

**USO PREVISTO**

El juego de reactivos MycoDDR de IMMY contiene todos los reactivos requeridos para la digestión y descontaminación de muestras clínicas para el diagnóstico del género Mycobacterium.

**RESUMEN y EXPLICACIÓN**

Las muestras que se sospeche que contienen flora bacteriana normal, transitoria o contaminante se someterán a un proceso de descontaminación química que permita la recuperación efectiva de las micobacterias. (1) El procedimiento y los reactivos de digestión y descontaminación utilizados en este juego se basan en los descritos por Kubica et al. (2) El compuesto mucolítico N-acetil-L-cisteína (NALC) se combina con una solución de hidróxido de sodio y citrato de sodio para digerir la mucosidad mientras que el pH alto del hidróxido de sodio mata cualquier bacteria contaminante. El pH alto de esta solución también puede matar la micobacteria después de 15 a 20 minutos, lo que hace el tiempo del proceso de digestión y descontaminación sea fundamental.

Después del proceso de digestión y descontaminación, también es fundamental que la solución vuelva a tener un pH neutro lo más rápido posible. El reactivo A de NaOH al 2,5 % incluye un reactivo indicador de pH que cambia de azul cuando el pH es básico a incoloro cuando el pH es casi neutro. Esto permite al técnico de laboratorio titular de manera visual la solución utilizando el tampón de neutralización B incluido. La solución resultante se somete a centrifugación y se decanta. El gránulo de sedimentación de la muestra resultante se vuelve a suspender en el tampón de resuspensión C.

**ADVERTENCIAS y PRECAUCIONES**

- Solo para uso diagnóstico in vitro.
- Se deben tomar precauciones para evitar la contaminación cruzada entre las muestras. En un estudio retrospectivo, el 16 % de 140 casos de tuberculosis multirresistente fueron el resultado de la contaminación cruzada en el laboratorio (3).

**PRECAUCIONES DE LOS REACTIVOS**

- El reactivo A de NaOH al 2,5 % contiene hidróxido de sodio, un químico cáustico. Tenga cuidado al trabajar con esta solución.
- Se deben emplear precauciones estándar contra riesgos biológicos al trabajar con muestras clínicas que pueden contener células de tuberculosis viables para evitar contaminar o infectar otras muestras o al personal del laboratorio.

**REACTIVOS PROPORCIONADOS**

Cantidades según el número de REF				
REF	NALC (viales de 300 mg)	Reactivo A de NaOH al 2,5 % (botellas de 60 ml)	Tampón de neutralización B (botellas de 30 ml)	Tampón de resuspensión C (botellas de 3 ml)
TBNN1010-2.5	10	10	Ninguno	Ninguno
TBP300-5	5	Ninguno	Ninguno	Ninguno
TBPN67-60	Ninguno	Ninguno	60	Ninguno
TBPN67-8	Ninguno	Ninguno	8 botellas de 500 ml	Ninguno
TBRB30-60	Ninguno	Ninguno	Ninguno	60

**MATERIALES NO PROPORCIONADOS**

- Centrifugadora
- Portaobjetos de microscopio
- Mezclador de vórtice
- Tubos de centrifugadora
- Pipetas estériles
- Medios de TB

**PREPARACIÓN DEL REACTIVO**

*Nota: El reactivo A de NaOH al 2,5 % permanecerá activo durante 72 horas después de añadir el reactivo NALC. Para obtener los mejores resultados, deseche cualquier reactivo restante después de este período.*

1. Afloje la tapa del vial del reactivo A de NaOH al 2,5 %.
2. Con la funda de seguridad de plástico aún colocada, rompa con cuidado la parte superior de la ampolla de vidrio que contiene el polvo NALC.
3. Añada el polvo NALC al vial del reactivo A de NaOH al 2,5 %. No es necesario rehidratar el polvo NALC sobrante que pueda quedar en la ampolla en este momento.

**ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DE LOS REACTIVOS**

Los reactivos MycoDDR que se incluyen en este paquete son estables hasta la fecha de caducidad etiquetada cuando se almacenan entre 15 °C y 30 °C.

Después de mezclar el reactivo A de NaOH al 2,5 % y el polvo NALC, almacene cualquier porción no utilizada entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 72 horas. No congele ni caliente a más de 30 °C. Deje que el producto alcance la temperatura ambiente antes de usarlo.

**OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

Las muestras clínicas deben obtenerse y transportarse al laboratorio de acuerdo con los protocolos y las normas establecidos. Consulte las pautas institucionales locales para conocer los procedimientos de obtención y transporte requeridos.

Todas las muestras deben manipularse de conformidad con las pautas de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades/Institutos Nacionales de Salud (CDC/NIH) o las pautas institucionales locales para cualquier suero, sangre u otros fluidos corporales humanos potencialmente infecciosos. Antes de desecharlos, esterilice los recipientes de las muestras y otros materiales contaminados en autoclave.

