

BD BACTEC MGIT 960 PZA Kit

Pro testování antimykobakteriální citlivosti u *Mycobacterium tuberculosis*

 L005486JAA(01)
2014-03
Česky

ÚČEL POUŽITÍ

Sada **BACTEC MGIT 960 PZA** je rychlá kvalitativní metoda pro testování citlivosti na pyrazinamid (PZA) u kmene *Mycobacterium tuberculosis* získaného z kultur. Sada **BACTEC MGIT 960 PZA** se používá se systémem **BACTEC MGIT**.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Testování antimykobakteriální citlivosti je pro správnou léčbu pacientů s tuberkulózou velmi důležité. Léčba tuberkulózy se obvykle provádí podáváním většího množství léků, mezi něž patří i antimykobakteriální lék pyrazinamid. Je důležité, aby předepsané antimykobakteriální léčivo vykazovalo odpovídající aktivitu proti *Mycobacterium tuberculosis*, tj. citlivost izolátu na toto léčivo.

Rezistence vůči více lékům se u *Mycobacterium tuberculosis* (MDR-TB) stala vážným problémem veřejného zdraví.¹ Rezistence k některému z primárních léků včetně pyrazinamidu má za následek, že je léčba stále složitější a dražší. Proto je pro účinnou léčbu pacienta důležitá rychlá detekce těchto rezistentních izolátů.

Zpravidla se při testování antimykobakteriální citlivosti používají dvě metody. Při první metodě, známé jako proporční², se používá agar Middlebrook and Cohn 7H10. Porovnává se počet kolonií na médiu s léčivem a bez něho. Pro testování pyrazinamidu jsou nutné jisté modifikace hlavních metod, jelikož lék je aktivní *in vitro* pouze při nižších hodnotách pH.³ Byla vyvinuta modifikace proporční metody, která využívá médium s agarem 7H10 při pH 5,5, koncentrace léku je 25–50 µg/mL.⁴ Nevýhodou této metody je, že při pH 5,5 se některé izoláty *M. tuberculosis* přestanou úplně množit nebo se množí slabě. Metody na bázi agaru, např. agarová proporční metoda, nejsou považovány za uspokojivé při testování citlivosti na PZA, jelikož některé izoláty se přestaly množit, když byl agar pro test PZA okyselen.

Druhá metoda, známá jako radiometrická metoda testování citlivosti **BACTEC 460TB**⁵, je založena na produkci radioaktivního ¹⁴C-značeného oxidu uhličitého množícími se mykobakteriemi, což se projeví zvýšením indexu růstu v systému. Byla vyvinuta modifikace metody testování citlivosti **BACTEC 460TB**, která využívá modifikované radiometrické médium 7H12, testovací médium **BACTEC PZA**, s redukováným pH 6,0⁶. Při této hodnotě pH lze určit aktivitu PZA proti mykobakteriím, aniž by bylo potlačeno množení většiny izolátů *M. tuberculosis*. Test na citlivost **BACTEC 460TB PZA** využívá koncentraci léku pyrazinamidu 100 µg/mL. Testování citlivosti v systému **BACTEC 460TB** se ukázalo jako uspokojivé a je nyní považováno za referenční metodu pro testování citlivosti na PZA. Institut pro klinické a laboratorní standardy (CLSI, dříve NCCLS) i nadále doporučuje používat při testování metodou MOP dvě koncentrace primárních léčiv s výjimkou rifampinu.²

Použití přístroje **BACTEC MGIT** v kombinaci se sadou **BACTEC MGIT 960 PZA** je neradiometrická metoda pro určování antimykobakteriální citlivosti na PZA. Sada **BACTEC MGIT 960 PZA** je určena pro testování citlivosti při koncentraci pyrazinamidu 100 µg/mL. Tato koncentrace odpovídá koncentraci používané v systému **BACTEC 460TB**.

