon spécifique	Prétraitement avant inoculation <sup>1,7</sup>
Crachats Lavages broncho-alvéolaires Ponctions bronchiques	3 échantillons prélevés le matin plusieurs jours de suite, ne dépassant pas 10 mL chacun.	Décontaminer avec de la N-acétyl-L-cystéine-NaOH (NALC-NaOH) ou une méthode équivalente. Ré-suspendre le culot dans 1 – 2 mL de volume final. Inoculer.
Liquides physiologiques (pleural, LCR, ascitique, synovial)		Les échantillons prélevés de manière aseptique qui sont supposés ne contenir aucune autre bactérie peuvent être inoculés sans décontamination préalable. Si un échantillon est soupçonné contenir d'autres bactéries, le décontaminer avec NALC-NaOH ou par une méthode équivalente et procéder comme pour un crachat.
Selles		Prélever une parcelle de l'échantillon. Procéder comme pour les crachats.
Tissus et biopsies	Les échantillons peuvent être congelés si nécessaire en cas de traitement ultérieur.	Broyer dans un homogénéiseur stérile de tissus dans du sérum physiologique stérile. Ajuster le volume à 2,0 mL. Inoculer. Si l'échantillon est soupçonné contenir d'autres bactéries, le décontaminer avec NALC-NaOH ou toute autre méthode équivalente avant l'inoculation.
Urine	Recueillir 3 échantillons des urines du matin au milieu du jet ou à l'aide d'une sonde. Les urines de 24 h ne doivent pas être mélangées en raison d'un risque de contamination potentielle.	Centrifuger (≥ 3000 x g, 30 min). Décanter et re-suspendre dans 2 – 5 mL d'eau distillée stérile. Décontaminer avec NALC-NaOH ou toute autre méthode équivalente. Ré-suspendre le culot dans 1 – 2 mL de volume final. Inoculer.
Plaies et peau		Pour les écouvillons, suspendre dans du sérum physiologique stérile, agiter au vortex, 30 sec, et décontaminer avec NALC-NaOH ou toute autre méthode équivalente. Ré-suspendre dans 2,0 mL. Inoculer.

### METHODE

**Matériel fourni** : dix flacons pour culture de mycobactéries **SEPTI-CHEK AFB** de 20 mL, dix lames **SEPTI-CHEK AFB**, un flacon de supplément pour culture de mycobactéries **SEPTI-CHEK AFB** suffisant pour dix lames/flacons (voir "Matériel disponible").

**Matériel non-fourni** : récipient de stockage des échantillons stériles et tubes à centrifuger (non-cassables, scellés), pipettes stériles ou aiguille et seringue, eau distillée stérile, poudre de N-acétyl-L-cystéine, NaOH à 4 %, homogénéiseur de tissu, tampon stérile (tissu, plaie, biopsie), centrifugeuse (2000 – 3500 x g), incubateur (30 – 37 °C), autoclave, hotte à flux laminaire vertical et portoirs pour flacon (voir "Matériel disponible").

### Instructions lors de l'emploi d'une lame SEPTI-CHEK AFB :

- Toutes les manipulations doivent être réalisées aseptiquement sous une hotte à flux laminaire vertical et en respect des précautions d'usage en matière de manipulation de mycobactéries.
- Reconstituer le supplément pour culture de mycobactéries **SEPTI-CHEK AFB** avec 9 mL d'eau distillée stérile. Ajouter 1 mL de supplément pour culture de mycobactéries **SEPTI-CHEK AFB** dans chaque flacon contenant le bouillon de culture. (Retirer le capuchon ou injecter à travers la capsule.)
- Préparer l'échantillon conformément au tableau figurant dans la rubrique "Prélèvement des échantillons" de cette notice.
- Ajouter 0,5 – 1,0 mL d'échantillon traité dans le flacon de culture en retirant le capuchon.  
NOTA : plus le volume d'échantillon est important, plus le système sera sensible. Si les échantillons sont troubles ou qu'ils laissent apparaître des particules, le système risque de ne pas détecter la croissance des mycobactéries.
- Tenir la lame **SEPTI-CHEK AFB** verticalement tout en dévissant le capuchon blanc inférieur du récipient contenant les lames. Ne pas toucher la trame intérieure. Fixer la lame immédiatement sur le flacon de milieu de culture. S'assurer que les éléments sont convenablement ajustés. Remplir l'étiquette figurant sur la lame en veillant à ne pas masquer la visualisation de la croissance bactérienne.
- Faire pivoter doucement le système de 360° autour de l'axe vertical deux fois de suite. (Il est conseillé d'utiliser un portoir d'inversion pour petits flacons **BBL SEPTI-CHEK** (voir "Matériel disponible").  
NOTA : si le système n'est pas inversé dans les 48 h suivant l'incubation, la contamination risque d'être moins importante.
- Incuber en position verticale à 37 °C (à l'exception des échantillons cutanés qui requièrent deux systèmes : l'un à 37 °C et l'autre à 30 °C). Il est possible d'utiliser un incubateur à CO<sub>2</sub> bien que cela ne soit pas indispensable.
- Inverser et faire tourner quotidiennement au cours de la première semaine puis hebdomadairement pendant huit semaines ou jusqu'à constatation d'une croissance. En cas de condensation à l'intérieur de l'emplacement destiné à la lame, faire pivoter le flacon délicatement de manière à ce que le bouillon élimine la condensation sans toucher la lame. Les colonies risquent de disparaître lorsque le système est mis en position inverse, c'est pourquoi cette manipulation est déconseillée en cas d'apparition de bactéries.

### Instructions lorsqu'une lame SEPTI-CHEK AFB n'est pas utilisée :

- Toutes les manipulations doivent être effectuées de manière aseptique sous une hotte biologique à flot laminaire vertical en observant les précautions standards pour les mycobactéries.
- Reconstituer le supplément pour culture de mycobactéries **SEPTI-CHEK AFB** avec 9 mL d'eau distillée stérile. Ajouter 1 mL de supplément pour culture de mycobactéries **SEPTI-CHEK AFB** à chaque flacon de bouillon de culture. (Retirer le capuchon vissé ou injecter à travers le bouchon.)
- Préparer l'échantillon selon le protocole décrit dans la section "Prélèvement des échantillons" de cette notice.
- Ajouter 0,5 – 1,0 mL d'échantillon traité au bouillon de culture soit en retirant le capuchon vissé soit en injectant l'échantillon directement dans le flacon à travers le bouchon en caoutchouc au moyen d'une seringue stérile dotée d'une aiguille attachée de façon permanente ou d'un embout de la marque **Luer-Lok**. Avant d'injecter l'échantillon, désinfecter le bouchon en caoutchouc avec une solution d'alcool isopropylique à 70 %.  
NOTA : plus le volume d'échantillon utilisé est grand, plus la sensibilité du système est élevée. Les échantillons turbides ou avec des particules peuvent diminuer la capacité du système à reconnaître une croissance mycobactérienne. Si l'échantillon est injecté, desserrer le capuchon vissé très brièvement de façon à accroître la teneur en oxygène du flacon. Bien resserrer le capuchon.

5. Si un échantillon est injecté dans le flacon de culture, désinfecter immédiatement le bouchon en caoutchouc à l'aide d'un désinfectant spécifique des mycobactéries, puis le laver avec une solution d'alcool isopropylique à 70 %.
6. Observer le contenu des flacons quotidiennement pendant la première semaine pour déceler des mycobactéries à croissance rapide ou des contaminants potentiels. A la fin de cette première semaine, observer les cultures négatives hebdomadairement pendant huit semaines. Les changements observés peuvent comprendre une turbidité, des flocons ou des granules dans le bouillon.
7. Repiquer sur milieux appropriés et sur gouttes de bouillon lorsqu'une croissance est suspectée.

**Contrôle de qualité :** les procédures de test pour les flacons pour culture de mycobactéries SEPTI-CHEK AFB avec supplément et la lame SEPTI-CHEK AFB ont été mises au point conformément aux normes établies par le National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Vol. 5, N° 20, *Quality Assurance for Commercially Prepared Microbiological Culture Media* ("Assurance qualité relative aux milieux de culture microbiologique commercialisés").

Suite à la réception d'un nouvel envoi ou d'un nouveau numéro de lot, un des organismes suivants est conseillé pour l'inoculation d'un flacon de culture SEPTI-CHEK AFB ou d'une lame SEPTI-CHEK AFB à 10<sup>6</sup> Unités Formant Colonie (UFC)/flacon :

a)	<i>M. tuberculosis</i> .....	ATCC 25177	<i>M. intracellulare</i> .....	ATCC 13950
	<i>M. kansasii</i> .....	ATCC 12478	<i>M. fortuitum</i> .....	ATCC 6841
	<i>M. scrofulaceum</i> .....	ATCC 19981		

et l'un des organismes suivants est recommandé pour l'inoculation à 10<sup>6</sup> unités formant colonie (UFC)/flacon :

b)	<i>Escherichia coli</i> .....	ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	ATCC 25923
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	ATCC 6305		

Après 21 puis à 28 jours à 37 °C, la croissance des bactéries appartenant au groupe (a) est comparée à celle obtenue lors de tests préalables et figurant dans le tableau suivant :

(+) = Croissance faible.  
+ = Croissance modérée à forte.

Mycobactérie	Croissance après	
	21 jours	28 jours
<i>M. tuberculosis</i>	+	+
<i>M. kansasii</i>	+	+
<i>M. scrofulaceum</i>	(+)	(-)
<i>M. intracellulare</i>	(+)	(+)
<i>M. fortuitum</i>	+	+

Le groupe (a) doit apparaître sur les lames après 21 jours et présenter un degré de croissance similaire à celui figurant dans le tableau suivant :

+ = Croissance.  
- = Absence de croissance.

Le groupe (b) ne doit montrer qu'une croissance faible ou nulle dans le flacon après 7 jours à 37 °C.

Mycobactérie	Face 1 : 7H11	Face 2 : Oeuf	Face 3 : Choc.
<i>M. tuberculosis</i>	+	+	+/-
<i>M. kansasii</i>	+	+	+/-
<i>M. scrofulaceum</i>	+	+	+/-
<i>M. intracellulare</i>	+	+	-
<i>M. fortuitum</i>	+	+	+/-

Si le flacon pour culture de mycobactéries SEPTI-CHEK AFB auquel on a ajouté le supplément de culture ou si la lame SEPTI-CHEK AFB ne donne pas les résultats escomptés, ne pas utiliser le milieu jusqu'à ce que vous contactiez le représentant local de Becton Dickinson.

#### RESULTATS

Croissance sur la face			Interprétation de la croissance sur la lame :
1 7H11	2 Oeuf	3 Choc.	
Conclusion			
+	-	-	Haute probabilité de présence mycobactérienne.
-	+	-	Haute probabilité de présence mycobactérienne.
+	+	-	Haute probabilité de présence mycobactérienne.
+	+	+	Haute probabilité de présence mycobactérienne. Probabilité modérée de mycobactéries et de contaminants.
-	-	+	Haute probabilité de contaminants non-mycobactériens.

La différenciation ou la confirmation de la présence de contaminants non-mycobactériens doit toujours être réalisée par un examen microscopique afin de détecter la présence de bacilles acido-alcoolorésistants.

#### Interprétation de la croissance dans le bouillon :

Observation	Conclusion
Bouillon uniquement	Haute probabilité de présence mycobactérienne.
Bouillon et faces 1 et 2 ou 1 ou 2, ou 1, 2 et 3	Haute probabilité de présence mycobactérienne.
Culture négative dans le bouillon ou sur la lame	Système non-inoculé ou microorganismes non viables dans l'échantillon.
Bouillon et face 3 uniquement	Présence probable de mycobactéries ou de contaminants non-mycobactériens. Faible probabilité de contaminants non-mycobactériens seuls. Faible probabilité de mycobactéries seules.

