



«УТВЕРЖДАЮ»

**Генеральный директор
ООО «ФармИнформ»**



Макарова О.Е.

2011г.

**РУКОВОДСТВО ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ
ИЗДЕЛИЯ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ**

Реагенты in vitro для анализатора бактериологического Bactec MGIT 960 производства Бектон Дикинсон энд Компани, США (Becton Dickinson and Company), 7 Loveton Circle, Sparks, Maryland 21152, USA

2011



BACTEC MGIT 960 PZA Kit

Для исследования чувствительности
Mycobacterium tuberculosis к
противомикобактериальным препаратам



L005486JAA
2009/11
Русский

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор BACTEC MGIT 960 PZA Kit применяется в методике качественного экспресс-анализа для тестирования чувствительности *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных из культуры, к пиразинамиду (PZA). Набор BACTEC MGIT 960 PZA Kit используется с системой BACTEC MGIT System.

КРАТКИЙ ОБЗОР И ОПИСАНИЕ

Исследование чувствительности к лекарственным препаратам имеет большое значение для правильного лечения пациентов. Больных туберкулезом. Для лечения туберкулеза обычно назначается схема приема нескольких лекарственных препаратов, включающая противомикобактериальный препарат пиразинамид. Важно, чтобы назначенные противомикобактериальные лекарственные препараты имели достаточно высокую активность в отношении *Mycobacterium tuberculosis*, т. е. необходима чувствительность изолята к лекарственному препарату.

В настоящее время серьезную проблему с точки зрения здравоохранения представляет штамм *Mycobacterium tuberculosis* со множественной лекарственной устойчивостью (ТБ МЛУ)¹. Устойчивость к любому из основных лекарственных препаратов, включая пиразинамид, делает лечение более сложным и дорогостоящим. Экспресс-определение этих устойчивых изолятов играет решающую роль в эффективном лечении пациентов.

Для исследования чувствительности к противомикобактериальным препаратам широко используются два метода. В первом методе, известном как метод пропорции², используется агар Миддлбука и Кона 7H10. Сравнивается количество колоний в среде с лекарственным препаратом и без него. Тестирование чувствительности к пиразинамиду требует некоторых изменений общих методов, поскольку препарат активен только *in vitro* при низких значениях pH². Модификация метода пропорции заключается в использовании агара 7H10 с pH 5,5 и концентрации лекарственного препарата 25 – 50 мкг/мл². Ограничение метода состоит в том, что при pH 5,5 для многих изолятов *M. tuberculosis* наблюдается отсутствие роста или недостаточный рост. Методы на основе агара, такие как метод пропорции на агаре, оказались неудовлетворительными для тестирования чувствительности к пиразинамиду (PZA), поскольку для многих изолятов рост не наблюдается при подкислении агара для теста на чувствительность к PZA.

Второй метод (метод радиометрического определения чувствительности BACTEC 460TB)³ основан на выделении радиоактивного диоксида углерода, меченного изотопом ¹⁴C, растущими микобактериями, что обнаруживается за счет повышения показателя роста в системе. Модификация метода определения чувствительности BACTEC 460TB заключается в использовании модифицированной среды 7H12 для радиометрических измерений, среды BACTEC PZA Test Medium с пониженной кислотностью (pH 6,0)³. При таком значении pH активность PZA в отношении микобактерий может быть определена без ингибирования роста большинства изолятов *M. tuberculosis*. В теста чувствительности BACTEC 460TB PZA используется концентрация лекарственного препарата пиразинамида 100 мкг/мл. Тестирование чувствительности в системе BACTEC 460TB System оказалось удовлетворительным и в настоящее время эта методика рассматривается в качестве эталонного метода тестирования чувствительности к PZA. Институт клинических и лабораторных стандартов США (CLSI, ранее NCCLS) рекомендует метод BACTEC 460TB для тестирования чувствительности к PZA².

Прибор BACTEC MGIT в сочетании с набором BACTEC MGIT 960 PZA представляет собой метод определения противомикобактериальной чувствительности к PZA без использования радиометрических измерений. Набор BACTEC MGIT 960 PZA Kit позволяет выполнять тестирование чувствительности при концентрации пиразинамида 100 мкг/мл. Эта концентрация соответствует концентрации, используемой в системе BACTEC 460TB.

ПРИНЦИПЫ МЕТОДИКИ

Среда BACTEC MGIT 960 PZA Medium представляет собой пробирку с модифицированным бульоном Миддлбука 7H9, который поддерживает рост и обнаружение микобактерий при пониженном значении pH, равном 5,9. В силикон на дне пробирки со средой BACTEC MGIT 960 PZA Medium 16 x 100 мм с закругленным дном введен флуоресцентный компонент. Флуоресцентный компонент чувствителен к присутствию кислорода, растворенного в бульоне. Исходная концентрация растворенного кислорода гасит излучение этого вещества, и обнаруживается лишь небольшая флуоресценция. В дальнейшем активно растущие и дышащие микроорганизмы потребляют кислород, что позволяет наблюдать флуоресценцию вещества.

Набор BACTEC MGIT 960 PZA Kit представляет собой качественный тест, выполняемый в течение 4 – 21 дней. Тест основан на сравнении роста изолята *M. tuberculosis* в пробирке с лекарственным препаратом и в пробирке без лекарственного препарата (контроль роста, КР). Прибор BACTEC MGIT контролирует пробирки, обнаруживая увеличение флуоресценции. Анализ и сравнение флуоресценции в пробирке, которая содержит лекарственный препарат, и в пробирке, предназначенной для контроля роста, используются прибором для определения чувствительности.

