BECTON DICKINSON DE COLOMBIA LTDA

FICHA TÉCNICA DE PRODUCTO

CATALOGO BD: 245114-245116-245124	TITULO: Para la detección de micobacterias Tubo BBL MGIT indicador de crecimiento micobacteriano, BBL MGIT OADC, mezcla antibiótica BBL MGIT PANTA		
REGISTRO SANITARIO: Invima 2016 RD-0003814 VIGENCIA 22/08/2026	PRESENTACION: CAJA X 6 FRASCOS OADC – 6 FRASCOS PANTA		
TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO: 2-8 °C			



USO PREVISTO

El tubo **BBL MGIT** indicador de crecimiento micobacteriano suplementado con el caldo de enriquecimiento **BBL MGIT** OADC y cuando es apropiado, la mezcla antibiótica **BBL MGIT PANTA**, está destinado para la detección y recuperación de micobacterias. Los tipos de muestra aceptables son muestras clínicas digeridas y descontaminadas (excepto orina) y fluidos corporales estériles (excepto sangre).

RESUMEN Y EXPLICACION

Entre 1985 y 1992, el numero de casos de MTB comunicados aumentó un 18%. La tuberculosis todavía produce una mortalidad anual de 3 millones de personas en todo el mundo, la cual la convierte en la principal causa infecciosa de muerte.1 Entre 1981 y 1987, la vigilancia de los casos de SIDA encontró un 5,5% de pacientes con SIDA con infecciones micobacterianas no tuberculosas diseminadas, es decir, MAC. En 1990, el aumento en el número de casos de infección micobacteriana no tuberculosa diseminada había producido una incidencia cumulativa del 7,6%.2 Por encima del resurgimiento de MTB, el MTB con polifármaco resistencia (MDR-TB) genera cada vez más preocupación. La lentitud de los laboratorios en el crecimiento, identificación y comunicación de estos casos de MDR-TB ha contribuido, al menos en parte, a la diseminación de la enfermedad.3

Los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) de los EE.UU. han recomendado que los laboratorios se esfuercen todo lo posible en utilizar los métodos más rápidos disponibles para el análisis diagnóstico de micobacterias. Estas recomendaciones incluyen la utilización de medios de cultivo tanto líquidos como sólidos para el cultivo de micobacterias.3

El tubo **MGIT** indicador de crecimiento micobacteriano contiene 4 mL de base de caldo Middlebrook 7H9 modificado.4,5 El medio de cultivo completo, con 0,5 mL de caldo de enriquecimiento OADC y 0,1 mL de

mezcla antibiótica **PANTA**, es uno de los medios líquidos usados más frecuentemente para el cultivo de micobacterias.
Todo tipo de muestras clínicas, tanto pulmonares como extrapulmonares (salvo sangre y orina), pueden ser procesadas para el aislamiento primario en tubos **MGIT** utilizando métodos convencionales.6 La muestra procesada se inocula en un tubo **MGIT** y se incuba y examina diariamente a partir del segundo día de incubación utilizando luz ultravioleta de onda larga. En el momento de detectarse positividad en el tubo, están presentes aproximadamente 104 – 107 UFC/mL de micobacterias.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Un compuesto fluorescente está incluido en silicona en la parte inferior de los tubos de 16 x 100 mm de fondo redondo. El compuesto fluorescente es sensible a la presencia de oxígeno disuelto en el caldo. Inicialmente, la gran cantidad de oxígeno disuelto apaga las emisiones procedentes del compuesto y se puede detectar muy poca fluorescencia. Más tarde, los microorganismos que respiran activamente consumen el oxígeno y permiten que se observe la fluorescencia mediante el uso de un transiluminador ultravioleta de 365 nm o luz ultravioleta de onda larga (lámpara de Wood). El crecimiento también puede ser detectado por la presencia de turbidez no homogénea o pequeños gránulos o copos en el medio de cultivo. Los componentes del medio son substancias esenciales para el crecimiento rápido de micobacterias. El ácido oleico es usado por bacilos tuberculosos y desempeña un papel importante en el metabolismo micobacteriano. La albúmina actúa como agente protector al ligar ácidos grasos libres, los cuales pueden ser tóxicos para las especies Mycobacterium y, por lo tanto, ayuda en su recuperación. La dextrosa es una fuente de energía. La catalasa destruye las peroxidasas tóxicas que pueden estar presentes en el medio. La contaminación puede ser reducida al suplementar el medio de base **BBL MGIT** combinado con el caldo de enriquecimiento **BBL MGIT**
OADC con la mezcla antibiótica **BBL MGIT PANTA** antes de la inoculación con la muestra clínica.