NOTA : alors qu'elles entraînent parfois une turbidité non-homogène dans le milieu de culture, les mycobactéries entraînent souvent l'apparition de grains ou de flocons de diamètre et de quantité variables. L'examen microscopique des cultures positives est conseillé afin de détecter la présence de bacilles acido-alcoolorésistants.

#### LIMITES DE LA METHODE

La mise en évidence de mycobactéries est souvent fastidieuse, c'est pourquoi l'obtention d'une culture négative ne doit pas être interprétée comme une preuve définitive de leur absence.

Les cultures présentant de grandes quantités de contaminants non-mycobactériens doivent être recommencées et/ou repiquées par transfert du bouillon du système inoculé sur un nouveau système. La croissance mycobactérienne peut souvent être inhibée ou masquée par la présence de contaminants mais peut être augmentée par repiquage. En cas de mélange des contaminants et des mycobactéries, la digestion et la décontamination peuvent permettre l'isolement des mycobactéries. Le système BBL SEPTI-CHEK AFB est spécialement conçu pour la détection, l'isolement et le repiquage des mycobactéries. Les résultats doivent être confirmés par l'isolement d'une souche acido-alcoolorésistante provenant du bouillon de culture et/ou de la lame. L'identification des espèces à partir des cultures sur la lame peut être réalisée soit à l'aide de méthodes conventionnelles, soit par l'intermédiaire de sondes.

#### CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Le système SEPTI-CHEK AFB permet d'isoler des mycobactéries à partir d'échantillons cliniques. Trois études publiées indépendantes, ont évalué la performance du système SEPTI-CHEK AFB aux valeurs données dans les tableaux suivants.<sup>9,10,11</sup>

#### ETUDE A<sup>9</sup>

Organisme	N° d'isolats	% de récupération			SEPTI-CHEK TTD <sup>‡</sup> (jours)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC 460TB	Milieux traditionnels*	
Complexe <i>M. tuberculosis</i>	75	100	N/A	90	23
Complexe <i>M. avium</i>	40	100	N/A	60	18 - 21
Espèce <i>Mycobacterium</i> <sup>†</sup>	17	100	N/A	71	24 - 26

\* Milieux traditionnels correspondent à la combinaison de Lowenstein-Jensen et 7H11.

† *M. farinosum* (4), *M. chelonae* (3), *M. goodii* (3), *M. kansasii* (4) et *M. xenopi* (1).

‡ TTD (délai pour détection) basé sur la combinaison bouillon-lame SEPTI-CHEK AFB.

#### ETUDE B<sup>10</sup>

Organisme	N° d'isolats	% de récupération			SEPTI-CHEK TTD <sup>‡</sup> (jours)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC 460TB	Milieux traditionnels*	
Complexe <i>M. tuberculosis</i>	34	100	100	82	19 - 37
Complexe <i>M. avium</i>	25	92	92	68	18 - 20
Espèce <i>Mycobacterium</i> <sup>†</sup>	2	50	50	50	36

\* Lowenstein-Jensen.

† *M. goodii* (2).

#### ETUDE C<sup>11</sup>

Organisme	N° d'isolats	% de récupération			SEPTI-CHEK TTD <sup>‡</sup> (jours)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC 460TB	Milieux traditionnels*	
Complexe <i>M. tuberculosis</i>	9	100	89	67	20
Complexe <i>M. avium</i>	47	94	74	62	14
Espèce <i>Mycobacterium</i> <sup>†</sup>	10	90	40	40	17

\* Lowenstein-Jensen.

† *M. chelonae* (4), *M. fortuitum* (2), *M. scrofulaceum* (1) et *M. goodii* (3).

#### MATERIEL DISPONIBLE

N° cat.	Description	Description
243558	Flacons pour culture de mycobactéries BBL SEPTI-CHEK AFB, 10 flacons de 20 mL.	Portoir d'inversion pour petits flacons BBL SEPTI-CHEK.
	Supplément pour culture de mycobactéries BBL SEPTI-CHEK AFB, 5 flacons de 2,2 g.	Lame BBL SEPTI-CHEK, cpu 10.
	Lame BBL SEPTI-CHEK AFB, 10 par carton.	Lame BBL SEPTI-CHEK, cpu 50.

Pour connaître un numéro de catalogue particulier, visiter notre site sur le web <http://www.bd.com/microbiology>, ou contacter le service Becton Dickinson Microbiology Systems le plus proche.

BIBLIOGRAPHIE : voir la rubrique "References" du texte anglais.

88-0933-1  
Revidiert: 07-99

DEUTSCH

**BBL SEPTI-CHEK AFB**  
Kultursystem für Mykobakterien**VERWENDUNGSZWECK**

Die **BBL SEPTI-CHEK AFB** Kulturfälschchen, **BBL SEPTI-CHEK AFB** Kultursupplement und **BBL SEPTI-CHEK AFB** Agarträger stellen ein komplettes in-vitro-Diagnosesystem dar, das bei Verdacht auf Mykobakteriose zum Nachweis und zur Isolierung von Mykobakterien aus Sputum, Bronchialspülflüssigkeit oder aspirierten, Körperflüssigkeiten (Pleuralfüssigkeit, Liquor, Aszites, Synovia), Urin- und Stuhlproben, Biopsiematerial oder Wundsekreten und Hautgeschabseln dient.

**ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG**

Mykobakterien sind Infektionserreger, die persistierende und chronische, vornehmlich respiratorische klinische Erkrankungen hervorrufen. Einige davon werden durch Tröpfchen- und Schmierinfektion übertragen.<sup>1,2</sup> Die Gattung *Mycobacterium* ist in der Lage, nahezu jedes Körperorgan zu befallen. Diese Tatsache zeigt sich immer deutlicher und häufiger in Fällen von zugrundeliegender Funktionsstörung des Immunsystems verbunden mit Erkrankungen wie einer HIV-Infektion oder mit Drogenmissbrauch.<sup>3,4</sup>

Die in historischer Hinsicht am häufigsten nachgewiesenen humanpathogenen Bakterien der Gattung *Mycobacterium* sind *M. tuberculosis*.<sup>1,2</sup> In einigen Populationen wurde diese Häufigkeitsrate inzwischen von Bakterien des *Mycobacterium-avium*-Komplexes übertroffen.<sup>3,4</sup>

Mykobakterien besitzen verschiedene Merkmale, die sie von anderen Bakterien unterscheiden. Am auffälligsten sind ihre Säurefestigkeit, ihr relativ langsames Wachstum, ihre Resistenz gegen Digestiva.<sup>2</sup> Die meistverwendeten konventionellen Kulturmedien zur Isolierung von Mykobakterien sind Löwenstein-Jensen (LJ) oder Middlebrook-7H9, -7H10, bzw. -7H11.<sup>5</sup> Bakterienwachstum kann in diesen Kulturmedien, je nach isolierter Spezies und Anzahl lebensfähiger Keime, nach 3 – 56 Tagen beobachtet werden. Das **SEPTI-CHEK AFB**-System fördert schnelles Wachstum in einer Nährbouillon und ermöglicht gleichzeitige Subkultivierung auf drei unterschiedlichen Medien, eine presumptive Identifizierung und die Durchführung von Identifizierungstests und Empfindlichkeitsprüfungen.

**VERFAHRENSPRINZIP**

Eine geeignete Patientenprobe wird gemäß den Anleitungen unter "Probenentnahme" entnommen, verdaut, konzentriert und dekontaminiert. Eine abgemessene Menge des vorbehandelten Probenmaterials wird dann aseptisch in das mit dem **SEPTI-CHEK AFB**-Kultursupplement versetzte **SEPTI-CHEK AFB**-Kulturfälschchen übertragen. Der **SEPTI-CHEK AFB**-Agarträger wird unmittelbar danach anstelle des Deckels auf das Fälschchen aufgesetzt, um die CO<sub>2</sub>-Atmosphäre aufrechtzuerhalten. Das System wird umgekehrt und zu Beginn sowie regelmäßig während der Inkubation gedreht, bis auf dem Agarträger Kolonien zu erkennen sind oder bis der Probennachweis auf Mykobakterien (8 Wochen) negativ ist. Sowohl das Flüssigmedium als auch der Agarträger sollten auf Wachstum überprüft werden. Falls gewünscht, können Kolonien vom Agarträger zur Färbung für säurefeste Bakterien und zur Gramfärbung, zur Anlage zusätzlicher Subkulturen oder zur Untersuchung mit Sonden verwendet werden. Gegebenenfalls kann frühzeitiges Bakterienwachstum in Nährbouillon zur Durchführung zusätzlicher Tests verwendet werden.

**REAGENZEN**

**SEPTI-CHEK AFB-Kulturfälschchen für Mykobakterien:** Modifizierte Middlebrook 7H9-Nährbouillon.

Jedes Fälschchen enthält ungefähr 20 mL Medium in einer mit CO<sub>2</sub> angereicherten Atmosphäre.

Ungefähre Zusammensetzung\* pro L demineralisiertes Wasser

Kaseinhydrolysat.....	1,053 g	Magnesiumsulfat-Heptahydrat .....	0,053 g
Dikaliumhydrogenphosphat .....	1,579	L-Glutaminsäure .....	0,526
Natriumchlorid .....	0,895	Ammonium-(H)-Eisen(III)-Citrat .....	0,042
Ammoniumsulfat .....	0,526	Biotin .....	0,005
Kaliumhydrogenphosphat .....	1,579	Malachitgrün .....	0,001
Trinatriumcitrat-Dihydrat .....	0,421		

\*Abgestimmt und/oder supplementiert auf die geforderten Testkriterien.

**SEPTI-CHEK AFB-Agarträger:** Ein Agarträger mit 3 nummerierten Bereichen mit Medien –

Bereich 1 – nicht-selektiver Middlebrook-7H11 Agar, modifiziert, zur Kultivierung der meisten Mykobakterien geeignet.

Bereich 2 – Eiernährboden, zur Kultivierung der meisten Mykobakterien geeignet.

Bereich 3 – Schokoladenagar zur Primärisolierung von Begleitkeimen; Mykobakterien wachsen auf diesem Nährboden nur nach längerer Inkubationszeit.

**BBL SEPTI-CHEK AFB-Agarträger:** Ungefähre Zusammensetzung\* pro L demineralisiertes Wasser

Bereich 1: 7H11	Bereich 2: Eiernährboden	Bereich 3: Schokoladenagar
Middlebrook 7H11-Basalagar.....	Middlebrook 7H11-Basalagar .....	GC Agar .....
21,0 g	21,0 g	36,0 g
Glycerin .....	Glycerin .....	Hämoglobinpulver .....
6,2	6,2 g	15,0
OADC .....	OADC .....	IsoVitalex Anreicherung 10,0
40,0 ml	40,0 ml	Granulierter Agar .....
	Malachitgrün .....	4,0
	0,05 g	
	Eierpulver.....	
	50,0	
	(von Eimasse)	

\*Abgestimmt und/oder supplementiert auf die geforderten Testkriterien.

**SEPTI-CHEK AFB-Kultursupplement für Mykobakterien:** Antibiotika und Anreicherungsstoffe zur Kultivierung von Mykobakterien. Jedes Fälschchen enthält etwa 2,2 g folgender Zusammensetzung:

Ungefähre Zusammensetzung\* pro L demineralisiertes Wasser

HCl .....	0,16 g	Natriumdesoxycholat .....	0,01 g
Ölsäure .....	0,45	Polymyxin-B-Sulfat .....	0,13
Rinderalbumin, Fraktion V .....	100,00	Amphotericin B .....	0,13
Pyridoxal .....	0,02	Nalidixinsäure .....	0,40
Katalase .....	0,40	Trimethoprimlactat .....	0,13
Glukose-Monohydrat .....	40,00	Azlocillin .....	0,21
Glycerin .....	63,05		

\*Abgestimmt und/oder supplementiert auf die geforderten Testkriterien.