Прибор BACTEC MGIT автоматически интерпретирует результаты определения и фиксирует результат «чувствительный» или «устойчивый».

РЕАГЕНТЫ

Пробирка со средой BACTEC MGIT 960 PZA Medium содержит 110 мл флуоресцентного индикатора и 7 мл бульона PZA. Индикатор содержит трис(4,7-дифенил-1,10-фенантропин)рутений хлорид пентагидрат в силиконовой основе. Пробирки закрыты полипропиленовыми крышками. Значение pH доведено до 5,9.

Приблизительная рецептура* на пир очищенной воды:

Модифицированный бульон Миддлбука 7H9 5,9 г

Казеинфосфат 1,25 г

Набор BACTEC MGIT 960 PZA Kit содержит два флакона с лиофилизированным пиразинамидом и шесть флаконов с добавкой PZA.

Приблизительная рецептура* на флакон лиофилизированного лекарственного препарата: Пиразинамид 20 000 мкг
Добавка BACTEC MGIT 960 PZA Supplement содержит 15 мл обогащающей добавки.

Приблизительная рецептура* на литр очищенной воды:

Альбумин бычьей сыворотки	50,0 г	Каталаза	0,03 г
Декстроза	20,0 г	Олеиновая кислота	0,1 г
Полиоксэтиленсукрат (ПОЭС)	1,1 г		

*При необходимости изменяется или дополняется для соответствия критериям эффективности.

Хранение и восстановление реагентов:

Пробирки со средой BBL MGIT 960 PZA Medium: после получения храните при температуре 2 – 25 °С. НЕ ЗАМОРАЖИВАЙТЕ. Бульон должен быть прозрачным и бесцветным. Не используйте бульон, если он мутный. Сведите к минимуму воздействие света. Пробирки, хранившиеся перед использованием в соответствии с маркировкой, можно засевать до даты окончания срока годности.

Флаконы с лекарственными препаратами BACTEC MGIT 960 PZA: после получения храните флаконы с лиофилизированными препаратами при температуре 2 – 8 °С. После восстановления раствор противомикробного препарата можно замораживать и хранить при температуре -20 °С или ниже до 6 месяцев, но не дольше исходного срока годности. После размораживания используйте немедленно. Утилизируйте неиспользованные части.

Добавка BACTEC MGIT 960 PZA Supplement: после получения храните в темноте при температуре 2 – 8 °С. Избегайте замораживания или перегрева. Вскрывайте и используйте до окончания срока годности. Сведите к минимуму воздействие света.

Инструкции по применению:

Восстановите каждый флакон BACTEC MGIT 960 PZA с лиофилизированным лекарственным препаратом путем добавления 2,5 мл стерильной дистиллированной или деионизированной воды для приготовления исходного раствора с концентрацией 8000 мкг/мл.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ: Для диагностического использования *in vitro*.

ТЕСТОВЫЙ ОБРАЗЕЦ ПОТЕНЦИАЛЬНО ИНФИЦИРОВАН: В клинических образцах могут присутствовать патогенные микроорганизмы, в том числе вирус гепатита и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). При работе с любыми образцами, загрязненными кровью или другими биологическими жидкостями, следует соблюдать стандартные меры предосторожности²⁻⁴ и инструкции учреждения.

При работе с *M. tuberculosis*, выращенными в культуре, необходимо применять меры биологической безопасности 3 уровня, изолирующее оборудование и средства биологической защиты.

Прочтите и выполняйте инструкции на листках-вкладышах всех используемых продуктов, включая пробирку BBL MGIT 7 mL Mycobacteria Growth Indicator Tube.

Перед использованием проверьте пробирки и флаконы на наличие признаков загрязнения или повреждения. Все пробирки с подозрительными внешними признаками необходимо утилизировать. Пробирки, подвергшиеся падению, необходимо тщательно осмотреть. При наличии видимых повреждений пробирку следует утилизировать. Если пробирка разбилась, выполните следующие действия: 1) закройте отсеки прибора; 2) выключите прибор; 3) немедленно освободите помещение; 4) следуйте рекомендациям учреждения или Центра по контролю и профилактике заболеваний США (CDC). При утечке из засеянной пробирки или ее повреждении возможно образование аэрозоля, содержащего микобактерии, поэтому необходимо обращаться с пробирками крайне осторожно.

Перед утилизацией выполняйте автоклавирование всех засеянных пробирок MGIT.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА

Все описанные ниже препараты должны быть приготовлены на основе чистых культур *M. tuberculosis*. Лаборатория должна подтвердить, что тестируемый изолят представляет собой чистую культуру *M. tuberculosis*, с использованием надлежащих методов идентификации.

Посевной материал может быть приготовлен из плотной среды или из пробирки BACTEC MGIT вместимостью 7 мл с положительным результатом теста. Кроме того, культуры, выращенные в жидкой или плотной среде, могут использоваться для приготовления посевной пробирки MGIT, которая затем может использоваться для приготовления посевного материала. Описание всех вариантов приведено ниже.

Приготовление посевного материала из плотной среды:

ПРИМЕЧАНИЕ: Для получения требуемой концентрации микроорганизмов для тестирования чувствительности важно соблюдать приведенные ниже указания по приготовлению посевного материала.

