

Intended use

Slant culture tubes for primary isolation and culture of *Mycobacterium tuberculosis* complex and mycobacteria other than *M. tuberculosis*^{1,2}.

Contents

Mycobacterium tube 1 Cat. No. 68140	Mycobacterium tube 2 Cat. No. 68141
10 Mycobacterium tube 1 Instructions for use	10 Mycobacterium tube 2 Instructions for use

Material required but not supplied

Reagents and laboratory equipment for mycobacterial culture.

Principle

Mycobacterium tube 1 and 2 contain a modification of Löwenstein-Jensen medium.

Mycobacterium tube 1 supports the growth of mycobacteria that are able to utilise glycerol as the main carbon source.

Mycobacterium tube 2 is designed for isolation and culture of pyruvate-dependent mycobacteria which may remain undetected unless a pyruvate-containing medium with decreased pH is utilised^{1,2,3,4,5,6}.

Parallel use of Mycobacterium tube 1 and 2 allows reliable detection of clinically important mycobacteria.

Typical formulation

Mycobacterium tube 1		Mycobacterium tube 2	
Mycobacterium 1 salt solution	330 ml	Mycobacterium 2 salt solution	330 ml
KH ₂ PO ₄	4.0 g/l	Pyruvic acid	12.0 g/l
MgSO ₄	0.4 g/l	KH ₂ PO ₄	4.0 g/l
Trimagnesium dicitrate	1.56 g/l	MgSO ₄	0.4 g/l
Starch	50.0 g/l	Trimagnesium dicitrate	1.56 g/l
Glycerol	20 ml	Starch	50.0 g/l
Homogenised whole egg	660 ml	Homogenised whole egg	660 ml
Malachite green oxalate 1%	10 ml	Malachite green oxalate 1%	10 ml

Warnings and precautions

- Mycobacterium tube 1 and 2 are for *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE only.
- Do not use the product beyond the expiry date.
- Do not use the Mycobacterium tube if you detect discoloration or dehydration of the normally greenish medium, poor solidification of the medium or evidence of bacterial or fungal growth.
- Because all inoculated Mycobacterium tubes may contain potential pathogens, do not touch the medium.
- Pay special attention to the procedures and devices used in mycobacterial culture because of the biohazards associated with handling of infectious material.
- Small air bubbles sometimes present inside the culture medium do not affect the performance of the medium.

Storage

Mycobacterium tube 1 and 2 should be stored at 2...8°C, protected from light and draught. **Do not allow to freeze.** The expiry date is marked on the box.

Sample collection

It is recommended that the standard procedures described by for example the United States Centers for Disease Control (CDC) be used for primary isolation of mycobacteria⁵.

Laboratory evaluation of the sample involves

1. decontamination, digestion and concentration
2. microscopic examination for the presence of acid-fast bacilli
3. isolation of the microbe by culturing
4. identification of the microbe for susceptibility testing⁶

Reading the result

Inoculated Mycobacterium tube 1 and 2 are read within five to seven (5–7) days after inoculation and then once a week for eight (8) weeks or according to local standard procedure.

Expected values

A positive *M. tuberculosis* complex culture is always considered clinically significant.

There are in addition more than 25 species in the *Mycobacterium* genus that may cause human diseases^{2,6,7}.

Performance characteristics

According to Lue et al., 1995⁸

GROWTH % (mean recovery time/days)				
Organism	N	Mycobacterium tube 1	Mycobacterium tube 2	Löwenstein-Jensen medium
<i>M. tuberculosis</i>	60	98.6 (16.4)	95.7 (16.6)	100 (23.2)
<i>M. avium</i>	17	87.0 (19.1)	95.7 (18.4)	88.2 (28.2)
<i>M. gordonae</i>	1	100 (13.0)	100 (13.0)	100 (20.0)
<i>M. kansasii</i>	1	100 (13.0)	100 (13.0)	100 (20.0)
<i>M. scrofulaceum</i>	1	100 (15.0)	100 (15.0)	100 (15.0)
<i>M. chelonae</i>	5	100 (32.0)	100 (32.0)	100 (23.8)

Limitations of the procedure

Mycobacteria with special growth requirements, such as *M. haemophilum* or *M. paratuberculosis* and other mycobactin-dependent mycobacteria, do not grow on solid media without supplementary nutrients. Furthermore, certain mycobacterial species, such as *M. genavense*, cannot be cultured on solid media⁹.