ZÁSADY POSTUPU

Médium **BACTEC MGIT 960 PZA** je zkumavka, která obsahuje živnou půdu Middlebrook 7H9 podporující množení a detekci mykobakterií. Zkumavka s médiem **BACTEC MGIT 960 PZA** obsahuje fluorescenční sloučeninu zalitou v silikonu na dně zkumavky s kulatým dnem o velikosti 16 x 100 mm. Fluorescenční sloučenina je citlivá na přítomnost kyslíku v živné půdě. Počáteční koncentrace kapalného kyslíku potlačuje vyzařování ze sloučeniny a fluorescence není dostatečně zřetelná. Později aktivně se množící aerobní mikroorganismy kyslík spotřebovávají, což umožňuje detekci fluorescence.

Sada **BACTEC MGIT 960 PZA** je 4–21 denní test pro kvalitativní určení. Test je založen na srovnávání množení izolátu *M. tuberculosis* ve zkumavce obsahující léčivo s množením tohoto izolátu ve zkumavce, která léčivo neobsahuje (kontrolní vzorek). Přístroj **BACTEC MGIT** zkumavky monitoruje a zaznamenává nárůst fluorescence. Prostřednictvím analýzy fluorescence ve zkumavce obsahující léčivo i v kontrolní zkumavce bez léčiva pak přístroj určí výsledky citlivosti.

Přístroj **BACTEC MGIT** tyto výsledky automaticky zpracuje a oznámí výslednou citlivost či rezistenci.

REAGENTY

Zkumavka s médiem **BACTEC MGIT 960 PZA** obsahuje 110 µL fluorescenčního indikátoru a 7 mL živné půdy PZA. Indikátor obsahuje pentahydrát chloridu tris 4,7-difeny-1,10-fenantrolin-ruthenatého na bázi silikonové pryže. Zkumavky jsou uzavřeny polypropylenovým uzávěrem.

Přibližné množství* na litr deionizované vody:

Modifikovaná živná půda Middlebrook 7H9 5,9 g
Pepton kaseinu 1,25 g

Sada **BACTEC MGIT 960 PZA** obsahuje dvě lyofilizované lahvičky pyrazinamidu a šest lahviček přísadky PZA.

Přibližné množství* na jednu lyofilizovanou lahvičku léčiva: Pyrazinamid 20 000 µg

Přídavek **BACTEC MGIT 960 PZA** obsahuje 15 mL obohacující látky.

Přibližné množství* na litr deionizované vody:

Albumin z hovězího séra 50,0 g	Kataláza 0,03 g
Glukóza 20,0 g	Mastrná kyselina 0,1 g
Polyoxyetylen stearat (POES) 1,1 g	

**Upraveno a/nebo doplněno dle požadavků tak, aby byla splněna kritéria účinnosti.*

Skladování a rekonstituce reagentů:

Médium **BACTEC MGIT 960 PZA** – po přijetí skladujte při teplotě 2–25°C. NEZMRAZUJTE. Živná půda by měla být čistá a bezbarvá. Pokud je zakalená, nepoužívejte ji. Minimalizujte vystavení slunečnímu záření. Zkumavky skladované před použitím podle pokynů na štítku lze inokulovat do data expirace.

Lahvičky s lékem **BACTEC MGIT 960 PZA** – po přijetí skladujte lyofilizované lahvičky s léčivem při teplotě 2–8°C. Po rekonstituci lze roztok antibiotika zmrazit a skladovat při teplotě -20°C nebo nižší až šest měsíců, nesmí však být překročeno původní datum expirace. Po rozmrazení okamžitě použijte. Nepoužité dávky zlikvidujte.

Přídavek **BACTEC MGIT** – po přijetí skladujte ve tmě při teplotě 2–8°C. Nezmrazujte ani nepřehřívejte. Otevřete a spotřebujte do data expirace. Minimalizujte vystavení slunečnímu záření.

Pokyny k použití:

Rekonstituujte každou lyofilizovanou lahvičku s léčivem v sadě **BACTEC MGIT 960 PZA 2,5 mL** sterilní destilované/deionizované vody; vznikne zásobní roztok o koncentraci 8000 µg/mL.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ: Pro diagnostiku *in vitro*.