1. Добавьте 4 мл бульона Миддлбрука 7H9 BBL (или бульона BBL MGIT) в стерильную пробирку 16,5 x 128 мм с крышкой, содержащую 6 – 10 стеклянных шариков.
2. Соберите стерильной петлей как можно больше колоний с продолжительностью роста не более четырнадцати дней, стараясь не собирать плотную среду. Растворите колонии в бульоне Миддлбрука 7H9.
3. Перемешайте суспензию в вихре в течение 2 – 3 минут, чтобы разрушить крупные хлопья. Мутность суспензии должна быть выше 1,0 по стандарту Макфарланда.
4. Дайте суспензии отстояться в течение 20 минут.
5. Слейте надосадочную жидкость в другую стерильную пробирку 16,5 x 128 мм с крышкой (не переливая осадок) и дайте ей отстояться еще 15 минут.
6. Слейте надосадочную жидкость (она должна быть однородной, без хлопьев) в третью стерильную пробирку 16,5 x 128 мм. **ПРИМЕЧАНИЕ.** Мутность суспензии микроорганизмов на этой стадии должна превышать 0,5 по стандарту Макфарланда.
7. Установите мутность суспензии 0,5 по стандарту Макфарланда путем визуального сравнения со стандартной мутности Макфарланда 0,5. Не устанавливайте мутность ниже 0,5 по стандарту Макфарланда.
8. Разбавьте 1 мл суспензии с мутностью 0,5 по стандарту Макфарланда 4 мл стерильного физиологического раствора (разбавление 1:5). Используйте полученную суспензию для посева AST и перейдите к выполнению методики посева для тестирования чувствительности BACTEC MGIT 960 PZA.

Приготовление посевного материала из пробирки BACTEC MGIT вместимостью 7 мл с положительным результатом теста:

1. Первый день определения положительного результата прибором для пробирки BACTEC MGIT считается днем 0.
2. Для приготовления посевного материала для тестирования следует использовать пробирку MGIT вместимостью 7 мл начиная со следующего дня после получения положительного результата на приборе BACTEC MGIT (день 1) и до пятого дня (день 5) после получения положительного результата на приборе включительно. Содержимое пробирки с положительным результатом после пяти дней следует пересевать в свежую пробирку MGIT вместимостью 7 мл, содержащую добавку (Growth Supplement) BACTEC MGIT, тестировать эту пробирку на приборе BACTEC MGIT до положительного результата и использовать в течение от одного до пяти дней после получения положительного результата. См. раздел «Приготовление посевной пробирки MGIT из жидкой среды».
3. Если пробирка используется в день 1 или день 2 после получения положительного результата, разбавление не требуется. Используйте полученную суспензию для посева AST и перейдите к выполнению методики посева для тестирования чувствительности BACTEC MGIT 960 PZA.
4. При использовании пробирки на 3, 4 или 5 день после получения положительного результата разбавьте 1 мл бульона с положительным результатом тестирования 4 мл стерильного физиологического раствора (разбавление 1:5). Тщательно перемешайте содержимое пробирки. Используйте полученную суспензию для посева AST и перейдите к выполнению методики посева для тестирования чувствительности BACTEC MGIT 960 PZA.

Приготовление посевной пробирки MGIT из жидкой среды

1. Перемешайте содержимое пробирки переворачиванием или на вортексе.
2. Приготовьте разбавление 1:100, добавив 0,1 мл культуры к 10 мл бульона Миддлбрука 7H9 BBL или бульона BBL MGIT. Тщательно перемешайте.
3. Добавьте 0,5 мл этой суспензии в пробирку MGIT вместимостью 7 мл с добавлением 0,8 мл добавки (Growth Supplement) BACTEC MGIT.
4. Плотно закройте пробирку и аккуратно перемешайте, перевернув пробирку 2–3 раза.
5. Установите пробирку в прибор BACTEC MGIT и выполняйте тестирование до получения положительного результата.

ПРИМЕЧАНИЕ: Для использования в качестве посевного материала AST время до получения положительного результата должно быть не менее 4 дней. Если положительный результат наблюдается ранее, чем через 4 дня, вернитесь к шагу 1 и приготовьте новую посевную пробирку.

6. Эту пробирку можно использовать в течение от одного до пяти дней после получения положительного результата. Перейдите к разделу «Приготовление посевного материала из пробирки BACTEC MGIT вместимостью 7 мл с положительным результатом теста» выше.

Приготовление посевной пробирки MGIT из плотной среды

1. При помощи стерильной петли соберите культуру со скошенной среды и добавьте в пробирку MGIT вместимостью 7 мл, содержащую 0,8 мл добавки (Growth Supplement) BACTEC MGIT.
2. Плотно закройте пробирку и аккуратно перемешайте, перевернув пробирку 2–3 раза.
3. Установите пробирку в прибор BACTEC MGIT и выполняйте тестирование до получения положительного результата.

ПРИМЕЧАНИЕ: Для использования в качестве посевного материала AST время до получения положительного результата должно быть не менее 4 дней. Если положительный результат наблюдается ранее, чем через 4 дня, вернитесь к шагу 1 и приготовьте новую посевную пробирку.

4. Эту пробирку можно использовать в течение от одного до пяти дней после получения положительного результата. Перейдите к разделу «Приготовление посевного материала из пробирки BACTEC MGIT вместимостью 7 мл с положительным результатом теста» выше.

МЕТОДИКА

Поставляемые материалы: Набор BACTEC MGIT 960 PZA Kit, содержащий два флакона лиофилизированного препарата и шесть флаконов добавки PZA (один набор позволяет выполнить около 50 тестов).