REACTIVOS

Los tubos **BBL MGIT** indicadores de crecimiento micobacteriano contienen: 110 µL de indicador fluorescente y 4 mL de caldo. El indicador contiene cloruro pentahidratado de Tris-4,7-difenil-1,10 fenantrolina rutenio en una base de silicona. Los tubos se limpian con un chorro de CO2 al 10% y se cierran con tapones de polipropileno.
Fórmula aproximada* por L de agua purificada
Base de caldo Middlebrook 7H9 modificado ……..5,9 g
Peptona de caseína ……1,25 g
BBL MGIT OADC contiene 15 mL de caldo de enriquecimiento Middlebrook OADC.
Fórmula aproximada* por L de agua purificada
Albúmina bovina……50,0 g
Catalasa …… 0,03 g
Dextrosa ……20,0 g
Acido oleico ……0,6 g
El frasco **BBL MGIT PANTA** contiene una mezcla liofilizada de agentes antimicrobianos. Fórmula aproximada* por frasco liofilizado de **PANTA**
Polimixina B …… 6.000 unidades
Trimetoprim ……600 µg
Anfotericina B …… 600 µg
Azlocilina ……600 µg
Acido nalidíxico …… 2.400 µg
*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

Instrucciones de uso:

Reconstituya un frasco liofilizado de **MGIT PANTA** con 3 mL de agua destilada estéril o desionizada.
Advertencias y precauciones: Para diagnóstico in vitro. **Puede haber microorganismos patógenos en las muestras, incluyendo los virus de la hepatitis B y de la inmunodeficiencia humana. Deben seguirse las precauciones universales1,2 y las normas del establecimiento en el manejo de cualquier material contaminado con sangre u otros líquidos corporales.**
El trabajo con Mycobacterium tuberculosis en cultivo precisa la utilización de prácticas del Nivel de bioseguridad 3 y equipo e instalaciones
para contención.6 Antes de utilizarlos, inspeccione todos los tubos **MGIT** en busca de evidencias de contaminación o desperfectos. Deseche todos los tubos que no reúnan las condiciones adecuadas o que exhiban fluorescencia antes de utilizarlos.
Si algún tubo se cae, debe ser examinado cuidadosamente. Si nota cualquier daño, deseche el.
Utilice gafas de protección para luz ultravioleta cuando observe la fluorescencia y use solamente iluminación de onda larga (365 nm). NO UTILICE LUZ ULTRAVIOLETA DE ONDA CORTA PARA LAS OBSERVACIONES.

Todos los tubos **MGIT** inoculados deben ser esterilizados en autoclave antes de desecharse.
Almacenamiento de reactivos: Tubos **BBL MGIT** indicadores de crecimiento micobacteriano – En cuanto los reciba, almacénelos entre 2 – 25° C. NO LOS CONGELE. Reduzca al mínimo la exposición a la luz. El caldo debe estar transparentee incoloro. No lo use si está turbio.
Los tubos **MGIT** que han sido almacenados antes del uso como lo indiquen sus etiquetas pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados hasta ocho semanas.
BL MGIT OADC – En cuanto lo reciba, guárdelo en un sitio oscuro entre 2 – 8° C. Evite la congelación o el sobrecalentamiento. No lo abra
antes de usarlo. Reduzca al mínimo la exposición a la luz. Mezcla antibiótica **BBL MGIT PANTA** – Almacene los frascos liofilizados entre 2 – 8° C. Una vez que se reconstituya, la mezcla **PANTA** puede ser utilizada hasta 72 h, siempre que se almacene entre 2 – 8° C, o hasta 6 meses si se almacena a -20° C o menos. Una vez que se descongele, la mezcla **PANTA** debe ser utilizada inmediatamente. Deseche la parte no utilizada.