**Sicherheitsinweise: In-Vitro-Diagnostik**

Wie bei jedem diagnostischen Verfahren sind alle Testergebnisse, insbesondere ein einzelnes Testergebnis, unter Berücksichtigung klinischer Daten sachverständig zu bewerten.

Das **SEPTI-CHEK AFB**-System ist zur Verwendung in Labors bestimmt, die mit der Handhabung von Mykobakterien oder mykobakteriell verunreinigten Proben vertraut sind.<sup>7</sup> Da *M. tuberculosis* äußerst infektiös ist, sind Probenmaterial und Komponenten des **SEPTI-CHEK AFB**-Systems nur von qualifiziertem Personal unter Beachtung "allgemeiner Vorsichtsmaßnahmen" und institutsinterner Richtlinien zu handhaben. Fälschchen und Agarträger müssen vor dem Verwerfen autoklaviert werden.

**Anweisungen zur Handhabung der Reagenzien:** **SEPTI-CHEK AFB**-Kulturfälschchen müssen vor der Verwendung mit 1 mL rekonstituiertem **SEPTI-CHEK AFB**-Kultursupplement beimpft werden.

Zur Rekonstituierung des **SEPTI-CHEK AFB**-Kultursupplements 9 mL steriles destilliertes Wasser zugeben. Fälschchen leicht schwenken, um das Lyophilisat aufzulösen. Jedem der zu verwendenden **SEPTI-CHEK AFB**-Kulturfälschchen 1 mL der Kultursupplementlösung zugeben. Ein Fälschchen rekonstituiertes **SEPTI-CHEK AFB**-Kultursupplement reicht zur Supplementierung von 10 Fälschchen Kulturmedium.

**Lagerung und Haltbarkeit:**

**SEPTI-CHEK AFB Kulturfälschchen für Mykobakterien** – Bei 15 – 25 °C lagern. Vor Licht schützen. Bei sichtbarer Trübung nicht verwenden. Die Nährbouillon sollte bläugrün bis farblos erscheinen. Nährbouillon, die mit 1 mL Supplement versetzt wurde, ist bei 2 – 8 °C 14 Tage haltbar. NICHT EINFRIEREN. Nicht nach Ablauf des auf dem Flaschennetikett aufgedruckten Verfallsdatums beimpfen.

**SEPTI-CHEK AFB-Agarträger** – Bei 2 – 8 °C lagern. NICHT EINFRIEREN. Ausgetrocknete oder kontaminierte Agarträger nicht verwenden. Nicht nach Ablauf des auf der Verpackung aufgedruckten Verfallsdatums auf den Fälschchen anbringen.

**BBL SEPTI-CHEK AFB-Kultursupplement für Mykobakterien** – Bei 2 – 8 °C lagern. Vor Licht schützen. Mit sterilem destilliertem Wasser verflüssigtes Kultursupplement kann vor Gebrauch bei 2 – 8 °C oder bei -20 °C 14 Tage aufbewahrt werden. Nicht nach Ablauf des auf dem Flaschennetikett aufgedruckten Verfallsdatums verwenden.

**PROBENTNAHME**

Alle Proben sind gemäß den Empfehlungen der CDC (U.S. Centers for Disease Control and Prevention), des *Manual of Clinical Microbiology* oder des Verfahrenshandbuchs für Ihr Labor zu entnehmen und zu transportieren.<sup>5,7</sup>

Probenmaterial	Besondere Empfehlungen zur Handhabung der Proben	Vorbereitung vor Beimpfen der Kultur <sup>5,7</sup>
Sputum Bronchialspülflüssigkeit und -aspirate	3 Morgenproben von drei aufeinanderfolgenden Tagen. Nicht mehr als 10 mL pro Probe.	Mit N-Acetyl-L-Cystein/NaOH (NALC-NaOH) oder gleichwertiger Methode dekontaminieren. Pellet auf ein Endvolumen von 1 – 2 mL resuspendieren. Inokulieren.
Körperflüssigkeiten (Pleuralfüssigkeit, Liquor, Aszites, Synovia)		Proben, die unter aseptischen Bedingungen entnommen werden und vermutlich keine anderen Bakterien enthalten, können ohne Dekontaminierung inokuliert werden. Bei Verdacht auf Anwesenheit anderer Bakterien die Probe mit NALC-NaOH oder gleichwertiger Methode dekontaminieren und wie bei Sputum beschrieben weiterbehandeln.
Stuhlproben		Einen kleinen Teil der Probe entnehmen und wie bei Sputum weiterbehandeln.
Gewebe und Biopsiematerial	Die Proben können eingefroren werden, falls sie nicht unverzüglich verarbeitet werden können.	In einem sterilen Gewebe-Homogenisator in steriler Kochsalzlösung zerkleinern. Volumen auf 2,0 mL einstellen. Inokulieren. Bei Verdacht auf Anwesenheit anderer Bakterien die Probe vor der Inokulation mit NALC-NaOH oder gleichwertiger Methode dekontaminieren.
Urinproben	Morgenurin von 3 aufeinanderfolgenden Tagen (nach der Mittelstrahltechnik oder über Kathetersenkung). 24-h-Lin wird wegen potentieller Kontamination nicht empfohlen.	Zentrifugieren (≥ 3.000 x g, 30 min). Dekantieren und in 2 – 5 mL sterilem, destilliertem Wasser resuspendieren. Mit NALC-NaOH oder gleichwertiger Methode dekontaminieren. Pellet auf ein Endvolumen von 1 – 2 mL resuspendieren. Inokulieren.
Wundsekrete und Hautgeschabsel		Abstriche in steriler Kochsalzlösung suspendieren, 30 Sek. im Vortex mischen und mit NALC-NaOH oder gleichwertiger Methode dekontaminieren. Auf 2,0 mL resuspendieren. Inokulieren.

**VERFAHREN**

**Mitgeliefertes Arbeitsmaterial:** Zehn **SEPTI-CHEK AFB**-Kulturfälschchen für Mykobakterien à 20 mL, zehn **SEPTI-CHEK AFB**-Agarträger, ein Fälschchen **SEPTI-CHEK AFB**-Kultursupplement für Mykobakterien, ausreichend für zehn Agarträger/Kulturfälschchen (s. "Lieferbare Produkte").

**Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial:** Sterile Probenbehälter und Zentrifugenröhrchen (bruchsicher, verschlossen), sterile Pipetten und Kanülen mit Spritzen, steriles destilliertes Wasser, pulverförmiges N-Acetyl-L-Cystein, 4%ige NaOH, Gewebe-Homogenisator, sterile Abstrichspatzen für Gewebe/Wundsekrete oder Biopsiematerial, Zentrifuge (2000 – 3500 x g), Inkubator (30 – 37 °C), Autoklav, Sicherheitswerkbank mit Fallstrom und Flaschenständer (s. "Lieferbare Produkte").

**Arbeitsanleitung bei Verwendung eines SEPTI-CHEK AFB Agarträgers:**

- Alle Schritte unter aseptischen Bedingungen in einer Sicherheitswerkbank mit Fallstrom und unter Beachtung der allgemein üblichen Sicherheitsvorkehrungen im Umgang mit Mykobakterien durchführen.
- Das **SEPTI-CHEK AFB**-Kultursupplement für Mykobakterien mit 9 mL sterilem Wasser rekonstituieren. Jedem **SEPTI-CHEK AFB**-Kulturfälschchen für Mykobakterien 1 mL Supplement zugeben. (Dazu den Schraubdeckel abnehmen oder durch den Stöpsel injizieren.)
- Probenmaterial gemäß der Tabelle im Abschnitt "Probenentnahme" vorbereiten.
- Den Schraubdeckel entfernen und Kulturfälschchen mit 0,5 – 1,0 mL des vorbehandelten Probenmaterials beschießen.  
HINWEIS: Je mehr Probenmaterial verwendet wird, desto größer ist die Empfindlichkeit des Systems. Partikuläres oder trübes Probenmaterial kann die Fähigkeit beeinträchtigen, mykobakterielles Wachstum zu erkennen.
- Den **SEPTI-CHEK AFB**-Agarträger senkrecht halten und dabei den weißen Bodenverschluss des Behälters aufdrehen. Das Innengewinde nicht berühren. Unverzüglich den Agarträger auf das Kulturfälschchen aufsetzen. Auf Dichtigkeit überprüfen. Agarträger so etikettieren, daß Bakterienwachstum nicht verdeckt wird.
- Das System zweimal langsam 360° um die vertikale Achse drehen. (Zur gleichzeitigen Manipulation mehrerer Systeme kann der **BBL SEPTI-CHEK**-Inversionständer für kleine Fälschchen benutzt werden. S. "Lieferbare Produkte").  
HINWEIS: Eine Kontamination kann ggf. reduziert werden, wenn das Fälschchen erstmals nach mehr als 48 h nach der Inkubation umgekehrt wird.
- In vertikaler Stellung bei 37 °C inkubieren (mit der Ausnahme von Hautgeschabseln, für die ein System bei 37 °C und ein weiteres bei 30 °C benötigt wird). Ein CO<sub>2</sub>-Inkubator ist nicht erforderlich, kann jedoch verwendet werden.
- Das Kultursystem im Verlauf der ersten Woche täglich und danach wöchentlich bis zu acht Wochen, oder bis Wachstum sichtbar wird, umkehren und drehen. Falls sich das Innere des Agarträgersgehäuses beschlägt, das Fälschchen vorsichtig drehen, so daß das Kondensat mit der Nährbouillon abgespült wird. Jedoch mit dem Agarträger dabei nicht in Berührung kommt. Da durch Umkehren Kolonien abgespült werden können, sollte dies nicht mehr durchgeführt werden, sobald Kolonien sichtbar sind.

**Arbeitsanleitung bei NICHTVERWENDUNG eines SEPTI-CHEK AFB Agarträgers:**

- Alle Schritte unter aseptischen Bedingungen in einer Sicherheitswerkbank mit Fallstrom und unter Beachtung der allgemein üblichen Sicherheitsvorkehrungen für den Umgang mit Mykobakterien durchführen.
- Das **SEPTI-CHEK AFB**-Kultursupplement für Mykobakterien mit 9 mL sterilem Wasser rekonstituieren. Jedem **SEPTI-CHEK AFB**-Kulturfälschchen für Mykobakterien 1 mL Supplement zugeben. (Dazu den Schraubdeckel abnehmen oder durch den Stöpsel injizieren.)
- Probenmaterial gemäß der Tabelle im Abschnitt "Probenentnahme" vorbereiten.
- Kulturfälschchen mit 0,5 – 1,0 mL des vorbehandelten Probenmaterials beschießen, indem der Schraubdeckel abgenommen oder die Probe unter Verwendung einer sterilen Spritze mit fest angebrachter Kanüle oder einem **Luer-Lok**-Kegel direkt durch den Gummistöpsel in das Fälschchen injiziert wird. Vor Injektion der Probe, Gummistöpsel unter Verwendung einer 70%igen Isopropylalkohollösung desinfizieren.  
HINWEIS: Je mehr Probenmaterial verwendet wird, desto größer ist die Empfindlichkeit des Systems. Partikuläres oder trübes Probenmaterial kann die Fähigkeit beeinträchtigen, mykobakterielles Wachstum zu erkennen. Wird das Probenmaterial injiziert, ist der Schraubdeckel kurzfristig zu lösen, um den Sauerstoffgehalt des Fälschchens zu erhöhen. Deckel fest verschließen.
- Bei Injektion des Probenmaterials in eine Kulturfälsche, Gummistöpsel unmittelbar unter Verwendung eines mykobakterizidem Desinfektionsmittels desinfizieren und danach mit einer 70%igen Isopropylalkohollösung reinigen.