Необходимые, но не поставляемые материалы: Для этой методики необходимы пробирки со средой BACTEC MGIT 960 PZA Medium (25 пробирок в коробке), дополнительная питательная среда, реагенты, культуры микроорганизмов для контроля качества и лабораторное оборудование.

Методика посева для тестирования чувствительности BACTEC MGIT 960 PZA:

При приготовлении набора AST PZA важно соблюдать указания по восстановлению лиофилизированного лекарственного препарата, использованию чистой культуры и разбавлению суспензий микроорганизмов в пробирке для контроля роста и в пробирке, содержащей PZA. Следует добавлять лекарственный препарат только в соответствующую пробирку MGIT с маркировкой «PZA». При подготовке набора AST PZA используйте только добавку BACTEC MGIT 960 PZA Supplement, поставляемую в наборе, и пробирки со средой BACTEC MGIT 960 PZA Medium.

1. Пометьте по две пробирки со средой BACTEC MGIT 960 PZA Medium вместимостью 7 мл для каждого тестируемого изолята. Пометьте одну пробирку «КР» (контроль роста) и одну пробирку — «PZA». Установите пробирки в правильной последовательности в держатель набора AST для двух пробирок (см. руководство пользователя прибора BACTEC MGIT).
2. Соблюдая правила асептики, добавьте по 0,8 мл добавки BACTEC MGIT 960 PZA Supplement в каждую пробирку.
3. Соблюдая правила асептики, добавьте микропипеткой 100 мкл раствора лекарственного препарата BACTEC MGIT 960 PZA с концентрацией 8000 мкг/мл в пробирку MGIT KP с соответствующей маркировкой. Не добавляйте раствор лекарственного препарата PZA в пробирку MGIT KP с соответствующей маркировкой.

Лекарственный препарат	Концентрация лекарственного препарата после восстановления*	Объем, добавляемый в пробирку MGIT для тестирования	Конечная концентрация в пробирках MGIT
MGIT PZA	8000 мкг/мл	100 мкл	100 мкг/мл*

*Для получения указанных концентраций пипразинамид (PZA) должен быть восстановлен путем добавления 2,5 мл стерильной деионизированной воды.

4. Приготовления и посев в пробирку для контроля роста. Соблюдая правила асептики, перенесите пипеткой 0,5 мл суспензии посеваемого материала AST (см. раздел «ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА») в 4,5 мл стерильного физиологического раствора, чтобы приготовить суспензию для контроля роста с разбавлением 1:10. Тщательно перемешайте суспензию для контроля роста. Выполните посев 0,5 мл суспензии для контроля роста 1:10 в пробирку MGIT с маркировкой «KP».
ПРИМЕЧАНИЕ: Важно использовать правильно приготовленное разбавление 1:10 для пробирки «KP», чтобы получить точные результаты AST и избежать ошибок при тестировании набора AST PZA.
5. Посев в пробирках с лекарственными препаратами. Соблюдая правила асептики, перенесите пипеткой 0,5 мл посеваемого материала AST (см. раздел «ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА») в пробирку MGIT с маркировкой «PZA».
6. Плотно закройте пробирки. Тщательно перемешайте содержимое пробирок аккуратным переворачиванием 3 – 4 раза.
7. Введите набор PZA в прибор BACTEC MGIT, используя функцию ввода набора AST (см. руководство пользователя прибора BACTEC MGIT). Убедитесь в том, что пробирка для контроля роста находится в крайнем левом положении. Выберите PZA в качестве лекарственного препарата в определении держателя AST для двух пробирок при вводе набора AST.
8. Засейте шприцами 0,1 мл суспензии микроорганизмов в чашке с соевым агаром Trypticase с 5 % овечьей крови (TSA II). Поместите в закрытый пластиковый пакет. Выдерживайте при температуре 35 – 37 °C.
9. Через 48 часов проверьте чашку агара с кровью на бактериальное загрязнение. Если в чашке агара с кровью нет признаков роста, выполняйте тестирование PZA. Если в чашке агара с кровью наблюдается рост, утилизируйте набор PZA (см. руководство пользователя прибора BACTEC MGIT) и повторите тестирование с чистой культурой *Mycobacterium tuberculosis*.

Контроль качества: При получении новой поставки или новой серии флаконов набора BACTEC MGIT 960 PZA Kit или среды BACTEC MGIT 960 PZA Medium рекомендуется выполнить тестирование с контрольным микроорганизмом, указанным ниже. Контрольный микроорганизм должен представлять собой чистую культуру, а культура должна быть приготовлена в соответствии с указаниями в разделе «ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА».

Набор AST для контроля качества должен быть приготовлен в соответствии с указаниями в разделе «Методика посева для тестирования чувствительности BACTEC MGIT 960 PZA». При приготовлении набора AST для контроля качества важно соблюдать указания по восстановлению лиофилизированного лекарственного препарата, использованию чистой культуры и разбавлению суспензий микроорганизмов для контроля качества в пробирке для контроля роста и в пробирке, содержащей PZA. Следует добавлять лекарственный препарат только в соответствующую пробирку MGIT с маркировкой «PZA».

При выполнении тестирования чувствительности следует тестировать этот же контрольный микроорганизм в цепях контроля качества серии один раз в неделю. Если в течение 4 – 20 дней будут получены надлежащие результаты, указанные ниже, то реагенты BACTEC MGIT 960 PZA можно использовать для тестирования изолятов пациентов.