RECOGIDA Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Todas las muestras deben ser recogidas y transportadas siguiendo las recomendaciones de los CDC, del Clinical Microbiology Procedures Handbook o del manual de procedimientos del laboratorio.6,8

DIGESTION, DESCONTAMINACION Y CONCENTRACION

Las muestras procedentes de distintos sitios del cuerpo deben ser procesadas para la inoculación en los tubos **MGIT** en la forma siguiente: ESPUTO: Las muestras deben ser procesadas utilizando el método NALC-NaOH de acuerdo con las recomendaciones en el Public Health
Myco bacteriology: A Guide for the Level III Laboratory de los CDC.6 Alternativamente, use el equipo **BBL MycoPrep** para el procesamiento
de muestras micobacterianas (vea "Disponibilidad"). ASPIRADOS GASTRICOS: Las muestras deben ser descontaminadas como con el esputo. Si el volumen de la muestra es más de 10 mL, concéntrela por centrifugación. Suspenda de nuevo el sedimento en aproximadamente 5 mL de agua estéril y después descontamine. Añada una pequeña cantidad de NALC en polvo (entre 50 – 100 mg) si la muestra es espesa o mucoidea. Después de la descontaminación, concéntrela de nuevo antes de la inoculación en el tubo **MGIT**.
FLUIDOS CORPORALES (LCR, líquido sinovial, líquido pleural, etc.): Las muestras que son recogidas asépticamente y que no se espera que tengan otras bacterias pueden ser inoculadas sin descontaminar. Si el volumen de la muestra es más de 10 mL, concéntrela por centrifugación a 3.000 x g durante 15 min. Elimine el líquido sobrenadante. Inocule el tubo **MGIT** con el sedimento. Las muestras que se espera que tengan otras bacterias deben ser descontaminadas.
TEJIDO: Las muestras de tejido deben ser procesadas de acuerdo con las recomendaciones en el Public Health Mycobacteriology: A Guide
for the Level III Laboratory de los CDC.6 MATERIA FECAL: Suspenda 1 g de heces en 5 mL de caldo Middlebrook. Agite la suspensión en un agitador vórtex durante 5 seg. Continúe con el procedimiento de NALC-NaOH siguiendo las recomendaciones en el Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory de los CDC.6

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: Tubos **BBL MGIT** indicadores de crecimiento micobacteriano, 4 mL, paquete de 25 y 100 tubos, o **BBL MGIT** OADC, 6 frascos, 15 mL, o mezcla antibiótica **BBL MGIT PANTA**, 6 frascos liofilizados (vea "Disponibilidad"). **Materiales necesarios pero no suministrados:** Tubos de centrifugación de 50 mL marca **Falcon**, hidróxido de sodio al 4%, solución de
citrato de sodio al 2,9%, N-acetil-L-cisteína en polvo, solución tampón de fosfato pH 6,8, agitador vórtex, incubadora para 37° C, pipetas estériles de 1 mL, pipetas estériles de transferencia, transiluminador ultravioleta (365 nm) o lámpara de Wood con bombilla de onda larga o luz negra, solución de sulfito de sodio al 0,4% (procedimiento más adelante), agar **BBL** Middlebrook y Cohn 7H10, **BBL MycoPrep**, Caldo **BBL** Middlebrook 7H9 (vea "Disponibilidad") u otro medio de cultivo de micobacterias a base de agar o de huevo. Homogenizador de tejidos
o torunda estéril, solución salina normal **BBL** (vea "Disponibilidad"), microscopio y materiales para teñir preparaciones en portaobjetos, pipetas de 100 µL y 500 µL, puntas de pipeta correspondientes, placa de agar con 5% de sangre de cordero, gafas de protección ocular (UVP Nº UVC-303, San Gabriel, CA, USA) y desinfectante tuberculocida.