Quality control

Quality control tests are performed on each lot of Mycobacterium tube 1 and 2 at the time of manufacture. Should the user wish to perform his own quality control, the following organisms are recommended:







1. *M. tuberculosis* ATCC 25177
2. *M. intracellulare* ATCC 13950
3. *M. scrofulaceum* ATCC 19981
4. *M. kansasii* ATCC 12478
5. *M. fortuitum* ATCC 6841

Disposal

All inoculated tubes may contain highly contagious material and should be disposed of according to existing local regulations.

Literature • Litteratur • Kirjallisuus

1. Katila M-L, Mattila J. Enhanced isolation of MOTT on egg media of low pH. APMIS 1991;99:803–7.
2. Katila M-L, Mattila J, Brander E. Enhancement of growth of Mycobacterium malmøense by acidic pH and pyruvate. Eur J Microbiol Infect Dis 1989;8:998–1000.
3. Naumann L. Vergleichende Untersuchungen von flüssigen und festen Nährböden in der Tuberkulose-Diagnostik. Klinisches Labor 1992;38:325–9.
4. Portaels F, Pattyn SR. Growth of mycobacteria in relation to the pH of the medium. Ann Microbiol (Paris) 1982;133:212–21.
5. Stonebrink B. Tubercle bacilli and pyruvic acid. Proceed. Tub. Res. Council. 1957;44:67–74.
6. Shinnick TM, Good RC. Diagnostic mycobacteriology laboratory practices. Clin Infect Dis 1995;21:291–9.
7. Falkinham JO. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. Clin Microbiol Rev 1996;9:177–215.
8. Lue YA, Brophy G, Visot B. New solid medium for the rapid recovery of mycobacteria. In: Proceedings of the 95th ASM General Meeting; 1995 May 21–25; Washington, DC, USA. 1995.
9. Nolte SF, Metchock B: Mycobacterium. Manual of clinical microbiology. 6th ed., 1995.

Explanation of symbols • Forklaring på symboler • Symbolien selitykset			
	English	Norsk	Suomi
	For <i>in vitro</i> diagnostic use	For <i>in vitro</i> diagnostikk	<i>In vitro</i> -diagnostiikkaan
	Catalogue number	Artikkel nummer	Tuotenumero
	Batch code	Batch nr.	Eränumero
	Use by	Brukes til	Käytettävä ennen
	Store at 2...8°C	Storage temperature	Oppbevarings-temperatur
	Manufacturer	Produsent	Valmistaja



ORION
DIAGNOSTICA

Orion Diagnostica Oy
P.O.Box 83, 02101 Espoo, Finland
Tel. +358 10 4261, Fax +358 10 426 2794
www.oriondiagnostica.com



Anvendelse

Dyrkningsrør for primær isolasjon og dyrkning av *Mycobacterium tuberculosis* complex og mycobacteria andre enn *M. tuberculosis*^{1,2}.

Kit Innhold

Mycobacterium rør 1 Cat. No. 68140	Mycobacterium rør 2 Cat. No. 68141
10 Mycobacterium rør 1 Bruksanvisning	10 Mycobacterium rør 2 Bruksanvisning

Nødvendig materiale som ikke følger med

Reagenser og laboratorie utstyr for mycobakteriell dyrkning.

Prinsipp

Mycobacterium rør 1 og 2 inneholder et modifisert Löwenstein-Jensen medium. Mycobacterie rør 1 forsterker veksten av mycobacterier som har evnen til å anvende glyserol som den viktigste karbon kilde.