Если требуемые результаты не наблюдаются, не используйте результаты, полученные для изолятов пациентов. Повторите тестирование микроорганизмов для контроля качества и всех изолятов пациентов, для которых был получен первоначальный отрицательный результат контроля качества. Если повторный контроль качества не дает ожидаемых результатов, не используйте результаты тестирования изолятов пациентов. Не используйте продукт до консультации с местным представителем компании BD.

Штаммы	KP	MGIT PZA
<i>M. tuberculosis</i> ATCC 27294	Положительный	Чувствительный

В ходе внешней оценки набора BACTEC MGIT 960 PZA Kit среднее время до получения результата для контрольного микроорганизма составляло семь дней (от четырех до одиннадцати дней). Наиболее типичными причинами отрицательного результата контроля качества в ходе внешней оценки были чрезмерный посев в наборах PZA и загрязненные культуры для контроля качества.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Прибор BACTEC MGIT выполняет контроль наборов AST до определения чувствительности или устойчивости. После завершения тестирования набора прибор BACTEC MGIT выдает результаты (см. руководство пользователя прибора BACTEC MGIT). Прибор BACTEC MGIT выдает для набора AST результат «Ошибка» («X»), невозможность интерпретации определения чувствительности, в определенных условиях, которые могут повлиять на результаты теста. Условия, которые могут приводить к выдаче результата «Ошибка» («X»), описаны в раздел 7 («Поиск и устранение неисправностей») руководства пользователя прибора BACTEC MGIT.

При составлении отчета по результатам теста важно указывать метод тестирования, название лекарственного препарата и концентрацию. Для выбора надлежащей терапии и дозировок необходимо проконсультироваться со специалистом по заболеваниям легких и (или) инфекционным заболеваниям в отделении туберкулеза.

Устойчивость только к пирразинамиду нетипична, поэтому в случае неожиданного результата устойчивости следует проверить чистоту и идентификацию тестируемого изолята как *M. tuberculosis*. Рекомендации по проверке микобактериальной чистоты приведены в стандарте CLSI M24.²

ОТЧЕТ О РЕЗУЛЬТАТАХ ТЕСТА BACTEC MGIT 960 PZA

Лекарственный препарат (концентрация)	Результат системы BACTEC MGIT	Рекомендуемый отчет	Действие
PZA (100 мкг/мл)	Чувствительный	Выполнено тестирование изолята на приборе BACTEC MGIT [PZA/100 мкг/мл], результат — чувствительный.	Действие не требуется
	Устойчивый	Выполнено тестирование изолята на приборе BACTEC MGIT [PZA/100 мкг/мл], результат — устойчивый.	При наличии устойчивости изолята только к PZA необходимо подтверждение того, что тестируемый изолят является чистой культурой <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .
	Ошибка (X)	Не включать результат в отчет.	Повторить тест.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

Тест на чувствительность BACTEC MGIT 960 PZA не позволяет определить степень чувствительности тестируемого изолята. Результаты предоставляются в форме «чувствительный» или «устойчивый».

Тест на чувствительность BACTEC MGIT 960 PZA может выполняться только с помощью прибора BACTEC MGIT. Ручное считывание результатов тестирования наборов PZA невозможно.

Используйте только чистые культуры *M. tuberculosis*. Загрязненные культуры или культуры с несколькими видами микобактерий могут дать ошибочный результат, и тестировать такие культуры не следует. Не рекомендуется непосредственное тестирование клинических образцов.

Перед стандартизацией необходимо дать суспензиям из плотной среды осесть в течение указанного времени. Посевной материал, полученный на плотной среде, следует визуально сравнивать со стандартом мутности 0,5 по Макфарланду; в противном случае возможны ошибочные результаты или ошибки обработки набора AST.

Отклонение от предписанного разбавления суспензии микроорганизмов в соотношении 1:5 при посеве в пробирках, содержащих лекарственный препарат, может приводить к ошибочным результатам.

Отклонение от предписанного разбавления суспензии микроорганизмов в соотношении 1:10 для посева в пробирке контроля роста может приводить к ошибочным результатам или к ошибке обработки набора AST.

Отклонение от предписанного объема стерильной дистиллированной или деионизированной воды при восстановлении лекарственного препарата PZA может приводить к ошибочным результатам.

Тщательное перемешивание содержимого засеянных пробирок имеет большое значение. Недостаточное перемешивание содержимого пробирок может привести к ложным результатам «устойчивый».

Неправильная последовательность установки пробирок набора AST в держателе набора AST может приводить к ошибочным результатам. Использование несоответствующего определения лекарственных препаратов для держателя набора может приводить к недействительным или ошибочным результатам.

Неправильная загрузка набора AST в прибор приведет к анонимному состоянию, которое должно быть устранено в течение восьми часов. Если это состояние не будет устранено в течение восьми часов, набор AST следует утилизировать и приготовить новый набор.

Отсутствие добавки BACTEC MGIT 960 PZA Supplement в наборе AST PZA может приводить к ошибочным результатам. НЕ добавляйте добавку BACTEC MGIT 960 SIRE Supplement или добавку BACTEC MGIT Growth Supplement к набору AST PZA.