**PROCEDIMIENTO DE PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

1. Coloque las muestras clínicas (en tubos de centrifugadora de 50 ml) en una campana de bioseguridad adecuada antes del procesamiento.
2. Afloje, pero no quite, las tapas de cada uno de los tubos de muestras individuales. Es importante abrir solo una muestra a la vez y evitar el intercambio de tapas.
3. Trabajando con una sola muestra a la vez, pipeteé de forma aseptica un volumen (hasta 10 ml) del reactivo A de NaOH al 2,5 %/reactivo NALC preparado (**consulte la sección Preparación del reactivo**) igual al volumen de la muestra. Las muestras de más de 10 ml de volumen deberán dividirse en dos tubos y procesarse por separado. Después, los gránulos deben combinarse siguiendo los pasos de sedimentación/resuspensión.
4. Apriete las tapas de los tubos de centrifugadora y mezcle en vórtex cada uno durante aproximadamente 30 segundos.
5. Deje que cada muestra se incube a temperatura ambiente durante 15 a 20 minutos, y mezcle en vórtex brevemente cada 5 minutos.
6. Después del paso de incubación, quite la tapa de un solo tubo de muestra y comience a verter despacio el contenido de un vial de tampón de neutralización B en el tubo. Observe el color del líquido en el tubo y deje de verter cuando el color de la solución haya cambiado a transparente o incoloro.
7. Deseche cualquier tampón de neutralización B restante después de usarlo.
8. Repita los pasos 6 y 7 para cada muestra individual utilizando un vial de tampón de neutralización B distinto en cada una. No vuelva a utilizar el vial en varias muestras ya que esto puede provocar contaminación cruzada y arrojar resultados erróneos.
9. Apriete la tapa de cada tubo.
10. Centrifugue cada tubo durante 15 minutos a 3000 x g.
11. Vuelva a colocar los tubos de las muestras en la campana de bioseguridad.
12. Vierta despacio todo el sobrenadante en un recipiente a prueba de salpicaduras llenado parcialmente con un desinfectante adecuado o en un tubo desecharable separado para evitar la contaminación cruzada.
13. Con una pipeta de transferencia estéril, añada aproximadamente de 0,5 ml a 1,0 ml de un vial individual de tampón de resuspensión C al gránulo y mezcle para volver a suspender.
14. Prepare los frotis apropiados para la tinción para bacterias acidorresistentes o inocule los medios de cultivo de conformidad con los protocolos del laboratorio.
15. Añada 1 ml o 2 ml adicionales de tampón de resuspensión C (según los requisitos de volumen del laboratorio) al gránulo con una pipeta de transferencia estéril.
16. Siga las recomendaciones del fabricante para cualquier procedimiento de diagnóstico adicional en los gránulos resuspendidos.

**CONTROL DE CALIDAD**

Inspeccione de manera visual los tampones para asegurarse de que sean transparentes o incoloros, con excepción de la solución de reactivo A de NaOH al 2,5 %, que debe ser azul. Deseche cualquier reactivo que muestre precipitación, turbidez o enturbiamiento.

**NOTAS DEL PROCEDIMIENTO**

Las muestras contaminadas de manera constante con especies de Pseudomonas pueden requerir un tratamiento adicional con ácido oxálico, como se describe en Kent y Kubica (2).

**LIMITACIONES**

Es necesario seguir con precisión el procedimiento que se describe arriba. La organización del tiempo, la adición de tampones, la decantación, etc., incorrectos pueden derivar en la pérdida del género de Mycobacterium viable y resultados de cultivos defectuosos.

**RESULTADOS ESPERADOS**

Se puede esperar la recuperación de organismos del género Mycobacterium viables si están presentes en la muestra clínica y se pueden procesar de acuerdo con este prospecto.

**CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO**

Las muestras que se sometieron a las pruebas de micobacterias de rutina se procesaron de manera simultánea con el sistema Myco-DRR de IMMY y el sistema de la Compañía A. A la fecha, se han analizado 99 muestras en total, 38 muestras pulmonares (esputo, lavado broncoalveolar, líquido pleural) y 61 muestras misceláneas (tejido y heridas). De las 99 muestras, 10 obtuvieron un resultado positivo de micobacterias. El acuerdo general entre IMMY y la Compañía A es excelente (kappa = 0,878, IC del 95 %: 0,712-1,00).

IMMY Comp. A	Resultado positivo de micobacterias	Resultado negativo de micobacterias
Resultado positivo de micobacterias	8	0
Resultado negativo de micobacterias	2	89

**REFERENCIAS**

1. Cernoch, P.L., R.K. Enns, M.A. Saubolle, and R.J. Wallace, Jr. 1994. Cumitech 16A, Laboratory diagnosis of the mycobacterioses. Coord. ed., A.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Kent, P., Kubica, G.P., Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 1985.
3. Small, P.M., N.B. McClenney et al., Molecular Strain Typing of Mycobacterium tuberculosis to confirm cross-contamination in the mycobacteriology laboratory and modification of procedures to minimize occurrence of false-positive cultures. J. Clin. Microbiol. 31(7):1677-1682.



2701 Corporate Centre Drive.

Norman, OK 73069 EE. UU.

(405)360-4669/(800) 654-3639

Fax: (405) 364-1058

Correo electrónico: [info@immy.com](mailto:info@immy.com)

Web: [www.immy.com](http://www.immy.com)



EC REP

MDSS

Schiffgraben 41

30175 Hannover, Alemania

**USO DE SÍMBOLOS INTERNACIONALES**

	Almacenamiento 15 °C-30 °C	LOT	Número de lote
	Fabricado por	REF	Número de referencia
	Fecha de caducidad	IVD	Diagnósticos in vitro
	Cumple con los requisitos de la Unión Europea		Suficiente para "n,9" ensayos

# NaOH al 2,5 %