Mycobacterium rør 2 er for isolasjon og dyrking av pyruvat avhengige mycobacterier som kan bli oversett hvis det ikke brukes dyrkningsmedier som inneholder pyruvat med nedsatt pH^{1,2,3,4,5,6}.

Samtidig bruk av Mycobacterium rør 1 og 2 gir pålitelig påvisning av klinisk viktige mycobacterier.

Innhold

Mycobacterium rør 1	Mycobacterium rør 2
Mycobacterium 1 salt oppløsning	Mycobacterium 2 salt oppløsning
330 ml	330 ml
KH ₂ PO ₄	Pyrodruue syre
4.0 g/l	12.0 g/l
MgSO ₄	KH ₂ PO ₄
0.4 g/l	4.0 g/l
Trimagnesium dicitrate	MgSO ₄
1.56 g/l	0.4 g/l
Stivelse	Trimagnesium dicitrate
50.0 g/l	1.56 g/l
Glyserol	Stivelse
20 ml	50.0 g/l
Homogeniserte hele egg	Homogeniserte hele egg
660 ml	660 ml
Malakitt grønn oxalate 1%	Malakitt grønn oxalate 1%
10 ml	10 ml

Advarsel og forhåndsregler

- Mycobacterium rør 1 and 2 er bare for *IN VITRO* DIAGNOSTISK bruk.
- Ikke bruk produktet etter utløpsdatoen.
- Ikke bruk Mycobacterium rør hvis du oppdager misfarging eller dehydrering av det normalt grønnaktige medium, hvis mediet virker "grøtet" (ikke fast) eller ved mistanke om bakterie- eller soppvekst.
- Da alle inokulerte Mycobacterium rør kan inneholde potensielle patogener må mediet ikke berøres.
- Alt materiell som er brukt i forbindelse med dyrkningen skal behandles som potensielt smittefarlig og behandles deretter.
- Luftboblene i rørene er en kosmetisk feil, som ikke vil påvirke bruken eller resultatene med dem.

Lagring

Mycobacterium rør 1 og 2 skal oppbevares ved 2...8°C, beskyttet for lys og trekk. **Må ikke fryse.** Utløpsdatoen er merket på esken.

Prøve taking

Det anbefales at standard prøvetakingsmetode som f. eks. The United States Centers for Disease Control (CDC) brukes ved primær isolasjon av mycobakterier⁶.

Ved behandling av prøvene i laboratoriet bør følgende inngå:

- dekontaminering, nedbryting og konsentrering
- mikroskopering for å undersøke tilstedeværelse av syrefaste bakterier
- dyrkning for å isolere bakterien
- identifikasjon og resistensbestemmelse⁶

Avlesning av resultat

Inokulert Mycobacterium rør 1 og 2 må avleses innen fem-syv (5–7) dager etter inokulering og så en gang i uken i åtte (8) uker eller i henhold til lokal standard prosedyre.

Forventet resultat

En positiv *M. tuberculosis* complex dyrkning er alltid ansett som klinisk signifikant. Det er mer enn 25 arter Mycobakterier som kan forårsake human sykdom^{2,6,7}.

Egenskaper

I henhold til Lue et al., 1995⁸

VEKST % (gjennomsnittlig overlevelse timer/dager)				
Organisme	N	Mycobacterium rør 1	Mycobacterium rør 2	Löwenstein-Jensen medium
<i>M. tuberculosis</i>	60	98.6 (16.4)	95.7 (16.6)	100 (23.2)
<i>M. avium</i>	17	87.0 (19.1)	95.7 (18.4)	88.2 (28.2)
<i>M. gordonae</i>	1	100 (13.0)	100 (13.0)	100 (20.0)
<i>M. kansasii</i>	1	100 (13.0)	100 (13.0)	100 (20.0)
<i>M. scrofulaceum</i>	1	100 (15.0)	100 (15.0)	100 (15.0)
<i>M. chelonae</i>	5	100 (32.0)	100 (32.0)	100 (23.8)

Begrensninger

Mycobacterier med spesiell vekstkrav som for eks. *M. haemophilum* eller *M. paratuberculosis* og andre mycobactin-avhengige mycobacterier, som ikke vokser på faste medier uten ekstra næring, samt noen mycobacterie arter slik som *M. genavense*, kan ikke dyrkes på faste medier⁹.