POTENCIÁLNĚ INFEKČNÍ VZORKY: V klinických vzorcích se mohou nacházet patogenní mikroorganismy, včetně virů hepatitidy a viru lidské imunodeficiency (HIV). Z toho důvodu dodržujte při práci se vším, co je kontaminováno krví nebo jinými tělními tekutinami, „standardní bezpečnostní opatření“⁷⁻¹⁰ a předpisy instituce.

Práce s kmenem *M. tuberculosis* množícím se v kultuře vyžaduje postupy a vybavení pro 3. stupeň biologické bezpečnosti práce.

Přečtěte si pokyny na všech příslušných příbalových letáčích, včetně letáku k 7 mL zkumavce pro indikaci množství namnožených mykobakterií **BBL MGIT**, a dodržujte je.

Před použitím by měl uživatel každou lahvičku nebo zkumavku prohlédnout a zkontrolovat, zda není poškozená nebo kontaminovaná. Všechny nevhodné zkumavky a lahvičky zlikvidujte. Zkumavky, které upadly, pečlivě prohlédněte. Pokud objevíte poškození, zkumavku zlikvidujte.

Pokud dojde k rozbití zkumavky, postupujte následujícím způsobem: 1) Uzavřete zásuvky přístroje. 2) Vypněte přístroj. 3) Okamžitě vyprázdněte prostor. 4) Postupujte podle pokynů CDC nebo své instituce. Netěsnost nebo prasknutí inokulované zkumavky může vést ke vzniku aerosolu mykobakterií, proto se zkumavkami manipulujte náležitým způsobem.

Před likvidací sterilizujte všechny inokulované zkumavky **MGIT** v autoklávu.

PŘÍPRAVA INOKULA

Veškeré níže zmíněné preparáty musí být z čistých kultur kmene *M. tuberculosis*. Laboratoř by měla odpovídajícími identifikačními metodami potvrdit, že je testovaný izolát čistou kulturou kmene *M. tuberculosis*.

Inokulum je možné připravit z pevných médií nebo pomocí pozitivní zkumavky **BACTEC MGIT 7 mL**. Dále je možné použít kultury narostlé na tekutých a pevných médiích k přípravě živné zkumavky **MGIT**, kterou je poté možné použít k přípravě inokula. Níže uvádíme popis každé z těchto možností.

Příprava inokula z pevných médií:

POZNÁMKA: Aby byla dosažena odpovídající koncentrace organismů pro test na citlivost, je důležité připravit inokulum podle následujících pokynů.

1. Přidejte 4 mL živné pudy **BBL Middlebrook 7H9** (nebo **BBL MGIT**) do sterilní zkumavky o velikosti 16,5 x 128 mm s uzávěrem a 8–10 skleněnými kuličkami.
2. Sterilní smýčkou setřete co nejvíce kolonií z kultury, která není starší než 14 dní; snažte se přitom neodebrat pevné médium. Suspendujte kolonie v živné pudě **Middlebrook 7H9**.
3. Promíchejte suspenzi po dobu 2–3 minut, aby se rozptýlily větší shluky. Stupeň zakalení suspenze by měl překračovat hodnotu 1,0 McFarlandovy normy.
4. Nechejte suspenzi v klidu ustát po dobu 20 minut.
5. Přeneste supernatant do jiné sterilní zkumavky o velikosti 16,5 x 128 mm s uzávěrem (dbejte na to, abyste nepřenесли sediment) a nechejte jej ustát dalších 15 minut.
6. Přeneste supernatant (měl by být hladký, bez jakýchkoli shluků) do třetí sterilní zkumavky o velikosti 16,5 x 128 mm s uzávěrem.
POZNÁMKA: Suspenze organismů by při tomto kroku měla přesahovat hodnotu 0,5 podle McFarlandovy normy.
7. Upravte suspenzi na hodnotu 0,5 podle McFarlandovy normy (vizuálním srovnáním se zakalením o hodnotě 0,5 podle McFarlandovy normy). Hodnota nesmí být nižší než 0,5 podle McFarlandovy normy.
8. Rozpusťte 1 mL takto upravené suspenze ve 4 mL sterilního roztoku (poměr ředění 1:5). Směs použijte jako inokulum **AST** a přejděte k „Inokulačnímu postupu při testu na citlivost pomocí sady **BACTEC MGIT 960 PZA**“.

