

Kit pre-trattamento e la decontaminazione dei campioni da analizzare per la ricerca dei micobatteri.

DESCRIZIONE

DECONTAM-KIT è un kit per il pre-trattamento e la decontaminazione dei campioni da analizzare per la ricerca dei micobatteri. La configurazione è disponibile nella variante da 90 test.

CONTENUTO DELLE CONFEZIONI

Ciascuna confezione contiene 9 flaconi di Reagente A, 9 flaconi x 100 ml di Reagente B, 9 flaconi di Reagente C ed 1 foglio istruzioni.

PRINCIPIO DEL METODO

Il materiale da analizzare contiene spesso della flora batterica associata che può ricoprire il terreno di coltura in modo tale da nascondere o inibire la crescita dei micobatteri eventualmente presenti. Per la maggior parte dei campioni è utile, inoltre, fluidificare il materiale da analizzare. Il pre-trattamento, infatti, deve rendere fluido ed omogeneo il campione e consentire l'eliminazione della flora microbica associata per ottenere una migliore concentrazione dei micobatteri eventualmente presenti. L'aggiunta del Tween 80, prima della centrifugazione, favorisce la successiva separazione per centrifugazione dei micobatteri, la cui densità resta inferiore a 1.0.

Il metodo che impiega N-Acetil-L-Cysteina/NaOH si basa :

- sulle capacità decontaminanti del sodio idrossido che agisce come agente mucolitico;
- sul processo di centrifugazione che facilita la liquefazione;
- sulla capacità di N-Acetil-L-Cysteina di fluidificare lo sputo e di permettere il trattamento con concentrazioni basse di NaOH, aumentando la capacità del trattamento di recupero dei micobatteri.

COMPOSIZIONE

| | | | | |
|------------|-----------------------------|---------|------------------------|---------|
| Reagente A | Sodio citrato | 1.45 g | N-Acetil-L-Cysteina | 0.5 g |
| Reagente B | Sodio idrossido | 2.0 g | Acqua deionizzata | 100 ml |
| Reagente C | Potassio fosfato monobasico | 1.452 g | Sodio fosfato bibasico | 1.659 g |

RACCOLTA DEI CAMPIONI

1. I campioni in cui non è normalmente presente flora batterica (come liquido cefalo-rachidiano, sangue e altro materiale ottenuto sterilmente) non necessitano decontaminazione e possono essere seminati direttamente sul terreno di coltura dopo la centrifugazione.
2. E' necessario pre-concentrare i campioni liquidi di volume superiore a 10 ml prima di una eventuale decontaminazione.
3. Lavare i tamponi con una soluzione sterile di cloruro di sodio. L'acqua di lavaggio sarà trattata come un materiale da analizzare.
4. I tessuti vanno omogeneizzati, tramite triturazione con sabbia sterile in un mortaio o mediante l'uso di un omogeneizzatore.
5. Liquefare le feci con una soluzione sterile di cloruro di sodio in proporzione di 1:5 e decontaminare al massimo per 25 minuti.

PROCEDURA DI PREPARAZIONE

Soluzione di N-Acetil-L-Cisteina/NaOH

Versare il contenuto di un flacone di Reagente A nel flacone di Reagente B e agitarlo fino a completa dissoluzione. La soluzione così preparata è instabile e dovrebbe essere consumata entro un giorno: la soluzione deve essere conservata a 2-8°C e la quantità è sufficiente per trattare 10 campioni.

Soluzione Tampone Fosfato

Aggiungere, in asepsi, ad una fiala di Reagente C 5 ml di acqua distillata sterile. Agitare fino a completa dissoluzione ed aggiungere asepticamente a 295 ml di acqua distillata sterile. Agitare bene. La soluzione tampone così ottenuta ha un valore di pH pari a 6.8 (controllare il pH della soluzione ed eventualmente aggiustarlo a 6.8 ± 0.1) ed è stabile parecchie settimane, se conservata a 2-8°C. Una volta preparato, si raccomanda di sterilizzare il tampone fosfato a 121°C per 20 minuti o di filtrarlo con filtro 0.2 micron, prima dell'uso.