Inoculación de los tubos MGIT:

1 Rotule el tubo **MGIT** con el número de la muestra.
2 Desenrosque el tapón y añada asépticamente 0,5 mL de **MGIT** OADC.
3 Añada asépticamente 0,1 mL de la mezcla antibiótica **MGIT PANTA** reconstituida. Para obtener los mejores resultados, la adición del caldo de enriquecimiento OADC y la mezcla antibiótica **PANTA** debe

hacerse justo antes de la inoculación de la muestra.
4 Añada 0,5 mL de la suspensión de muestra concentrada preparada anteriormente. También añada una gota (0,1 mL) de la muestra a una placa de agar 7H10 ó a otro medio micobacteriano de agar sólido o a base de huevo. NOTA: Un volumen de muestra que sea mayor de 0,5 mL puede aumentar la contaminación o de otro modo afectar en forma adversa el rendimiento de los tubos.
5 Vuelva a tapar el tubo firmemente y mezcle bien.
6 Incube los tubos a 37° C. Para aquellas muestras en que se sospeche la presencia de micobacterias que tienen necesidades de incubación diferentes, se puede preparar e incubar un segundo tubo **MGIT** a la temperatura apropiada; es decir, a 30° C ó 42° C. Inocule e incube a la temperatura necesaria. Para aquellas muestras en que se sospeche la presencia de Mycobacterium haemophilum, hay que introducir una substancia que contiene hemina en el momento de la inoculación e incubar el tubo a 30° C. Coloque asépticamente un disco de **BBL Taxo** Differentiation Discs X en cada tubo **MGIT** que requiere la adición de hemina antes de inocular la muestra (vea "Disponibilidad").
7. Lea los tubos diariamente comenzando en el segundo día de la incubación, siguiendo el procedimiento "Lectura de los tubos" descrito más adelante. **Preparación de tubos de control positivo y negativo para la interpretación:** Se utilizan los tubos de control negativo y de control positivo sólo para la interpretación de la fluorescencia y no para controlar el rendimiento de los medios.
Tubo de control positivo:
1 Vacíe el caldo de un tubo **MGIT** sin inocular.
2 Marque el tubo como control positivo y anote la fecha.
3 Prepare una solución de sulfito de sodio al 0,4% (0,4 g en 100 mL de agua esterilizada o desionizada). Deseche la porción sin usar.
4 Añada 5 mL de la solución de sulfito de sodio al tubo, coloque de nuevo el tapón, ajústelo y deje reposar el tubo durante al menos 1 h a temperatura ambiente antes de usarlo.
5 Los tubos de control positivo pueden ser usados muchas veces. Cada tubo de control positivo puede usarse hasta cuatro semanas cuando se almacena a temperatura ambiente. **Tubo de control negativo:** Se utiliza como control un tubo **MGIT** sellado, sin inocular.
Lectura de los tubos:
1 Es importante utilizar un control positivo y un control negativo para la interpretación correcta de los resultados.
2 Saque los tubos de la incubadora. Coloque los tubos bajo la luz ultravioleta al lado de un tubo de control positivo y de un tubo sin inocular (control negativo). Se recomienda que se ponga a la vez una gradilla de tubos (4 x 10 tubos) bajo la luz ultravioleta. NOTA: Se recomienda llevar gafas de protección para luz ultravioleta cuando observe la fluorescencia. Se prefiere la iluminación habitual. Evite la lectura de los tubos en una pieza con luz solar directa o en una pieza oscurecida.
3 Localice visualmente los tubos **MGIT** que muestren fluorescencia intensa. La fluorescencia es detectada como un color anaranjado brillante en el fondo del tubo y también como un reflejo anaranjado en el menisco. El tubo **MGIT** debe entonces ser sacado de la gradilla y comparado con los tubos de control positivo y control negativo. El control positivo debe mostrar una alta intensidad de fluorescencia (color anaranjado muy brillante). El control negativo debe tener muy poca o nada de fluorescencia. Si la fluorescencia en el tubo **MGIT**
Marca: **MGIT**
Fabricante: **BECTON DICKISNON AND COMPANY**

Distribuido en Colombia por:
Becton Dickinson de Colombia Ltda
Calle 97 # 23-1 A 23-99 Ed. Torre Proksol piso 9
Bogotá D.C. Colombia