Příprava inokula z pozitivní zkumavky **BACTEC MGIT 7 mL**:

1. První den, kdy je zkumavka **BACTEC MGIT** v přístroji pozitivní, je pokládán za den 0.
2. K přípravě inokula pro test by měla být pozitivní 7 mL zkumavka **MGIT** použita den poté, co byla zjištěna její pozitivita v přístroji **BACTEC MGIT** (den 1), nejpozději však pátý den (den 5) po zjištění positivity. Zkumavka, která byla pozitivní déle než pět dní, by měla být použita k subkultivaci v nové 7 mL zkumavce **MGIT** obsahující růstový přídatek **BACTEC MGIT** a testování na přístroji **BACTEC MGIT**, dokud se neprojeví jako pozitivní; poté by měla být použita první až pátý den po určení positivity. Viz „Příprava živné zkumavky **MGIT** z tekutých médií“.
3. Pokud je zkumavka určena jako pozitivní v den 1 nebo den 2, ředění není nutné. Směs použijte jako inokulum **AST** a přejděte k „Inokulačnímu postupu při testu na citlivost pomocí sady **BACTEC MGIT 960 PZA**“.
4. Pokud je zkumavka pozitivní v den 3, 4 nebo 5, zředte 1 mL pozitivní živné pudy ve 4 mL sterilního fyziologického roztoku (poměr ředění 1:5). Zkumavku důkladně promíchejte. Směs použijte jako inokulum **AST** a přejděte k „Inokulačnímu postupu při testu na citlivost pomocí sady **BACTEC MGIT 960 PZA**“.

Příprava živné zkumavky **MGIT** z tekutých médií

1. Zkumavku promíchejte otáčením nebo pomocí vortexu.

2. Připravte roztok s ředěním 1:100 přidáním 0,1 mL kultury do 10 mL bujónu **BBL Middlebrook 7H9** nebo bujónu **BBL MGIT**. Dobře promíchejte.

3. Přidejte 0,5 mL této suspenze do 7 mL zkumavky **MGIT** s obohacením pomocí 0,8 mL růstového přídatku **BACTEC MGIT**.

4. Pevně zavičkejte, 2 – 3krát otočte a jemně promíchejte.

5. Vložte zkumavku do přístroje **BACTEC MGIT** a provádějte testování, dokud nebude zkumavka pozitivní.

POZNÁMKA: Čas pro dosažení positivity musí být ≥ 4 dny při použití jako inokulum pro **AST**. Pokud bude zkumavka pozitivní za < 4 dny, vraťte se ke kroku 1 a připravte novou živnou zkumavku.

6. Tuto zkumavku je nyní možné použít v průběhu jednoho až pěti dní po zjištění positivity. Pokračujte k výše uvedené části „Příprava inokula z pozitivní zkumavky **BACTEC MGIT 7 mL**“.

Příprava živné zkumavky **MGIT** z pevných médií

1. Pomocí sterilní kličky seškrábněte narostlé kolonie z šikmé pudy a přidejte do 7 mL zkumavky **MGIT** obohacené o 0,8 mL růstového přídatku **BACTEC MGIT**.

2. Pevně zavičkejte, 2 – 3krát otočte a jemně promíchejte.

3. Vložte zkumavku do přístroje **BACTEC MGIT** a provádějte testování, dokud nebude zkumavka pozitivní.
- POZNÁMKA:** Čas pro dosažení positivity musí být ≥ 4 dny při použití jako inokulum pro AST. Pokud bude zkumavka pozitivní za < 4 dny, vraťte se ke kroku 1 a připravte novou živnou zkumavku.
4. Tuto zkumavku je nyní možné použít v průběhu jednoho až pěti dní po zjištění positivity. Pokračujte k výše uvedené části „Příprava inokula z pozitivní zkumavky **BACTEC MGIT 7 mL**“.