PROCEDURA DEL TEST

1. Inserire fino a 10 ml di materiale da analizzare in una provetta monouso sterile da centrifuga, con una capacità da 30 a 50 ml.
2. Aggiungere un ugual volume della Soluzione di N-Acetil-L-Cisteina/NaOH precedentemente preparata e chiudere saldamente la provetta e miscelare per 20 minuti in un agitatore da laboratorio.
3. Riempire quindi la provetta fino a 1 cm sotto il bordo con la Soluzione Tampone Fosfato precedentemente preparata. Si possono aggiungere 1-2 gocce di Tween 80 al 5%.
4. Centrifugare ad almeno 3000 giri per 20 minuti.
5. Eliminare il supernatante e risospendere il sedimento con 1 ml di soluzione sterile di cloruro di sodio. A scelta si può anche usare 1 ml di Soluzione Tampone Fosfato.
6. Trasferire la sospensione sui terreni di coltura.

PRECAUZIONI

Il prodotto DECONTAM-KIT contiene idrossido di sodio alla concentrazione del 2% nella configurazione del Reagente B. A tale concentrazione, il prodotto è classificabile come pericoloso ai sensi della legislazione vigente; per il suo impiego si consiglia di consultare la scheda di sicurezza.

DECONTAM-KIT è un dispositivo monouso, da usare solo per uso diagnostico *in vitro*, è destinato ad un ambito professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.

CONSERVAZIONE

Conservare DECONTAM-KIT a 10-25°C nelle loro confezioni originali. Evitare di conservare vicino a fonti di calore ed evitare eccessive variazioni di temperatura. In queste condizioni il DECONTAM-KIT è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni di deterioramento.

ELIMINAZIONE DEL MATERIALE USATO

Dopo l'utilizzazione DECONTAM-KIT ed il materiale venuto a contatto con il campione devono essere decontaminati e smaltiti in accordo con le tecniche in uso in laboratorio per la decontaminazione e lo smaltimento di materiale potenzialmente infetto.

BIBLIOGRAFIA

1. DIN 58934-3, 1996-12. *Tuberkulosedagnostik*, Teil 3: Kulturelle Methoden zum Nachweis von Mykobakterien.
2. Kubica G.P., DYE W.E., Cohn M.L. ed al. *Sputum digestion and decontamination with N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide for culture of mycobacteria*. Amer.Rev.Resp.Dis., 1963, **87**, 775.
3. Kubica G.P., Kaufmann A.J., DYE W.E. *Comments on the use of the new mucolytic agent N-acetyl-L-cysteine, as a sputum digestant for the isolation of mycobacteria*. Amer.Rev.Resp.Dis. 1964, **89**, 284-288

PRESENTAZIONE

| Prodotto | Ref. | Test |
|--------------|-------|---------|
| DECONTAM-KIT | 80060 | 90 test |

TABELLA DEI SIMBOLI

| | | | | | | | | | |
|--|--------------------|---|-------------------------------------|---|------------------------------------|---|--|---|------------------------------|
|  LOT | Numero di lotto |  IVD | Per uso diagnostico <i>in vitro</i> |  | Fabbricante |  | Data di scadenza |  | Fragile, maneggiare con cura |
|  REF | Numero di catalogo |  | Limiti di temperatura |  | Contenuto sufficiente per <n> test |  | Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso |  | Non riutilizzare |



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



F02813
Rev.3.1 / 16.02.2016

Kit for pretreating and decontaminating the samples that are to be analyzed for mycobacteria research.

DESCRIPTION

DECONTAM-KIT is a kit for pretreating and decontaminating the samples that are to be analyzed for mycobacteria research. The configuration is available in the 90-test version.

CONTENT OF THE PACKAGES

Each package contains 9 bottles of Reagent A, 9 100-ml bottles of Reagent B, 9 bottles of Reagent C and 1 instructions sheet.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The material to be analyzed often contains associated bacterial flora that can cover the culture medium in such a way as to hide or inhibit the growth of any mycobacteria that may be present. For most samples, it is also useful to fluidify the material to be analysed. Pre-treatment must in fact make the sample fluid and homogenous and enable elimination of the associated microbial flora to obtain a better concentration of any mycobacteria that may be present.

Adding Tween 80 before centrifugation encourages the subsequent separation by centrifugation of the mycobacteria, whose density will remain below 1.0.

The method that uses N-acetyl-L-cysteine/NaOH is based on:

1. the decontaminating capacities of sodium hydroxide, which acts as a mucolytic agent;
2. the centrifugation process that facilitates liquefaction;
3. the capacity of N-Acetyl-L-cysteine to fluidify sputum and to enable treatment with low concentrations of NaOH, thereby increasing the capacity to recover the mycobacteria.