Kvalitetskontroll

Kvalitetskontroll blir utført ved produksjon av hver batch Mycobacterium rør 1 og 2. Hvis brukeren ønsker å gjøre sin egen kvalitetskontroll, er følgende organismer anbefalt brukt:

- M. tuberculosis* ATCC 25177
- M. intracellulare* ATCC 13950
- M. scrofulaceum* ATCC 19981
- M. kansasii* ATCC 12478
- M. fortuitum* ATCC 6841

Avfall

Alle inokulerte rør kan inneholde kontaminert materiale og skal behandles i henhold til lokale regler.

Käyttötarkoitus

Vinopintaviljelyputket mykobakteereiden (*M. tuberculosis* complex ja atyyppiset mykobakteerit) primaariviljelystyn sekä kantojen jatkokasvatukseen^{1,2}.

Sisältö

Mycobacterium 1 -putki Tuotenumero 68140	Mycobacterium 2 -putki Tuotenumero 68141
10 Mycobacterium 1 -viljelystyputkea Käyttöohje	10 Mycobacterium 2 -viljelystyputkea Käyttöohje

Tarvikkeet, jotka eivät sisälly pakkaukseen

Pakkaus ei sisällä muita mykobakteeriviljelystyssä tarvittavia reagensseja ja välineitä.

Periaate

Mycobacterium 1 ja 2 -putket on valmistettu muunnellusta Löwenstein-Jensenin elatusaineesta.

Mycobacterium 1 -putki on tarkoitettu niille mykobakteereille, jotka kykenevät käyttämään glyserolia pääasiallisena hiilenlähteenään.

Mycobacterium 2 -putki on tarkoitettu palorypälehaposta riippuvaisten mykobakteereiden viljelystyyn. Ne saattavat jäädä primääriviljelystyssä havaitsematta, mikäli ei käytetä pyruvaattia sisältävää elatusainetta, jonka pH on matalampi^{1,2,3,4,5,6}.

Kliinisesti tärkeiden mykobakteereiden luotettavan toteamisen edellytyksenä on primaarinäytteiden viljeleminen samanaikaisesti sekä Mycobacterium 1 että 2 -putkille.

Koostumus

Mycobacterium 1 -putki	Mycobacterium 2 -putki
Mycobacterium 1 suolaliuos	Mycobacterium 2 suolaliuos
330 ml	330 ml
KH ₂ PO ₄	Palorypälehapo
4.0 g/l	12.0 g/l
MgSO ₄	KH ₂ PO ₄
0.4 g/l	4.0 g/l
Trimagnesium disitraatti	MgSO ₄
1.56 g/l	0.4 g/l
Tärkkelys	Trimagnesium disitraatti
50.0 g/l	1.56 g/l
Glyseroli	Tärkkelys
20 ml	50.0 g/l
Homogenoidut kokonaiset kananmunat	Homogenoidut kokonaiset kananmunat
660 ml	660 ml
Malakiittivihreäoksalaatti 1%	Malakiittivihreäoksalaatti 1%
10 ml	10 ml

Varoitukset ja huomautukset

- Mycobacterium 1 ja 2 -putket on tarkoitettu vain *IN VITRO* DIAGNOSTISEEN KÄYTTÖÖN.
- Älä käytä tuotetta vanhenemispäivämäärän jälkeen.
- Älä käytä Mycobacterium-putkea, jos normaalisti vihertävä elatusaine on poikkeavan värinen, se ei ole kiinteä tai se on kuivunut, tai putkella on merkkejä bakteeri- tai sienikasvusta.
- Mykobakteeriviljelystyitä tehtäessä on otettava huomioon tartuntavaarallisten mikrobin käsittelyyn liittyvät biologiset riskit.
- Putkessa näkyvä pienten kuplien aiheuttama kosmeettinen haitta ei vaikuta tuotteen toimivuuteen.