Использование в наборе AST PZA среды, отличной от BACTEC MGIT 960 PZA Medium, может привести к ошибочным результатам. НЕ используйте пробирки с индикатором роста BBL MGIT 7 ml. Mycobacteria Growth Indicator Tubes вместо среды BACTEC MGIT 960 PZA Medium.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Было проведено тестирование в общей сложности 118 клинических изолятов *M. tuberculosis* с использованием теста чувствительности BACTEC MGIT 960 PZA в четырех географически распределенных учреждениях. Тестирование включало как свежие клинические изоляты, так и изоляты из субкультур, полученные из жидких и плотных питательных сред. В общей сложности было выполнено 228 тестов чувствительности к PZA (с изолятами из жидких и плотных сред).

В ходе внешней оценки набора BACTEC MGIT 960 PZA Кй для девяти тестов PZA клинических изолятов потребовалось повторное тестирование в связи с загрязнением (шесть изолятов) и чрезмерным посевом и ошибками выполнения методики (три изолята).

Общее среднее время получения результата тестов на чувствительность BACTEC MGIT 960 PZA составляет семь дней при диапазоне от четырех до семнадцати дней. Данные представлены на рис. 1 (в конце вкладыша).

ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Аналитические исследования

Диапазоны для посевов AST из жидкой и плотной среды:

Жидкая среда. Рекомендованная методика приготовления набора PZA из пробирки MGIT вместимостью 7 мл с положительным результатом предписывает непосредственное использование посевного материала в день 1 и день 2 после получения положительного результата и использование разбавленного (1:5) посевного материала в дни 3 – 5 после получения положительного результата. Внутренние исследования показывают, что посевной материал, приготовленный из пробирки MGIT вместимостью 7 мл в дни 1 – 5 после получения положительного результата, имеет концентрацию в диапазоне от $2,0 \times 10^4$ до $7,5 \times 10^5$ КОЕ/мл.

Плотная среда. Рекомендованная методика приготовления набора PZA из культуры, полученной на плотной среде (до 14 дней после появления видимого роста) предписывает использование разбавления суспензии микроорганизмов в соотношении 1:5, что эквивалентно мутности 0,5 по стандарту Макфарланда. Внутренние исследования

показывают, что посеянный материал, приготовленный из культуры на плотной среде, имеет концентрацию в диапазоне от $2,1 \times 10^3$ до $3,9 \times 10^4$ КОЕ/мл.

Воспроизводимость для партий:

Для оценки воспроизводимости для партий использовались двадцать пять штаммов *M. tuberculosis*, среди которых было три штамма ATCC. Тестирование каждого штамма выполнялось трижды с использованием теста чувствительности BASTEC MGIT 960 PZA. Каждая реплика представляла собой отдельные условия испытаний с использованием различных партий лекарственного препарата PZA, добавки PZA и среды PZA (по три партии каждого компонента).

Полученные результаты сравнивали с ожидаемыми. Общая воспроизводимость теста чувствительности BASTEC MGIT 960 PZA составляет 96,8 %.

Тестирование экспериментальной панели CDC:

Для оценки эффективности теста чувствительности BASTEC MGIT 960 PZA использовалась панель экспериментальных штаммов, полученных в Центрах по контролю и профилактике заболеваний (CDC), г. Атланта, штат Джорджия, США. Панель состояла из девяти штаммов *M. tuberculosis* с известной чувствительностью, определенной методом BASTEC 460TB. Тестирование панели выполнялось трижды с использованием теста чувствительности BASTEC MGIT 960 PZA. Результаты теста BASTEC MGIT 960 PZA сравнивали с ожидаемыми результатами для панели CDC. Общее согласование с ожидаемыми результатами для панели CDC в тесте чувствительности BASTEC MGIT 960 PZA составило 98,7 %.

Клиническая оценка

Оценка теста чувствительности BASTEC MGIT 960 PZA выполнялась в четырех географически распределенных клинических учреждениях, в числе которых были региональные исследовательские центры и лаборатории университетских клиник (в том числе два учреждения за пределами США). Результаты теста чувствительности BASTEC MGIT 960 PZA сравнивали с результатами теста чувствительности BASTEC 460TB PZA.

Тестирование воспроизводимости:

Оценка воспроизводимости теста чувствительности BASTEC MGIT 960 PZA выполнялась в клинических учреждениях с использованием панели из пяти штаммов с известной чувствительностью. Результаты теста BASTEC MGIT 960 PZA сравнивали с ожидаемыми результатами. Общая воспроизводимость теста чувствительности BASTEC MGIT 960 PZA составляет 94 %.

Тестирование экспериментальной панели CDC:

Оценка эффективности теста чувствительности BASTEC MGIT 960 PZA выполнялась в каждом из четырех клинических учреждений с использованием панели экспериментальных штаммов, полученных в Центрах по контролю и профилактике заболеваний (CDC), г. Атланта, штат Джорджия, США. Панель состояла из девяти штаммов *M. tuberculosis* с известной чувствительностью, определенной методом BASTEC 460TB. Из тридцати шести результатов тестов чувствительности BASTEC MGIT 960 PZA в тридцати трех случаях наблюдалось совпадение результатов с ожидаемыми результатами для панели CDC. Рассчитанная степень согласования с ожидаемыми результатами для панели CDC в тесте чувствительности BASTEC MGIT 960 PZA составила 91,7 %.

Тестирование клинических изолятов:

Было проведено тестирование в общей сложности 118 клинических изолятов *M. tuberculosis* с использованием теста на чувствительность BASTEC MGIT 960 PZA и теста на чувствительность BASTEC 460TB PZA. Тестирование включало как свежие клинические изоляты, так и изоляты из субкультур, полученные из жидких и плотных питательных сред. Было получено в общей сложности 228 результатов тестирования.