COMPOSITION

| | | | | |
|-----------|-------------------------------|---------|--------------------------|---------|
| Reagent A | Sodium citrate | 1.45 g | N-acetyl-L-cysteine | 0.5 g |
| Reagent B | Sodium hydroxide | 2.0 g | Deionized water | 100 ml |
| Reagent C | Monobasic potassium phosphate | 1.452 g | Dibasic sodium phosphate | 1.659 g |

COLLECTION OF SAMPLES

1. The samples in which bacterial flora is not normally present (such as cerebrospinal fluid, blood or other matter obtained in sterile conditions) do not need to be decontaminated and can be sown directly onto the culture medium after centrifugation.
2. The liquid samples with a volume greater than 10 ml must be pre-concentrated before any decontamination.
3. Wash the buffers with a sterile sodium chloride solution. The washing water will be treated as a material to be analysed.
4. The textiles must be homogenised by grinding with sterile sand in a mortar or by using a homogenizer.
5. Liquefy the faeces with a sterile sodium chloride solution in the proportion 1:5 and decontaminate for no more than 25 minutes.

PREPARATION PROCEDURE

N-acetyl-L-cysteine/NaOH Solution

Pour the contents of a bottle of Reagent A into the bottle of Reagent B and shake until contents have dissolved completely. The solution that is thus made up is unstable and should be used within a day. The solution must be stored at 2-8°C and the quantity is sufficient for treating 10 samples.

Phosphate Buffer Solution

In sterile conditions, add 5 ml of sterile distilled water to a bottle of Reagent C 5. Shake until complete dissolution and add aseptically to 295 ml of sterile distilled water. Shake well. The buffer solution thereby obtained has a pH value of 6.8 (check the pH of the solution and if necessary adjust it to 6.8 ± 0.1) and remains stable for several weeks if stored at 2-8°C. Once it is prepared, sterilise the phosphate buffer at 121 °C for 20 minutes or filter it with a 0.2 micron filter before use.

TEST PROCEDURE

1. Insert up to 10 ml of the material to be analysed into a disposable centrifugal test tube with capacity from 30 to 50 ml.
2. Add an equal volume of the previously made up N-acetyl-L-cysteine/NaOH solution, close the test tube tightly and mix for 20 minutes in a laboratory stirrer.
3. Then fill the test tube up to 1 cm below the edge with the previously prepared Phosphate Buffer Solution. 1 to 2 drops of 5% Tween 80 Solution can be added.
4. Centrifuge at a minimum speed of 3000 rpm for 20 minutes.
5. Eliminate the supernatant and resuspend the sediment with 1 ml of sterile sodium chloride solution. If desired, 1 ml of Phosphate Buffer Solution can also be used.
6. Transfer the suspension to culture media.

PRECAUTIONS

The DECONTAM-KIT product contains 2% sodium hydroxide in the Reagent B configuration. At this concentration, the product is classed as hazardous by current legislation: before using it, consult the safety data sheet.

DECONTAM-KIT is a disposable device only for diagnostic *in vitro* professional use. It must be used in the laboratory by properly trained operators using approved aseptic and safety methods for pathogenic agents.

STORAGE

Store DECONTAM-KIT at 10-25°C in their original packaging. Do not store near sources of heat and do not expose to excessive temperature variations. In such conditions, DECONTAM-KIT can be used until the expiry date shown on the label. Do not use after this date. Dispose of if they show signs of deterioration.

DISPOSAL OF USED MATERIAL

After use, DECONTAM-KIT and the material that comes into contact with the sample must be decontaminated and disposed of in accordance with current laboratory techniques for the decontamination and disposal of potentially infected material.

BIBLIOGRAPHY

1. DIN 58934-3, 1996-12. Tuberkulosedagnostik, Teil 3: Kulturelle Methoden zum Nachweis von Mykobakterien.
2. Kubica G.P., DYE W.E., Cohn M.L. ed al. Sputum digestion and decontamination with N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide for culture of mycobacteria. *Amer.Rev.Resp.Dis.*, 1963, 87, 775.
3. Kubica G.P., Kaufmann A.J., DYE W.E. Comments on the use of the new mucolytic agent N-acetyl-L-cysteine, as a sputum digestant for the isolation of mycobacteria. *Amer.Rev.Resp.Dis.* 1964, 89, 284-288

PRESENTATION

| Product | Ref. | Test |
|--------------|-------|----------|
| DECONTAM-KIT | 80060 | 90 tests |

TABLE OF SYMBOLS

| | | | | |
|-----------------------------|--|---|---|---|
| LOT Batch code | IVD <i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device |  Manufacturer |  Use by |  Fragile, handle with care |
| REF Catalogue number |  Temperature limitation |  Contains Sufficient for <n> tests |  Caution, consult accompanying documents |  Do not reuse |



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



F02813
Rev.3.1 / 16.02.2016