6. Den Fläschcheninhalt während der ersten Woche täglich auf schnell wachsende Mykobakterien oder Begleitkeime überprüfen. Nach einer Woche negative Kulturen bis zu acht Wochen lang einmal wöchentlich überprüfen. Zu beobachtende Veränderungen sind z.B. Trübung, Ausflockung oder Granulation in der Nährbouillon.

7. Kann Wachstum erwartet werden, Subkulturen von geeigneten Medien anlegen und Färbungen von Nährbouillon machen.

**Qualitätskontrolle:** Qualitätsstestverfahren für die SEPTI-CHEK AFB-Kulturfäschchen für Mykobakterien mit Supplement und dem SEPTI-CHEK AFB-Agarträger wurden in Übereinstimmung mit den Vorschriften des National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Auflage 5, Nr. 20, *Quality Assurance for Commercially Prepared Microbiological Culture Media* ["Qualitätsgarantie für kommerziell zubereitete mikrobiologische Kulturmedien"] erstellt.

Nach Erhalt einer neuen Lieferung oder Charge wird einer der folgenden Mikroorganismen für die Beimpfung vom SEPTI-CHEK AFB-Kulturfäschchen für Mykobakterien oder SEPTI-CHEK AFB-Agarträger bei 10<sup>6</sup> KBE/Fläschchen empfohlen:

a)	<i>M. tuberculosis</i> .....	ATCC 25177	<i>M. intracellulare</i> .....	ATCC 13950
	<i>M. kansasii</i> .....	ATCC 12478	<i>M. fortuitum</i> .....	ATCC 6841
	<i>M. scrofulaceum</i> .....	ATCC 19981		

Für die Beimpfung bei 10<sup>6</sup> KBE/Fläschchen wird einer der folgenden Mikroorganismen empfohlen:

b)	<i>Escherichia coli</i> .....	ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	ATCC 25923
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	ATCC 6305		

Das Wachstum im Fläschchen der Gruppe (a) wird nach 21 und 28 Tagen Inkubation bei 37 °C überprüft. Dabei sind die nachstehend aufgeführten Werte zu erwarten:

Mykobakterium	Wachstum nach	
	21 Tagen	28 Tagen
<i>M. tuberculosis</i>	+	+
<i>M. kansasii</i>	+	+
<i>M. scrofulaceum</i>	(+)	(+)
<i>M. intracellulare</i>	(+)	(+)
<i>M. fortuitum</i>	+	+

(+) = schwaches Wachstum.  
+ = mäßiges bis starkes Wachstum.

Die Agarträger der Gruppe (a) sind nach 21 Tagen auf Wachstum zu überprüfen. Dabei sind die nachstehend aufgeführten Werte zu erwarten:

Mykobakterium	Bereich 1 7H11	Bereich 2 Eiernährboden	Bereich 3 Schokoladenagar
<i>M. tuberculosis</i>	+	+	+/-
<i>M. kansasii</i>	+	+	+/-
<i>M. scrofulaceum</i>	+	+	+/-
<i>M. intracellulare</i>	+	+	-
<i>M. fortuitum</i>	+	+	+/-

+ = Wachstum.  
- = kein Wachstum.

Die Gruppe (b) sollte nach 7 Tagen Inkubation bei 37 °C nur schwaches oder gar kein Wachstum zeigen.

Sollten das SEPTI-CHEK AFB-Kulturfäschchen für Mykobakterien mit hinzugefügtem Kultursupplement oder der SEPTI-CHEK Agarträger die erwarteten Ergebnisse nicht liefern, Medien nicht verwenden und Vertreter von Becton Dickinson anrufen.

**ERGEBNISSE**

Wachstum im Bereich			Auswertung von Wachstum auf dem Agarträger:
1 7H11	2 Eiernährboden	3 Schokoladenagar	
+	-	-	Hohe Wahrscheinlichkeit für Mykobakterien.
-	+	-	Hohe Wahrscheinlichkeit für Mykobakterien.
+	+	-	Hohe Wahrscheinlichkeit für Mykobakterien.
+	+	+	Hohe Wahrscheinlichkeit für Mykobakterien. Mäßige Wahrscheinlichkeit für Mykobakterien und Begleitkeime.
-	-	+	Hohe Wahrscheinlichkeit für nicht-mykobakterielle Kontamination.

Nicht-mykobakterielle Begleitkeime sollten zur Bestätigung oder Differenzierung immer durch mikroskopische Untersuchung auf säurefeste Bakterien untersucht werden.

**Auswertung von Wachstum in der Nährbouillon:**

Wachstumszeichen	Rückschluß
Nur in der Nährbouillon	Hohe Wahrscheinlichkeit für Mykobakterien.
In der Nährbouillon & auf dem Agarträger, Bereich 1 & 2, oder 1 oder 2, oder 1, 2 & 3	Hohe Wahrscheinlichkeit für Mykobakterien.
Weder in der Nährbouillon noch auf dem Agarträger	Nicht beimpftes System oder keine lebensfähigen Keime im Probenmaterial.
In der Nährbouillon und nur im Bereich 3 des Agarträgers	Wahrscheinlichkeit für Mykobakterien und nicht-mykobakterielle Begleitkeime. Wahrscheinlichkeit für rein nicht-mykobakterielle Kontamination gering. Wahrscheinlichkeit für ausschließlich Mykobakterien gering.

HINWEIS: Mykobakterien können gelegentlich eine nicht-homogene Trübung des Kulturmediums hervorrufen, verursachen jedoch oft nur Granula oder Flocken verschiedener Größe und Anzahl. Es wird empfohlen, positive Kulturen mikroskopisch auf säurefeste Bakterien zu untersuchen.

**VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**

Mykobakterien sind oftmals anspruchsvoll, und ein einziges negatives Kulturergebnis reicht nicht aus, um ihre Gegenwart auszuschließen.

Kulturen mit starker nicht-mykobakterieller Kontamination sollten wiederholt bzw. durch Übertragen beimpften Kulturmedien in ein neues System subkultiviert werden. Mykobakterielles Wachstum kann oftmals durch Begleitkeime inhibiert oder verunreinigt, jedoch durch Subkultivierung gefördert werden. Liegt eine Mischung aus Begleitkeimen und Mykobakterien vor, können die Mykobakterien ggf. durch Verdauung und Dekontamination isoliert werden. Das BBL SEPTI-CHEK AFB-System dient zum Nachweis, zur Isolierung und zur Subkultivierung von Mykobakterien. Zur Bestätigung von Mykobakterien ist mit Material aus der Nährbouillon bzw. vom Agarträger eine Färbung auf säurefeste Keime durchzuführen. Speziesidentifizierung von Wachstum auf dem Agarträger kann unter Verwendung von konventionellen Methoden oder Sonden durchgeführt werden.

**LEISTUNGSMERKMALE**

Das SEPTI-CHEK AFB-System ermöglicht den Nachweis von Mykobakterien aus klinischen Proben. Die Leistung des SEPTI-CHEK AFB-Systems wurde in drei unabhängigen, veröffentlichten Studien ausgewertet, die in den nachfolgenden Tabellen zusammengefaßt sind.<sup>9,10,11</sup>

**STUDIE A<sup>9</sup>**

Organismus	Anzahl der Isolate	Wiederfindung %			SEPTI-CHEK TTD <sup>†</sup> (Tage)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC 460TB	Traditionelle Medien*	
<i>M. tuberculosis</i> -Komplex	75	100	N/A	90	23
<i>M. avium</i> -Komplex	40	100	N/A	60	18 – 21
<i>Mycobacterium</i> -Spezies <sup>‡</sup>	17	100	N/A	71	24 – 26

\* Traditionelles Medium repräsentiert eine Kombination von Löwenstein-Jensen und 7H11.  
† *M. flavescens* (4), *M. chelonae* (3), *M. goodii* (5), *M. kansasii* (4) und *M. xenopi* (1).  
‡ TTD (Nachweiszeit) beruht auf SEPTI-CHEK AFB Nährbouillon/Agarträger-Kombination.

**STUDIE B<sup>10</sup>**

Organismus	Anzahl der Isolate	Wiederfindung %			SEPTI-CHEK TTD <sup>†</sup> (Tage)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC 460TB	Traditionelle Medien*	
<i>M. tuberculosis</i> -Komplex	34	100	100	82	19 – 37
<i>M. avium</i> -Komplex	25	92	92	68	18 – 20
<i>Mycobacterium</i> -Spezies <sup>‡</sup>	2	50	50	50	36

\* Löwenstein-Jensen. † *M. goodii* (2).

**STUDIE C<sup>11</sup>**

Organismus	Anzahl der Isolate	Wiederfindung %			SEPTI-CHEK TTD <sup>†</sup> (Tage)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC 460TB	Traditionelle Medien*	
<i>M. tuberculosis</i> -Komplex	9	100	89	67	20
<i>M. avium</i> -Komplex	47	94	74	62	14
<i>Mycobacterium</i> -Spezies <sup>‡</sup>	21050	90	40	40	17

\* Löwenstein-Jensen. † *M. chelonae* (4), *M. fortuitum* (2), *M. scrofulaceum* (1) und *M. goodii* (3).

**LIEFERBARE PRODUKTE**

Best.-Nr.	Beschreibung	Beschreibung
243558	BBL SEPTI-CHEK AFB-Kulturfäschchen für Mykobakterien, 10 Fläschchen à 20 mL.	BBL SEPTI-CHEK AFB-Flascheninversionssysteme.
	BBL SEPTI-CHEK AFB-Kultursupplement für Mykobakterien, 5 Fläschchen à 2,2 g.	BBL SEPTI-CHEK Agarträger, cpu 10.
	BBL SEPTI-CHEK AFB-Agarträger, Schachtel mit 10 Stück.	BBL SEPTI-CHEK Agarträger, cpu 50.

Für detaillierte Informationen zu Bestellnummern, besuchen Sie unsere Web-Site <http://www.bd.com/microbiology> oder setzen Sie sich mit Ihrem lokalen Becton Dickinson Microbiology Systems-Vertreter in Verbindung.

LITERATURNACHWEIS: S. "References" im englischen Text.

88-0933-1  
Rivisto: 07-99

ITALIANO

# BBL SEPTI-CHEK AFB

## Sistema di coltura per Micobatteri

### USO PREVISTO

Il flacone di coltura **BBL SEPTI-CHEK AFB**, il supplemento **BBL SEPTI-CHEK AFB** e lo slide **BBL SEPTI-CHEK AFB** sono da utilizzarsi come sistema diagnostico in vitro integrato e contenuto per il rilevamento e l'isolamento di micobatteri da espettorato, lavaggio o aspirato bronchiale, liquidi biologici (pleurico, liquido cerebrospinale, ascite, sinoviale), urine, feci, tessuti biotici o ferite e pelle in caso di sospetta micobatteriosi.

### SOMMARIO E SPIEGAZIONE

I micobatteri sono agenti responsabili di stati clinici persistenti e cronici il più delle volte di natura respiratoria ed alcuni di essi si diffondono per mezzo di tosse ed espettorazione.<sup>1,2</sup> Nell'insieme, questi organismi sono in grado di infettare quasi ogni organo del corpo. Questo si è reso particolarmente evidente e frequente nel caso di basilare disfunzione del sistema immunitario associata a condizioni quali infezione da HIV e abuso di sostanze stupefacenti.<sup>3,4</sup>

Il *Mycobacterium* patogeno umano più frequentemente incontrato nella storia è *M. tuberculosis*.<sup>1,2</sup> In alcune popolazioni questo è stato superato dal complesso *Mycobacterium avium*.<sup>3,4</sup>

I micobatteri presentano diverse caratteristiche che li distinguono da altri batteri. Fra queste le più importanti sono: resistenza alla decolorazione in seguito a colorazione diagnostica, crescita relativamente lenta e resistenza ad agenti digerenti.<sup>5</sup> I terreni di coltura convenzionali usati per isolare i micobatteri sono molto spesso Lowenstein-Jensen (LJ), o Middlebrook 7H9, 7H10 o 7H11.<sup>6</sup> La crescita osservata in questi terreni varia dai 3 ai 56 giorni, dipendendo dalla specie isolata e dalla concentrazione di batteri vivi. Il sistema **SEPTI-CHEK AFB** è stato messo a punto per favorire la crescita rapida in brodcultura e consentire nello stesso tempo la subcoltura su tre diversi tipi di terreno, l'identificazione preliminare e la possibilità di eseguire prove di riconoscimento e di sensibilità.

### PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Un appropriato campione ottenuto da paziente viene digerito, concentrato e decontaminato come descritto nella sezione "Raccolta dei campioni" di questo foglietto. Una porzione misurata del campione trattato è quindi trasferita in modo sterile in un flacone di coltura **SEPTI-CHEK AFB** al quale è stato aggiunto il supplemento di coltura **SEPTI-CHEK AFB**. Lo slide **SEPTI-CHEK AFB** viene immediatamente attaccato alla sommità del flacone al posto del tappo per mantenere l'atmosfera ricca di CO<sub>2</sub>. Il sistema è capovoltato e fatto ruotare inizialmente, quindi periodicamente durante l'incubazione fino alla comparsa di colonie sullo slide o fino a quando il campione non viene definito negativo agli effetti della presenza dei micobatteri (8 settimane). Partendo dalle colonie sul vetrino si possono eseguire colorazioni acido-resistenti e di Gram, subcolture supplementari o analisi con sonda e la crescita iniziale su brodo può servire per altri test, se ritenuto opportuno.

### REAGENTI

**Flaconi di coltura per micobatteri SEPTI-CHEK AFB:** Brodo modificato di Middlebrook 7H9.

Ciascun flacone contiene approssimativamente 20 mL di terreno in un'atmosfera arricchita di CO<sub>2</sub>.

Formula approssimata\* per L d'acqua purificata

Idrolizzato di caseina .....	1,053 g	Solfato di magnesio eptaidrato .....	0,053 g
Fosfato d'idrogeno dipotassico .....	1,579	Acido L-glutammico .....	0,526
Cloruro di sodio .....	0,895	Citrato di ammonio ferico (H) .....	0,042
Solfato di ammonio .....	0,526	Biotina .....	0,005
Fosfato di idrogeno dipotassico .....	1,579	Verde malachite .....	0,001
Citrato trisodico diidrato .....	0,421		

\*Controllata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

**Slide SEPTI-CHEK AFB:** Slide con tre parti numerate contenenti -

Parte 1 - Agar non-selettivo di Middlebrook 7H11, modificato, adatto alla crescita della maggior parte dei micobatteri.

Parte 2 - Terreno a base di uovo, adatto alla crescita della maggior parte dei micobatteri.

Parte 3 - Agar Cioccolato per l'isolamento iniziale di batteri diversi dai micobatteri, i quali crescono su questo agar soltanto dopo incubazione prolungata.

**Slide BBL SEPTI-CHEK AFB:** Formula approssimata\* per L d'acqua purificata

Parte 1: 7H11	Parte 2: Uovo	Parte 3: Cioccolato
Base Agar Middlebrook 7H11..... 21,0 g Glicerolo..... 6,2 OADC..... 40,0 ml	Base Agar Middlebrook 7H11 ..... 21,0 g Glicerolo ..... 6,2 OADC ..... 40,0 ml Verde malachite ..... 0,05 g Uovo in polvere..... 50,0 (da uova intere)	Base Agr GC ..... 36,0 g Emoglobina in polvere ..... 15,0 Supplemento IsoVitaleX ..... 10,0 Agar cristallizzato ..... 4,0

\*Controllata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

**Supplemento di coltura per micobatteri SEPTI-CHEK AFB:** Supplemento antibiotico ed arricchente per la coltura di micobatteri. Approssimativamente 2,2 g per flacone contengono:

Formula approssimata\* per L d'acqua purificata

HCl .....	0,16 g	Sodio desossicolato .....	0,01 g
Acido oleico.....	0,45	Solfato di polimixina B .....	0,13
Fraz. V di albumina bovina.....	10,00	Anfotericina B .....	0,13
Pridossale .....	0,02	Acido nalidixico .....	0,40
Catalasi.....	0,40	Trimethoprim lattato .....	0,13
Glucosio monoidrato .....	40,00	Azicilina .....	0,21
Glicerina.....	63,05		

\*Controllata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

### Precauzioni: Diagnostica in vitro

Come con qualsiasi procedura diagnostica, considerazioni cliniche e giudizio professionale dovrebbero essere utilizzati nella interpretazione del risultato di ogni analisi, particolarmente quello di una singola analisi.

Il sistema **SEPTI-CHEK AFB** è destinato all'utilizzo in laboratori esperti nel trattamento di micobatteri o campioni contenenti micobatteri.<sup>7</sup> Poiché l'*M. tuberculosis* è altamente infettivo, i campioni e i componenti di **SEPTI-CHEK AFB** dovrebbero essere maneggiati da personale qualificato in conformità con le "Precauzioni universali"<sup>8</sup> e le norme interne di laboratorio. Flaconi e slide vanno autoclavati prima di essere eliminati.

**Istruzioni per la manipolazione dei reagenti:** I flaconi di coltura **SEPTI-CHEK AFB** devono essere inoculati con 1 mL di supplemento di coltura **SEPTI-CHEK AFB** ricostituito prima dell'uso.

Per ricostituire il supplemento di coltura **SEPTI-CHEK AFB**, aggiungere 9 mL di acqua distillata sterile. Agitare con attenzione per sciogliere il contenuto. Versare 1 mL in ogni flacone di coltura **SEPTI-CHEK AFB** che deve essere usato. Un flacone di supplemento di coltura **SEPTI-CHEK AFB** ricostituito è sufficiente per 10 flaconi di terreno di coltura.

### Conservazione e stabilità:

**Flacone di coltura per micobatteri SEPTI-CHEK AFB** - Conservare a 15 - 25° C. Proteggere dalla luce. Non usare se torbido. Il brodo di coltura dovrebbe apparire da verde pallido a incolore. Il brodo al quale sia stato aggiunto 1 mL di supplemento è stabile a 2 - 8° C per 14 giorni. NON CONGELARE. Non inoculare dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta del flacone.

**Slide SEPTI-CHEK AFB** - Conservare a 2 - 8° C. NON CONGELARE. Non usare slide disidratati o contaminati. Non attaccare al flacone dopo la data di scadenza riportata sulla confezione.

**Supplemento di coltura per micobatteri SEPTI-CHEK AFB** - Conservare a 2 - 8° C. Proteggere dalla luce. Il supplemento ricostituito con acqua distillata sterile può essere conservato a 2 - 8° C o a -20° C sino a 14 giorni prima dell'uso. Non usare i flaconi di supplemento per coltura dopo la data di scadenza riportata sull'etichetta del flacone.

### RACCOLTA DEI CAMPIONI

Tutti i campioni devono essere prelevati e trasportati secondo le modalità stabilite dal CDC (U.S. Centers for Disease Control and Prevention), dal *Manual of Clinical Microbiology* o dal protocollo di procedura del laboratorio locale.<sup>9,7</sup>

Tipo di campione	Manipolazione raccomandata per il campione specifico	Pretrattamento prima dell'inoculo in coltura <sup>7</sup>
Espettorato Lavaggio bronchiale Aspirato bronchiale	3 campioni prelevati di primo mattino in giorni successivi, non superare i 10 mL per ciascuno.	Decontaminare con N-acetil-L-cisteina/NaOH (NALC-NaOH) o con un metodo equivalente. Risospendere il fondello ad un volume finale di 1 - 2 mL. Inoculare.
Liquidi biologici (pleurico, liquido cerebrospinale, ascite, sinoviale)		I campioni prelevati in modo sterile e che si presume non contengano altri batteri possono essere inoculati senza decontaminazione. Se si sospetta che il campione contenga altri batteri, decontaminare con NALC-NaOH o con un metodo equivalente e procedere come per l'espettorato.
Feci		Prendere un piccolo saggio dal campione. Procedere come per l'espettorato.
Tessuti e biopsie	I campioni possono essere congelati in caso di ritardo nel trattamento.	In un omogeneizzatore di tessuti sterile, omogeneizzare in soluzione salina sterile. Portare il volume a 2,0 mL. Inoculare. Se si sospetta che il campione contenga altri batteri, decontaminare con NALC-NaOH o con un metodo equivalente prima di inoculare.
Urina	3 prelievi limpidi o catterizzati di campione di urine del mattino in giorni successivi. Il campione raccolto nelle 24 h non è raccomandabile a causa di potenziali contaminanti.	Centrifugare (≥ 3000 x g, 30 min). Decantare e risospendere in 2 - 5 mL di acqua distillata sterile. Decontaminare con NALC-NaOH o con un metodo equivalente. Risospendere il fondello ad un volume finale di 1 - 2 mL. Inoculare.
Ferite e pelle		Per i tamponi, sospendere in soluzione salina sterile, vortexare per 30 sec e decontaminare con NALC-NaOH o con un metodo equivalente. Risospendere a 2,0 mL. Inoculare.

### PROCEDURA

**Materiali forniti:** Dieci flaconi contenenti terreno di coltura per micobatteri **SEPTI-CHEK AFB** da 20 mL, dieci slide **SEPTI-CHEK AFB**, una fialetta di supplemento di coltura per micobatteri **SEPTI-CHEK AFB** sufficiente per dieci slide/flaconi (vedere "Disponibilità").

**Materiali non forniti:** Contenitori per la raccolta di campioni sterili e provette per centrifuga (infrangibili, con tappo), pipette sterili o aghi e siringhe, acqua distillata sterile, N-acetil-L-cisteina in polvere, NaOH al 4%, omogeneizzatore per tessuti, tamponi sterili (tessuti, ferite, biopsie), centrifuga (2000 - 3500 x g), incubatore (30 - 37° C), autoclave, cappa laminare a flusso verticale e porta-flaconi (vedere "Disponibilità").

### Istruzioni per l'uso con lo slide SEPTI-CHEK AFB:

- Tutte le manipolazioni devono essere eseguite in modo sterile sotto una cappa a flusso laminare verticale usando le precauzioni di norma per i micobatteri.
- Ricostituire il supplemento di coltura per micobatteri **SEPTI-CHEK AFB** con 9 mL di acqua distillata sterile. Aggiungere 1 mL di supplemento in ciascun flacone di coltura per micobatteri **SEPTI-CHEK AFB**. (Rimuovere il tappo a vite o iniettare attraverso il tappo di gomma.)
- Preparare il campione secondo lo schema riportato nella sezione "Raccolta dei campioni" di questo foglietto.
- Aggiungere 0,5 - 1,0 mL del campione trattato al flacone per coltura, dopo aver rimosso il tappo a vite.  
NOTA: Più elevato è il volume di campione utilizzato, maggiore è la sensibilità del sistema. Campioni con particolato o torbidi possono ridurre la capacità di riconoscere la crescita micobatterica.
- Tenere lo slide **SEPTI-CHEK AFB** diritto mentre si svita il tappo bianco dal fondo del contenitore degli slide. Non toccare la filatura interna. Avvitare immediatamente lo slide al flacone di coltura. Controllare la tenuta della chiusura. Apporre l'etichetta sullo slide in un luogo che non nasconda la crescita batterica.
- Ruotare lentamente il sistema a 360° due volte intorno all'asse verticale. (Può essere utilizzato un porta-flaconcini da capovolgimento **BBL SEPTI-CHEK** per il trattamento di sistemi multipli. Vedere "Disponibilità".)  
NOTA: Se si ritarda il primo capovolgimento di 48 h dopo l'incubazione, si può ridurre la possibilità di contaminazione.
- Incubare in posizione verticale a 37° C (tranne che per campioni di pelle, che richiedono un sistema a 37° C ed un altro a 30° C). Non è necessario un incubatore a CO<sub>2</sub>, ma lo si può utilizzare.
- Capovolgere e ruotare ogni giorno durante la prima settimana e poi una volta alla settimana per otto settimane o fino a che si osservi crescita. In caso di formazione di condensa nella parte interna del supporto dello slide, ruotare delicatamente il flacone in modo che il brodo rimuova la condensa senza venire a contatto con lo slide. L'inversione può rimuovere delle colonie; essa perciò non viene raccomandata una volta che si osservi la presenza di colonie.