В таблице 1 представлены результаты тестирования клинических изолятов на чувствительность к лекарственному препарату PZA при концентрации 100 мкг/мл, полученных из жидких исходных культур, плотных исходных культур, а также общие результаты для двух источников исходных культур.

Таблица 1: Результаты тестирования клинических изолятов. Сравнение теста чувствительности BASTEC MGIT 960 PZA и теста чувствительности BASTEC 460TB.

		Система BASTEC 460TB		Система BASTEC MGIT 960			
		Ожидаемые результаты PZA		Чувствительные		Устойчивые	
Источник	Число тестов	S	R	Число совпадающих	Совпадение категорий, % (доверительный интервал 95 %)	Число совпадающих	Совпадение категорий, % (доверительный интервал 95 %)
ЖИДКАЯ СРЕДА	112	89	23	88	98,9 % (93,9 – 100)	22	95,7 % (78,1 – 98,9)
ПЛОТНАЯ СРЕДА	113*	90	23	88	97,8 % (92,2 – 99,7)	20	87,0 % (86,4 – 97,2)
ИТОГО	225*	179	46	176	98,3 % (95,2 – 99,7)	42	91,3 % (79,2 – 97,5)

*Три пограничных результата теста BASTEC 460TB не включены в таблицу.

Для всех изолятов с несоответствующими результатами теста BASTEC MGIT 960 PZA было выполнено тестирование чувствительности с использованием теста BASTEC 460TB PZA в двух независимых учреждениях. Несоответствующие результаты соответствуют штаммам, для которых результаты теста BASTEC MGIT 960 PZA отличались от результатов теста BASTEC 460TB PZA. Пограничные результаты не включены в расчет эффективности набора BASTEC MGIT 960 PZA Kit.

Из четырех изолятов с несоответствующими результатами «чувствительный» к PZA (S-BACTEC MGIT 960, R-BACTEC 460TB) для одного был получен результат «чувствительный» в обоих независимых учреждениях, а для трех остальных был получен результат «устойчивый» в обоих независимых учреждениях. Из трех тестируемых изолятов с несоответствующим результатом «устойчивый» к PZA (R-BACTEC MGIT 960, S-BACTEC 460TB) для всех изолятов был получен результат «чувствительный» в обоих независимых учреждениях.

Для двух из трех изолятов с пограничными результатами теста BACTEC 460TB PZA (S-BACTEC MGIT 960, R-BACTEC 460TB) в обоих независимых учреждениях были получены результаты «чувствительный». Для одного из трех изолятов с пограничными результатами теста BACTEC 460TB PZA (R-BACTEC MGIT 960, S-BACTEC 460TB) в одном независимом учреждении был получен результат «чувствительный», в другом независимом учреждении был получен пограничный результат.

НАЛИЧИЕ

№ кат.	Описание
245128	BACTEC MGIT 960 PZA Kit, коробка с 2 флаконами лиофилизированного лекарственного препарата и 8 флаконами добавок PZA.
245115	BACTEC MGIT 960 PZA Medium, коробка с 25 пробирками.

СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Baranfang, J. 1993. Making your lab safe against multi-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*. Clin. Microbiol. Newsl. 15: 76-80.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2003. Approved Standard M24-A. Susceptibility testing of mycobacteria, nocardiae, and other aerobic actinomycetes. CLSI, Wayne, Pa.
3. Butler, W.R. and Kilburn, 1982. Improved method for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to pyrazinamide. J.Clin.Microbiol. 16:1106-1109.
4. Helfels, L.B. and Isaman, M.D. 1985. Radiometric method for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to pyrazinamide in 7H12 broth. J.Clin.Microbiol. 21:200-204.
5. BD Diagnostic Systems. BACTEC 460TB System Product and Procedure Manual.
6. Salinger, M. et al. 1989. Rapid radiometric method for pyrazinamide susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. Res. Microbiol. 140:301-309.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, PA.
8. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for Isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
9. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC) 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
10. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.