POSTUP

Dodané materiály: sada **BACTEC MGIT 960 PZA** obsahující dvě lahvičky s lyofilizovaným léčivem a šest lahviček s přídavkem PZA (přibližně 50 testů v každé sadě).

Potřebný materiál, který není součástí dodávky: médium **BACTEC MGIT 960 PZA** (25 zkumavek v jednom balení), pomocná kultivační média, reagenty, organismy pro kontrolu kvality a laboratorní vybavení požadované pro tento postup.

Inokulační postup při testu na citlivost pomocí sady **BACTEC MGIT 960 PZA**:

Důležitým předpokladem při přípravě sady PZA AST je správná rekonstituce lyofilizovaných léčiv, použití čisté kultury a správné naředění organismů pro zkumavku s kontrolním vzorkem a zkumavku s PZA. Je důležité přidat léčivo jen do odpovídající zkumavky **MGIT** označené „PZA“. Při provádění PZA AST používejte pouze přídavek **BACTEC MGIT 960 PZA** dodávaný spolu se sadou a zkumavky s médiem **BACTEC MGIT 960 PZA**.

1. Označte dvě 7 mL zkumavky s médiem **BACTEC MGIT 960 PZA** pro každý testovaný izolát. Jednu označte jako GC (kontrolní vzorek), druhou jako PZA. Ve správném pořadí umístěte zkumavky do nosiče AST pro dvě zkumavky (viz uživatelská příručka přístroje **BACTEC MGIT**).
2. Aseptickým postupem přidejte do každé zkumavky 0,8 mL přídavku **BACTEC MGIT 960 PZA**.
3. Pipetou aseptickým způsobem aplikujte 100 µL roztoku léčiva **BACTEC MGIT 960 PZA** o koncentraci 8000 µg/mL do příslušné označené zkumavky **MGIT PZA**. Do příslušné označené zkumavky **MGIT** písmeny GC žádný roztok léku PZA nepřidávejte.

Léčivo	Koncentrace léčiva po rekonstituci*	Objem přidáný do zkumavek MGIT pro testování	Výsledná koncentrace ve zkumavkách MGIT
MGIT PZA	8 000 µg/mL	100 µL	100 µg/mL*

*PZA musí být pro dosažení určené koncentrace rekonstituován ve 2,5 mL sterilní/deionizované vody.

4. **Příprava a inokulace zkumavky s kontrolním vzorkem:** Aseptickým postupem pipetou aplikujte 0,5 mL inokula AST (viz „PŘÍPRAVA INOKULA“) do 4,5 mL sterilního fyziologického roztoku; vznikne suspenze pro kontrolu růstu v poměru 1:10. Důkladně suspenzi kontrolního vzorku promíchejte. Inokulujte 0,5 mL suspenze kontrolního vzorku v poměru 1:10 do zkumavky **MGIT** označené „GC“.
- POZNÁMKA:** Pro zkumavku označenou „GC“ je důležité používat správný poměr ředění 1:10, aby byla zajištěna správnost výsledků AST a aby se vyloučily chyby v nastavení PZA AST.
5. **Inokulace zkumavek obsahujících léčivo:** Aseptickým postupem pipetou aplikujte 0,5 mL inokula AST (viz „PŘÍPRAVA INOKULA“) do zkumavky **MGIT** označené „PZA“.
6. Pevně zkumavky uzavřete. Důkladně zkumavky promíchejte tak, že je třikrát až čtyřikrát opatrně převrátíte.
7. Založte sadu PZA do přístroje **BACTEC MGIT** pomocí funkce zadání AST (viz uživatelská příručka přístroje **BACTEC MGIT**). Ujistěte se, že je zkumavka s kontrolním vzorkem umístěna jako první levá zkumavka. Při zadávání nastavení AST zvolte PZA jako lék v definici pro druhou zkumavku v nosiči AST.
8. Rozetřete 0,1 mL suspenze organismu na misku se sójovým agarem **Trypticase** s 5 % ovčí krve (TSA II). Uzavřete do plastického sáčku. Inkubujte při teplotě 35–37°C.
9. Po 48 hodinách kontrolujte, zda se na misce s agarem nachází bakteriální kontaminace. Pokud miska s krevním agarem nevykazuje růst, pokračujte v testování PZA. Pokud miska s krevním agarem vykazuje růst, zlikvidujte sadu PZA (viz uživatelská příručka přístroje **BACTEC MGIT**) a zopakujte test s čistou kulturou *Mycobacterium tuberculosis*.