### Istruzioni per l'uso SENZA lo slide SEPTI-CHEK AFB:

- Tutte le manipolazioni devono essere eseguite in modo sterile sotto una cappa a flusso laminare verticale usando le precauzioni di norma per i micobatteri.
  - Ricostituire il supplemento di coltura per micobatteri **SEPTI-CHEK AFB** con 9 mL di acqua distillata sterile. Aggiungere 1 mL di supplemento in ciascun flacone di coltura per micobatteri **SEPTI-CHEK AFB**. (Rimuovere il tappo a vite o iniettare attraverso il tappo di gomma.)
  - Preparare il campione secondo lo schema riportato nella sezione "Raccolta dei campioni" di questo foglietto.
  - Aggiungere al flacone per coltura 0,5 - 1,0 mL del campione trattato, rimuovendo il tappo a vite o iniettando il campione direttamente nel flacone attraverso il tappo di gomma, usando una siringa sterile con ago fisso o con puntale **Luer-Lok**. Prima di iniettare il campione, disinfettare il tappo di gomma con una soluzione di alcool isopropilico al 70%.  
NOTA: Più grande è il volume di campione utilizzato, maggiore è la sensibilità del sistema. Campioni con particolato o torbidi possono ridurre la capacità di riconoscere la crescita micobatterica. Se il campione viene iniettato, allentare leggermente il tappo a vite per aumentare il contenuto di ossigeno nel flacone. Avvitare bene.
  - Se il campione viene iniettato nel flacone di coltura, disinfettare il tappo di gomma immediatamente usando un disinfettante micobattericida e poi pulire con una soluzione di alcool isopropilico al 70%.
  - Controllare il contenuto del flacone ogni giorno nel corso della prima settimana per rilevare l'eventuale presenza di micobatteri a crescita rapida o di potenziali contaminanti. Dopo una settimana, esaminare le colture negative ogni sette giorni, fino a un periodo massimo di otto settimane. Possibili alterazioni del brodo sono torbidità, coaguli o granuli.
  - Eseguire subcolture su terreni idonei e colorazioni del brodo nel caso di crescita sospetta.
- Controllo di qualità:** Sono state preparate procedure di analisi per il flacone contenente terreno di coltura per micobatteri **SEPTI-CHEK AFB** con aggiunta di supplemento e per lo slide **SEPTI-CHEK AFB** in accordo con il National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Vol. 5, N° 20, *Quality Assurance for Commercially Prepared Microbiological Culture Media* ["Assicurazione di Qualità per Terreni di Coltura Microbiologici di Preparazione Commerciale"].

Ad ogni nuova confezione di terreno o ad ogni partita nuova ricevuta, si raccomanda di effettuare l'inoculo del fiascone di coltura per micobatteri SEPTI-CHEK AFB o dello slide SEPTI-CHEK AFB, a 10<sup>6</sup> UFC/fiascone, utilizzando uno dei seguenti ceppi:

a)	<i>M. tuberculosis</i> .....	ATCC 25177	<i>M. intracellulare</i> .....	ATCC 13950
	<i>M. kansasii</i> .....	ATCC 12478	<i>M. fortuitum</i> .....	ATCC 6841
	<i>M. scrofulaceum</i> .....	ATCC 19961		

e l'inoculo a 10<sup>6</sup> UFC/fiascone utilizzando uno dei seguenti ceppi:

b)	<i>Escherichia coli</i> .....	ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	ATCC 25923
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	ATCC 6305		

La crescita del gruppo (a) nel fiascone è controllata dopo 21 e 28 giorni a 37° C con i seguenti risultati previsti:

(+) = Crescita debole.  
+ = Crescita da moderata a forte.

Micobatterio	Crescita dopo	
	21 giorni	28 giorni
<i>M. tuberculosis</i>	+	+
<i>M. kansasii</i>	+	+
<i>M. scrofulaceum</i>	(+)	(+)
<i>M. intracellulare</i>	(+)	(+)
<i>M. fortuitum</i>	+	+

La crescita del gruppo (a) sugli slide deve essere osservata dopo 21 giorni con i seguenti risultati previsti:

+ = Crescita.  
- = Nessuna crescita.

Il gruppo (b), dopo 7 giorni a 37° C, deve mostrare nel fiascone crescita debole o nulla.

Micobatterio	Parte 1: 7H11	Parte 2: Uovo	Parte 3: Ciocc.
<i>M. tuberculosis</i>	+	+	+/-
<i>M. kansasii</i>	+	+	+/-
<i>M. scrofulaceum</i>	+	+	+/-
<i>M. intracellulare</i>	+	+	-
<i>M. fortuitum</i>	+	+	+/-

Se il fiascone di coltura per micobatteri SEPTI-CHEK AFB, addizionato del supplemento, o lo slide SEPTI-CHEK AFB non danno i risultati attesi, non usare i terreni finché non si sia contattato il rappresentante di zona della Becton Dickinson.

#### RISULTATI

Crescita sulle parti			Interpretazione della crescita sullo slide:
1 7H11	2 Uovo	3 Ciocc.	
+	-	-	Alta probabilità di micobatteri.
-	+	-	Alta probabilità di micobatteri.
+	+	-	Alta probabilità di micobatteri.
+	+	+	Alta probabilità di micobatteri. Moderata probabilità di micobatteri e contaminanti.
-	-	+	Alta probabilità di contaminanti non micobatterici.

La conferma o la differenziazione di contaminanti non micobatterici dovrebbe sempre essere effettuata con esame microscopico per la ricerca di bacilli acido-resistenti.

#### Interpretazione della crescita in brodocoltura:

Osservazioni	Conclusioni
Solo brodo	Alta probabilità di micobatteri.
Brodo e parte 1 & 2, o 1, o 2, o 1, & 2 & 3	Alta probabilità di micobatteri.
Né in brodo sullo slide	Sistema non inoculato o nessun organismo vitale nel campione.
Brodo e soltanto parte 3	Probabili micobatteri e contaminanti non micobatterici. Bassa probabilità di contaminanti non micobatterici da soli. Bassa probabilità di micobatteri da soli.

NOTA: I micobatteri possono talvolta originare una torbidità non omogenea nel mezzo di coltura, ma spesso generano soltanto granielli o flocculati variabili per diametro e quantità. Si raccomanda l'analisi microscopica di colture positive per la ricerca di bacilli acido-resistenti.

#### LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

I micobatteri sono spesso difficili e una sola coltura negativa non può essere sufficiente ad escludere la loro presenza.

Culture con notevoli quantità di contaminanti non micobatterici devono essere ripetute e/o subcolturate per trasferimento di brodo da un sistema di inoculo ad uno nuovo. La crescita micobatterica può essere spesso inibita o mascherata da contaminanti, ma evidenziata da subcolture. Se si presenta una miscela di contaminanti e micobatteri, la digestione e decontaminazione possono permettere il recupero di micobatteri. Il sistema BBL SEPTI-CHEK AFB è concepito per la ricerca, l'isolamento e la subcoltura di micobatteri. Per la conferma è necessaria una colorazione per acido-resistenti da un campione di brodo e/o dallo slide. L'identificazione della specie a partire dalla crescita sullo slide, può essere effettuata con metodi convenzionali di riconoscimento o con tecnologie che utilizzano sonde molecolari.

#### CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

Il sistema SEPTI-CHEK AFB consente l'isolamento di micobatteri da campioni clinici. La performance del sistema SEPTI-CHEK AFB è stata valutata mediante tre studi condotti indipendentemente, di cui si riportano i risultati nelle Tabelle di seguito.<sup>1-3</sup>

##### STUDIO A<sup>9</sup>

Organismo	N° di isolati	% isolamento			SEPTI-CHEK TTD <sup>1</sup> (giorni)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC 460TB	Terreni tradizionali*	
Complesso <i>M. tuberculosis</i>	75	100	N/A	90	23
Complesso <i>M. avium</i>	40	100	N/A	60	18 - 21
Specie <i>Mycobacterium</i> <sup>†</sup>	17	100	N/A	71	24 - 26

\*Per Terreni tradizionali si intende la combinazione di Lowenstein-Jensen e 7H11.

<sup>†</sup> *M. flavescens* (4), *M. chelonae* (3), *M. goodii* (5), *M. kansasii* (4) e *M. xenopi* (1).

<sup>1</sup> Il TTD (tempo di rilevamento) è basato sulla combinazione brodo-slide del sistema SEPTI-CHEK AFB.

##### STUDIO B<sup>10</sup>

Organismo	N° di isolati	% isolamento			SEPTI-CHEK TTD <sup>1</sup> (giorni)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC 460TB	Terreni tradizionali*	
Complesso <i>M. tuberculosis</i>	34	100	100	82	19 - 37
Complesso <i>M. avium</i>	25	92	92	68	18 - 20
Specie <i>Mycobacterium</i> <sup>†</sup>	2	50	50	50	36

\*Lowenstein-Jensen.

<sup>†</sup> *M. goodii* (2).

##### STUDIO C<sup>11</sup>

Organismo	N° di isolati	% isolamento			SEPTI-CHEK TTD <sup>1</sup> (giorni)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC 460TB	Terreni tradizionali*	
Complesso <i>M. tuberculosis</i>	9	100	89	67	20
Complesso <i>M. avium</i>	47	94	74	62	14
Specie <i>Mycobacterium</i> <sup>†</sup>	10	90	40	40	17

\* Lowenstein-Jensen.

<sup>†</sup> *M. chelonae* (4), *M. fortuitum* (2), *M. scrofulaceum* (1) e *M. goodii* (3).

#### DISPONIBILITÀ

N° di cat.	Descrizione	Descrizione
243558	Fiasconi contenenti terreno di coltura per micobatteri BBL SEPTI-CHEK AFB, 10 fiasconi da 20 mL. Supplemento di coltura per micobatteri BBL SEPTI-CHEK AFB, 5 fiasconi da 2,2 g. Slide BBL SEPTI-CHEK AFB, 10 per confezione.	Porta-fiasconcini da capovolgimento BBL SEPTI-CHEK. Slide BBL SEPTI-CHEK, cpu 10. Slide BBL SEPTI-CHEK, cpu 50.

Per informazioni riguardo a numeri di catalogo specifici, visitare il nostro sito <http://www.bd.com/microbiology>, o contattare la sede Becton Dickinson Microbiology Systems più vicina.

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.



88-0933-1  
Revisado: 07-99

ESPAÑOL

**BBL SEPTI-CHEK AFB**  
Sistema de cultivo de micobacterias**USO PREVISTO**

El frasco de cultivo **BBL SEPTI-CHEK AFB**, suplemento **BBL SEPTI-CHEK AFB** y **BBL SEPTI-CHEK AFB Slide** son un sistema de diagnóstico in vitro integrado y completo para la detección y aislamiento de micobacterias en esputo, lavados o aspirados bronquiales, líquidos corporales (pleural, cefalorraquídeo, ascitis, sinovial), orina, deposiciones, biopsia de tejidos o heridas y piel cuando se sospecha una micobacteriosis.