Частотное распределение времени выполнения методики РЗА

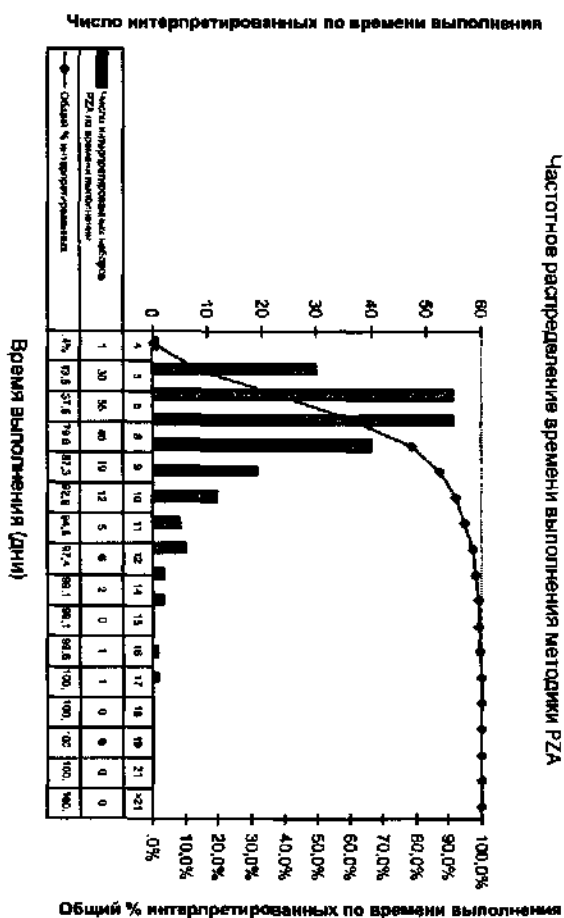
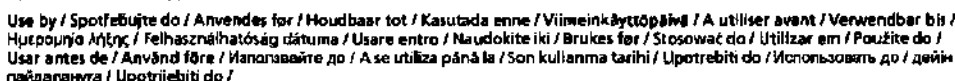
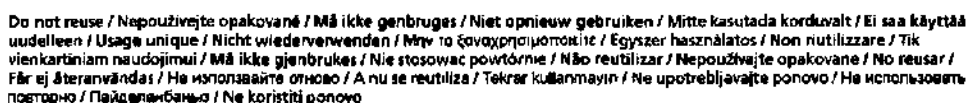
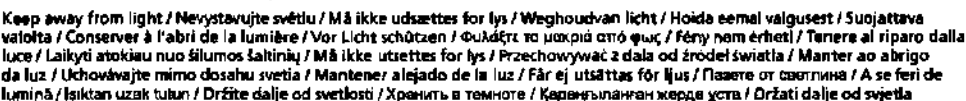
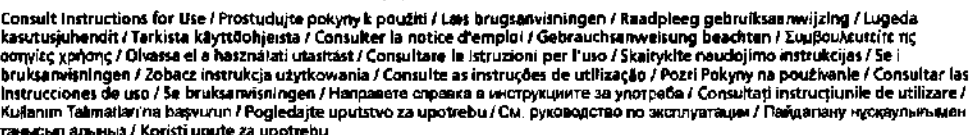
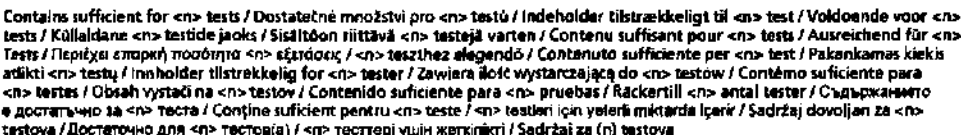
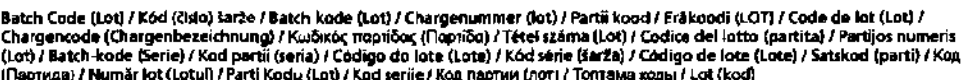
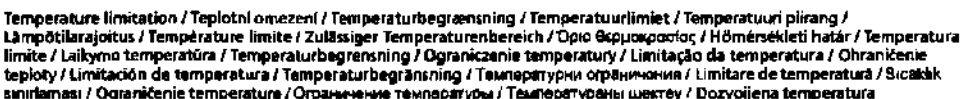
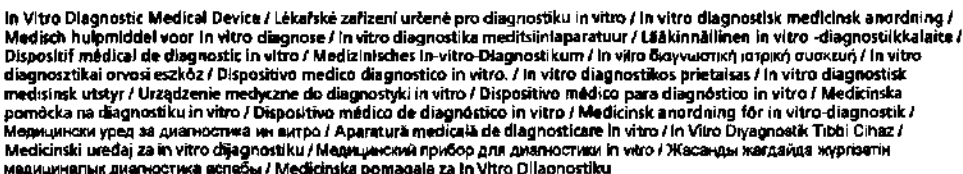
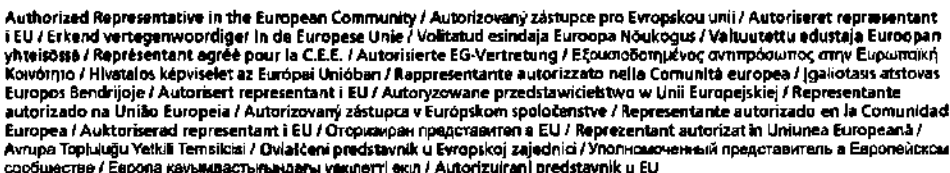
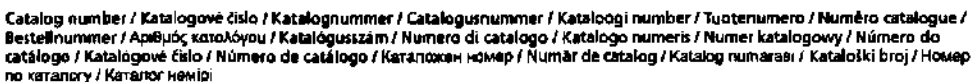


Рис. 1. Распределение времени до получения результата ВАСТЕС МКПТ 660 РЗА АСТ.



napsa-mmm-dd / uupinnu-mmm-dd /
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutten af måneden) /
 JJJ-MM-DD / JJJ-MM (MM = einde maand)
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
 VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukaudade lõppuun mennessä)
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) /
 JJJ-MM-TT / JJJ-MM (MM = Monatsende) /
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μηνός)
 ЁЁЁЁ-HH-NN / ЁЁЁЁ-HH (HH = hónap utolsó napja)
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = meserio paibaijal)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutten af måneden)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin du mois)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutet på månaden) /
 ITTT-MM-DD / ITTT-MM (MM = краен на месеца)
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii)
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = аягы соңу)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)
 ITTT-MM-DD / ITTT-MM (MM = koniec miesiąca)
 XOXOXG-AA-KK / XOXOXG-AA (AA = аядагы соңу)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)





 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 U.S.A.
800-638-8663
www.bd.com/ids

 Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, BACTEC, BBL, MGIT and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2009 BD