Säilytys

Mycobacterium 1 ja 2 -putket tulee säilyttää 2...8°C:ssa suojattuna valolta tai vedolta. **Ei saa jäättyä.** Vanhenemispäivämäärä on merkitty pakkaukseen.

Näytteenotto

Kliinisten näytteiden mykobakteeriprimääriviljelystyssä suositellaan noudatettaviksi esimerkiksi menettelyjä, jotka on kuvattu United States Centers for the Disease Control (CDC):n ohjeissa⁶.

Näytteen laboratorioskäsitelyyn kuuluvat seuraavat työvaiheet:

- dekontaminointi, digestio ja konsentointi
- mikroskopointi haponkestävien (acid-fast) sauvojen osoittamiseksi primäärinäytteistä
- mikrobin viljely
- mikrobin identifiointi ja herkkyystestaus⁶

Tulosten lukeminen

Viljellyt Mycobacterium 1 ja 2 -putket luetaan viikottain kahdeksan viikon ajan tai laboratoriohtaisten ohjeiden mukaisesti.

Tuloksen tulkinta

Todettu *M. tuberculosis* complex -kasvu on aina (kliinisesti) merkitsevä löydös. Lisäksi yli 25 muuta *Mycobacterium*-suvun laji voi aiheuttaa sairauksia ihmisille^{2,6,7}.

Testin toimivuus

Lue et al., 1995⁸

KASVU % (keskimääräinen kasvun havaitsemisaika päivinä)				
Organismi	N	Mycobacterium 1 -putki	Mycobacterium 2 -putki	Löwenstein-Jensen elatusaine
<i>M. tuberculosis</i>	60	98.6 (16.4)	95.7 (16.6)	100 (23.2)
<i>M. avium</i>	17	87.0 (19.1)	95.7 (18.4)	88.2 (28.2)
<i>M. gordonae</i>	1	100 (13.0)	100 (13.0)	100 (20.0)
<i>M. kansasii</i>	1	100 (13.0)	100 (13.0)	100 (20.0)
<i>M. scrofulaceum</i>	1	100 (15.0)	100 (15.0)	100 (15.0)
<i>M. chelonae</i>	5	100 (32.0)	100 (32.0)	100 (23.8)

Menetelmän rajoitukset

Eräät erityisen vaativat mykobakteerit, kuten *M. haemophilum*, *M. paratuberculosis* sekä muut mykobaktiinista riippuvaiset mykobakteerit, eivät kasva kiinteällä elatusaineella ilman lisäravinteita. Lisäksi jotkut mykobakteerilajit, kuten esim. *M. genavense*, eivät kasva kiinteällä elatusalustalla⁹.

Laadunvalvonta

Jokaiselle Mycobacterium 1 ja 2 -putkierälle tehdään valmistuksen jälkeen mykobakteereiden kasvua kontrolloivat laadunvalvontatestit.

Tarvittaessa voi putkien käyttäjät tehdä kasvukontrollit seuraavilla mykobakteerikannoilla:

- M. tuberculosis* ATCC 25177
- M. intracellulare* ATCC 13950
- M. scrofulaceum* ATCC 19981
- M. kansasii* ATCC 12478
- M. fortuitum* ATCC 6841

Hävitys

Kaikki viljellyt Mycobacterium 1 ja 2 -putket tulee hävittää paikallisia jätteiden hävitykseen liittyviä määräyksiä noudattaen.