**RESUMEN Y EXPLICACION**

Las micobacterias son agentes infecciosos responsables de cuadros clínicos persistentes y crónicos, la mayoría de las veces de naturaleza respiratoria y algunas se propagan por la tos y la expectoración.<sup>1,2</sup> Como grupo, estos organismos son capaces de infectar casi todos los órganos del cuerpo. Esto se ha hecho cada vez más evidente y frecuente en casos de disfunción inmune subyacente asociada con enfermedades como la infección por el VIH y la drogadicción.<sup>3,4</sup>

Históricamente, la *Mycobacterium* patógena humana encontrada con más frecuencia es *M. tuberculosis*.<sup>1,2</sup> En algunas poblaciones, ésta ha sido superada por el complejo de *Mycobacterium avium*.<sup>3,4</sup>

Las micobacterias presentan varias características que las distinguen de otras bacterias. Las más notables son la resistencia a la decoloración después de la tinción, crecimiento relativamente lento y resistencia a los agentes de la digestión.<sup>5</sup> Los medios de cultivo convencionales utilizados para el aislamiento de micobacterias son generalmente los de Lowenstein-Jensen (LJ) o Middlebrook 7H9, 7H10 ó 7H11.<sup>6</sup> El crecimiento se observa en estos medios en un intervalo de 3 a 56 días, según las especies aisladas y la concentración de bacterias viables. El sistema **SEPTI-CHEK AFB** ha sido diseñado para promover un crecimiento rápido en un medio de caldo, proporcionando a la vez un subcultivo simultáneo en tres medios distintos, una identificación presunta y la capacidad de realizar pruebas de identificación y susceptibilidad.

**PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO**

Se obtiene una muestra de un paciente adecuado, se somete a digestión, se concentra y se descontamina como se describe en la sección de "Recogida de las muestras" de este folleto. Una porción medida de la muestra tratada se transfiere asepticamente después al frasco de cultivo **SEPTI-CHEK AFB** al que se le ha añadido el suplemento para cultivo **SEPTI-CHEK AFB**. El **SEPTI-CHEK AFB Slide** se acopla inmediatamente a la parte superior del frasco en sustitución de la tapa, a fin de mantener la atmósfera enriquecida en CO<sub>2</sub>. El sistema se invierte y se gira inicialmente y luego periódicamente durante la incubación hasta que se observen colonias en el Slide o hasta que se confirme la ausencia de micobacterias en la muestra (8 semanas). Si se desea, se pueden realizar tinciones ácido-resistentes y de Gram, subcultivos adicionales o análisis con sonda de las colonias del Slide y utilizar el primer crecimiento en el caldo para efectuar pruebas adicionales.

**REACTIVOS**

**Frasco para cultivo de micobacterias SEPTI-CHEK AFB:** Caldo Middlebrook 7H9 modificado.

Cada frasco contiene aproximadamente 20 mL de medio en atmósfera enriquecida en CO<sub>2</sub>.

Fórmula aproximada\* por L de agua procesada

Hidrolizado de caseína.....	1,053 g	Sulfato magnésico heptahidratado .....	0,053 g
Fosfato dipotásico de hidrógeno .....	1,579	Acido L-glutámico.....	0,526
Cloruro sódico .....	0,895	Citrato férrico de amonio (FH) .....	0,042
Sulfato de amonio .....	0,526	Biotina.....	0,0005
Fosfato monopotásico .....	1,579	Verde malaquita.....	0,001
Dihidrato de citrato trisódico .....	0,421		

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

**SEPTI-CHEK AFB Slide:** Slide con tres superficies numeradas que contienen medios –

Superficie 1 – Agar Middlebrook 7H11 no selectivo, modificado, adecuado para el crecimiento de la mayoría de las micobacterias.

Superficie 2 – Medio a base de huevo, adecuado para el crecimiento de la mayoría de las micobacterias.

Superficie 3 – Agar Chocolate para el aislamiento inicial de bacterias distintas de las micobacterias, que crecerán en este agar sólo después una incubación prolongada.

**BBL SEPTI-CHEK AFB Slide:** Fórmula aproximada\* por L de agua procesada

Superficie 1: 7H11	Superficie 2: Huevo	Superficie 3: Chocolate
Base de agar Middlebrook 7H11 ..... 21,0 g Glicerol ..... 6,2 OADC ..... 40,0 ml	Base de agar Middlebrook 7H11 ..... 21,0 g Glicerol ..... 6,2 OADC ..... 40,0 ml Verde malaquita ..... 0,05 g Huevo en polvo..... 50,0 (de huevos enteros)	Base de agar GC ..... 36,0 g Hemoglobina en polvo ..... 15,0 Enriquecimiento soVialeX ..... 10,0 Agar cristalizado ..... 4,0

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

**Suplemento para cultivo de micobacterias SEPTI-CHEK AFB:** Suplemento de enriquecimiento con antibiótico para el cultivo de micobacterias. Aproximadamente 2,2 g por frasco, cuyo contenido es el siguiente:

Fórmula aproximada\* por L de agua procesada

HCl .....	0,16 g	Desoxicolato sódico.....	0,01 g
Acido oélico.....	0,45	Sulfato de polimixina B .....	0,13
Albumina bovina frac. V .....	100,00	Arfoterina B .....	0,13
Prídoxal .....	0,02	Acido nalidixico .....	0,40
Catalasa .....	0,40	Lactato de trimetoprim .....	0,13
Monohidrato de glucosa .....	40,00	Azocilina.....	0,21
Glicerina.....	63,05		

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

**Precauciones:** Diagnóstico in vitro

Como ocurre en cualquier procedimiento de diagnóstico, deben tenerse en cuenta las consideraciones clínicas y la opinión profesional para interpretar el resultado de cualquier prueba, especialmente el resultado de una prueba única.

El sistema **SEPTI-CHEK AFB** ha sido previsto para ser utilizado en laboratorios con experiencia en la manipulación de micobacterias o de muestras que contengan micobacterias.<sup>7</sup> Como el *M. tuberculosis* es muy infeccioso, las muestras y los componentes del **SEPTI-CHEK AFB** deben ser manejados por personal calificado en conformidad con las "Precauciones universales"<sup>8</sup> y las normas del establecimiento. Los frascos y Slide deben tratarse en autoclave antes de ser desechados.

**Instrucciones para el manejo de los reactivos:** Los frascos para cultivo **SEPTI-CHEK AFB** deben inocularse con 1 mL del frasco de cultivo **SEPTI-CHEK AFB** reconstituido que se va a utilizar. Se reconstituye un frasco de suplemento de cultivo **SEPTI-CHEK AFB** antes del uso.

Para reconstituir el suplemento de cultivo **SEPTI-CHEK AFB**, añada 9 mL de agua destilada estéril. Agite suavemente el frasco para disolver el contenido. Reparta 1 mL en cada frasco de cultivo **SEPTI-CHEK AFB** que se va a utilizar. Un frasco de suplemento reconstituido es suficiente para 10 frascos de medio de cultivo.

**Almacenamiento y estabilidad:**

**Frasco para cultivo de micobacterias SEPTI-CHEK AFB** – Conserve entre 15 – 25° C. Proteja de la luz. No debe utilizarse si está turbio. El caldo debe ser de color verde claro a incoloro. El caldo al que se ha añadido 1 mL de suplemento es estable entre 2 – 8° C durante 14 días. NO LO CONGEELE. No lo inocule después de la fecha de caducidad que aparece en la etiqueta del frasco.

**SEPTI-CHEK AFB Slide** – Conserve entre 2 – 8° C. NO LO CONGEELE. No utilice Slides deshidratados ni contaminados. No lo acople al frasco después de la fecha de caducidad que aparece en el envase.

**Suplemento para cultivo de micobacterias SEPTI-CHEK AFB** – Conserve entre 2 – 8° C. Proteja de la luz. El suplemento reconstituido con agua destilada estéril puede conservarse entre 2 – 8° C o a -20° C durante un período máximo de 14 días antes de utilizarse. No utilice para suplemento del frasco de cultivo después de la fecha de caducidad que aparece en la etiqueta del frasco.

**RECOGIDA DE LAS MUESTRAS**

Todas las muestras deben recogerse y transportarse siguiendo las recomendaciones de los CDC (U.S. Centers for Disease Control and Prevention), el *Manual of Clinical Microbiology* o el manual de procedimientos del laboratorio.<sup>5,7</sup>

Tipo de muestra	Recomendaciones para la manipulación de muestras específicas	Tratamiento previo antes de la inoculación del cultivo <sup>5,7</sup>
Esputo Lavado bronquial Aspirado bronquial	3 muestras por la mañana temprano en días sucesivos, sin exceder cada una de 10 mL.	Descontamine con N-acetil-L-cisteína/NaOH (NALC-NaOH) o un método equivalente. Suspnda de nuevo el sedimento hasta obtener un volumen final de 1 – 2 mL. Inocule.
Líquido corporal (pleural, cefalorraquídeo, ascitis, sinovial)		Las muestras recogidas asepticamente y que previsiblemente no contienen ninguna otra bacteria pueden ser inoculadas sin hacer la descontaminación. Si se sospecha que la muestra contiene otras bacterias, descontamine con NALC-NaOH o un método equivalente y proceda de la misma manera como para el esputo.
Deposición		Tome una pequeña parte de la muestra. Proceda como en el caso del esputo.
Tejidos y biopsia	Las muestras pueden congelarse si es necesario un retraso en el proceso.	Triture en un homogeneizador de tejidos estéril en solución salina estéril. Lleve el volumen a 2,0 mL. Inocule. Si se sospecha que esta muestra pueda contener otras bacterias, descontamine con NALC-NaOH o un método equivalente antes de inocularla.
Orina	3 muestras de orina por la mañana temprano tomada limpia o con catéter en días sucesivos. No se recomienda la reunión de muestras de 24 h debido a la posible contaminación.	Centrifugue (≥ 3000 x g, 30 min). Decante y suspenda de nuevo en 2 – 5 mL de agua destilada estéril. Descontamine con NALC-NaOH o un método equivalente. Suspnda de nuevo el sedimento hasta obtener un volumen final de 1– 2 mL. Inocule.
Heridas y piel		Para torundas, suspenda en solución salina estéril, macé en vórtex 30 seg y descontamine con NALC-NaOH o un método equivalente. Suspnda de nuevo hasta obtener 2,0 mL. Inocule.

**PROCEDIMIENTO**

**Materiales suministrados:** Diez frascos para cultivo de micobacterias de 20 mL **SEPTI-CHEK AFB**, diez **SEPTI-CHEK AFB Slides**, un frasco de suplemento para cultivo de micobacterias **SEPTI-CHEK AFB** suficiente para diez Slides/frascos (vea "Disponibilidad").

**Materiales no suministrados:** Envase para recogida de muestras estériles y tubos de centrifuga (irrompibles, sellados), pipetas o aguja y jeringa estériles, agua destilada estéril, N-acetil-L-cisteína en polvo, NaOH al 4%, homogeneizador de tejidos, torunda estéril (tejidos, heridas, biopsias), centrifuga (2000 – 3500 x g), incubador (30 – 37° C), autoclave, campana laminar vertical y gradillas para los frascos (vea "Disponibilidad").

**Instrucciones de uso con el SEPTI-CHEK AFB Slide:**

- Todas las manipulaciones deben realizarse asepticamente, bajo una campana de flujo laminar vertical, siguiendo las precauciones normales para micobacterias.
- Reconstituya el suplemento para cultivo de micobacterias **SEPTI-CHEK AFB** con 9 mL de agua destilada estéril. Añada 1 mL de suplemento a cada frasco de cultivo de micobacterias **SEPTI-CHEK AFB**. (Quite la tapa de rosca o inyecte a través del tapón).
- Prepare la muestra siguiendo el esquema que encontrará en la sección de "Recogida de las muestras" de este folleto.
- Añada 0,5 – 1,0 mL de la muestra tratada al frasco de cultivo quitando la tapa de rosca.  
NOTA: Cuanto mayor sea el volumen de la muestra utilizada, mayor será la sensibilidad del sistema. Las muestras con partículas o turbias pueden reducir la capacidad de reconocer el crecimiento micobacteriano.
- Mantenga el **SEPTI-CHEK AFB Slide** en forma vertical mientras desmenuza la tapa blanca del fondo del envase del Slide. No toque la rosca interior. Acople inmediatamente el Slide al frasco de cultivo. Revise la impermeabilidad del ajuste. Marque el Slide de manera que no impida ver el crecimiento bacteriano.
- Gire lentamente el sistema 360° alrededor del eje vertical dos veces. (Puede utilizarse la gradilla de inversión para frascos pequeños **BBL SEPTI-CHEK** para manipular sistemas múltiples. Vea "Disponibilidad").  
NOTA: Retrasar la primera inversión hasta 48 h después de la incubación puede reducir la contaminación.
- Incube en posición vertical a 37° C (excepto para muestras de piel, que precisan un sistema a 37° C y otro a 30° C). No se precisa un incubador en atmósfera de CO<sub>2</sub>, pero se puede utilizar.
- Inviértalo y gírelo a diario durante la primera semana y posteriormente una vez a la semana durante ocho semanas o hasta que se observe crecimiento. En el caso de condensación en la parte interna del Slide, gire suavemente el frasco de modo que el caldo limpie la zona de condensación pero no se ponga en contacto con el Slide. La inversión puede hacer desaparecer las colonias y no se recomienda una vez que se han observado colonias.

**Instrucciones de uso SIN el SEPTI-CHEK AFB Slide:**

- Todas las manipulaciones deben realizarse asepticamente, bajo una campana de flujo laminar vertical, siguiendo las precauciones normales para micobacterias.
- Reconstituya el suplemento para cultivo de micobacterias **SEPTI-CHEK AFB** con 9 mL de agua destilada estéril. Añada 1 mL de suplemento a cada frasco de cultivo de micobacterias **SEPTI-CHEK AFB**. (Quite la tapa de rosca o inyecte a través del tapón).
- Prepare la muestra siguiendo el esquema que encontrará en la sección "Recogida de las muestras" de este folleto.
- Añada 0,5 – 1,0 mL de la muestra tratada al frasco de cultivo, ya sea después de quitar la tapa de rosca o por inyección a través del tapón de goma utilizando una jeringa estéril con aguja permanente o punta **Luer-Lok**. Antes de inyectar la muestra, desinfecte los tapones de goma con una solución de alcohol isopropílico al 70%.  
NOTA: Cuanto mayor sea el volumen de la muestra utilizada, mayor será la sensibilidad del sistema. Las muestras con partículas o turbias pueden reducir la capacidad de reconocer el crecimiento micobacteriano. Si la muestra ha sido inyectada, afloje brevemente la tapa a rosca para aumentar el contenido de oxígeno en el frasco. Cierre la tapa hermeticamente.
- Si se inyecta la muestra en el frasco de cultivo, desinfecte inmediatamente el tapón de goma con un desinfectante micobactericida y luego límpielo con una solución de alcohol isopropílico al 70%.

6. Inspeccione el contenido del frasco a diario durante la primera semana para detectar micobacterias de crecimiento rápido o posibles contaminantes. Después de una semana, examine los cultivos negativos cada semana durante un periodo de hasta ocho semanas. Los cambios observados pueden incluir turbidez, copos o gránulos en el caldo.
7. Realice subcultivos en medios y tinciones adecuados de caldo cuando se sospeche crecimiento.

**Control de calidad:** Los procedimientos de la prueba para el frasco para cultivo de micobacterias SEPTI-CHEK AFB con suplemento añadido y el SEPTI-CHEK AFB Slide se han preparado de acuerdo con el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Vol. 5, Nº 20, *Quality Assurance for Commercially Prepared Microbiological Culture Media* ["Garantía de Calidad para Medios de Cultivo Microbiológicos Preparados Comercialmente"].

Al recibir un envío o número de lote nuevos, se recomienda que uno de los siguientes organismos se inocule en un frasco para cultivo de micobacterias SEPTI-CHEK AFB o en un SEPTI-CHEK AFB Slide a una concentración de 10<sup>8</sup> UFC/frasco:

a)	<i>M. tuberculosis</i> .....	ATCC 25177	<i>M. intracellulare</i> .....	ATCC 13950
	<i>M. kansasii</i> .....	ATCC 12478	<i>M. fortuitum</i> .....	ATCC 6841
	<i>M. scrofulaceum</i> .....	ATCC 19981		

y se recomienda uno de los siguientes organismos para la inoculación a 10<sup>8</sup> UFC/frasco:

b)	<i>Escherichia coli</i> .....	ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	ATCC 25923
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	ATCC 6305		

El crecimiento en el frasco del grupo (a) se examina después de 21 y 28 días a 37° C con los siguientes resultados previstos:

(+) = crecimiento débil.  
+ = crecimiento moderado-fuerte.

Micobacteria	Crecimiento después de	
	21 días	28 días
<i>M. tuberculosis</i>	+	+
<i>M. kansasii</i>	+	+
<i>M. scrofulaceum</i>	(+)	(+)
<i>M. intracellulare</i>	(+)	(+)
<i>M. fortuitum</i>	+	+

El crecimiento del grupo (a) en los Slide debe observarse después de 21 días con los siguientes resultados previstos:

+ = crecimiento.  
- = crecimiento nulo.

El grupo (b) debe mostrar un crecimiento nulo o débil en el frasco después de 7 días a 37° C.

Micobacteria	Superficie 1 7H11	Superficie 2 Huevo	Superficie 3 Chocolate
<i>M. tuberculosis</i>	+	+	+/-
<i>M. kansasii</i>	+	+	+/-
<i>M. scrofulaceum</i>	+	+	+/-
<i>M. intracellulare</i>	+	+	-
<i>M. fortuitum</i>	+	+	+/-

Si no se obtienen los resultados esperados del frasco para cultivo de micobacterias SEPTI-CHEK AFB con suplemento añadido ni del SEPTI-CHEK AFB Slide, no vuelva a usar el medio sin antes comunicarse con el representante local de Becton Dickinson.

#### RESULTADOS

Crecimiento sobre la superficie			Interpretación del crecimiento sobre el Slide:
1 7H11	2 Huevo	3 Chocolate	
+	-	-	Alta probabilidad de micobacterias.
-	+	-	Alta probabilidad de micobacterias.
+	+	-	Alta probabilidad de micobacterias.
+	+	+	Alta probabilidad de micobacterias. Moderada probabilidad de micobacterias y contaminante.
-	-	+	Alta probabilidad de contaminante no micobacteriano.

Para bacilos ácido-resistentes debe realizarse siempre la confirmación o diferenciación de contaminantes no micobacterianos por examen microscópico.

#### Interpretación del crecimiento en el caldo:

Observación	Conclusión
Sólo en el caldo	Alta probabilidad de micobacterias.
En caldo y en las superficies 1 y 2 ó 1 ó 2, ó 1, 2 y 3	Alta probabilidad de micobacterias.
Ni en el caldo ni en el Slide	Sistema sin inocular u organismos no viables en la muestra.
Sólo en el caldo y en la superficie 3	Probables micobacterias y contaminante no micobacteriano. Baja probabilidad de contaminante no micobacteriano solo. Baja probabilidad de micobacterias solas.

NOTA: Las micobacterias pueden generar a veces una turbidez no homogénea en el medio de cultivo de crecimiento, pero con frecuencia dan origen simplemente a gránulos o copos de diámetros distintos y en cantidades diversas. Se recomienda la inspección microscópica de los cultivos positivos para la detección de bacilos ácido-resistentes.

#### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Las micobacterias son a menudo problemáticas, y no debe utilizarse un único cultivo negativo para descartar su presencia.

Los cultivos con grandes cantidades de contaminantes no micobacterianos deben repetirse y/o someterse a subcultivo por transferencia del caldo de un sistema inoculado a un sistema nuevo. El crecimiento micobacteriano puede ser a menudo inhibido o eclipsado por contaminantes pero es realizado por subcultivo. Si está presente una mezcla de contaminante y micobacterias, la digestión y descontaminación puede permitir recuperar las micobacterias. El sistema BBL SEPTI-CHEK AFB ha sido previsto para su uso en la detección, aislamiento y subcultivo de micobacterias. Para la confirmación es necesaria una tinción ácido-resistente del caldo de cultivo y/o Slide. Se puede realizar la identificación de las especies mediante crecimiento en el Slide, utilizando métodos convencionales o tecnologías con sonda.

#### CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

El sistema SEPTI-CHEK AFB permite la recuperación de micobacterias de muestras clínicas. Tres estudios independientes publicados han evaluado el rendimiento del sistema SEPTI-CHEK AFB como se indica en las tablas siguientes:<sup>9,10,11</sup>

#### ESTUDIO A<sup>9</sup>

Organismo	Nº de aislados	% recuperados			SEPTI-CHEK TTD <sup>1</sup> (días)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC 460TB	Medio convencional*	
Complejo <i>M. tuberculosis</i>	75	100	N/A	90	23
Complejo <i>M. avium</i>	40	100	N/A	60	18 - 21
Especie <i>Mycobacterium</i> <sup>1</sup>	17	100	N/A	71	24 - 26

\* El medio convencional refleja la combinación de Lowenstein-Jensen y 7H11.

<sup>1</sup> *M. flavescens* (4), *M. chelonae* (3), *M. goodii* (5), *M. kansasii* (4) y *M. xenopi* (1).

<sup>2</sup> TTD (tiempo de detección) basado en la combinación de caldo y Slide SEPTI-CHEK AFB.

#### ESTUDIO B<sup>10</sup>

Organismo	Nº de aislados	% recuperados			SEPTI-CHEK TTD <sup>1</sup> (días)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC 460TB	Medio convencional*	
Complejo <i>M. tuberculosis</i>	34	100	100	82	19 - 37
Complejo <i>M. avium</i>	25	92	92	68	18 - 20
Especie <i>Mycobacterium</i> <sup>1</sup>	2	50	50	50	36

\* Lowenstein-Jensen.

<sup>1</sup> *M. goodii* (2).

#### ETUDE C<sup>11</sup>

Organismo	Nº de aislados	% recuperados			SEPTI-CHEK TTD <sup>1</sup> promedio (días)
		SEPTI-CHEK AFB	BACTEC 460TB	Medio convencional*	
Complejo <i>M. tuberculosis</i>	9	100	89	67	20
Complejo <i>M. avium</i>	47	94	74	62	14
Especie <i>Mycobacterium</i> <sup>1</sup>	10	90	40	40	17

\* Lowenstein-Jensen.

<sup>1</sup> *M. chelonae* (4), *M. fortuitum* (2), *M. scrofulaceum* (1) y *M. goodii* (3).

#### DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción	Descripción
243558	Frascos para cultivo de micobacterias BBL SEPTI-CHEK AFB, 10 frascos de 20 mL. Suplemento para cultivo de micobacterias BBL SEPTI-CHEK AFB, 5 frascos de 2,2 g. BBL SEPTI-CHEK AFB Slide, 10 por caja.	Gradilla de inversión para frascos pequeños BBL SEPTI-CHEK BBL SEPTI-CHEK Slide, cpu 10. BBL SEPTI-CHEK Slide, cpu 50.

Para obtener información sobre los números de catálogo específicos, visite nuestro sitio Web <http://www.bd.com/microbiology> o comuníquese con la oficina más cercana de Becton Dickinson Microbiology Systems.

BIBLIOGRAFÍA: Ver "Referencias" en el texto en inglés.

**BECTON  
DICKINSON**

Becton Dickinson France S.A.  
11 rue Aristide Bergès  
38800 Le Pont de Claix, France