Kontrola kvality uživatelem: Po přijetí nové dodávky nebo šarže zkumavek sady **BACTEC MGIT 960 PZA** nebo média **BACTEC MGIT 960 PZA** doporučujeme otestovat níže uvedené kontrolní organismy. Kontrolním organismem by měla být čistá kultura, která by měla být připravena dle pokynů uvedených v kapitole „PŘÍPRAVA INOKULA“.

Sada AST pro kontrolu kvality by měla být připravena podle pokynů v „Inokulačním postupu při testu na citlivost pomocí sady **BACTEC MGIT 960 PZA**“. Důležitým předpokladem při přípravě sady pro kontrolu kvality AST je správná rekonstituce lyofilizovaných léčiv, použití čistých kultur a správné naředění organismů pro kontrolu kvality pro zkumavky s kontrolním vzorkem a zkumavky s PZA. Je důležité přidat lék jen do odpovídající zkumavky **MGIT** označené písmeny „PZA“.

Pro kontrolu kvality používejte každý týden, kdy probíhá test na citlivost, stejný kontrolní organismus. Pokud zpozorujete správné výsledky (viz níže) v rozmezí 4–20 dnů, znamená to, že reagenty **BACTEC MGIT 960 PZA** jsou připraveny k použití pro testování izolátů pacientů.

Pokud nepozorujete správné výsledky, nezaznamenávejte výsledky pacientů. Zopakujte kontrolu kvality a testy izolátů pacientů, které byly ovlivněny chybou při původní kontrole kvality. Pokud opakovaná kontrola kvality neproběhne dle očekávání, neuvádějte výsledky pacienta. Produkt nepoužívejte a obraťte se na oddělení technických služeb na čísle (800) 638-8663 (pouze v rámci USA).

Kmeny	GC	MGIT PZA
<i>M. tuberculosis</i>	Pozitivní	Citlivý
ATCC 27294		

Při externím vyhodnocení sady **BACTEC MGIT 960 PZA** byla průměrná doba pro výsledek kontrolních organismů sedm dní v rozsahu čtyř až jedenácti dní. Nejčastějšími příčinami selhání kontroly kvality při externím vyhodnocování byly příliš inokulované sady PZA a kontaminované kultury pro kontrolu kvality.

VÝSLEDKY

Přístroj **BACTEC MGIT** bude monitorovat sady AST, dokud nezjistí, zda jsou citlivé nebo rezistentní. Po dokončení testování sady výsledky získané prostřednictvím přístroje **BACTEC MGIT** zaznamenejte (viz uživatelská příručka přístroje **BACTEC MGIT**). Pokud se vyskytnou nějaké okolnosti, které mohou narušit výsledek testu, přístroj **BACTEC MGIT** zobrazí výsledek pro sadu AST jako Error („X“) – Chyba („X“), což znamená, že chybí interpretace citlivosti. Okolnosti, které mohou mít za následek zobrazení výsledku Error („X“), jsou popsány v části 7 – Řešení potíží v uživatelské příručce přístroje **BACTEC MGIT**.

Při zaznamenávání výsledků je důležité udávat testovací metodu, název léčiva a jeho koncentraci. Pro určení odpovídajícího léčebného režimu a dávkování se obraťte na specialistu na plicní a/nebo infekční onemocnění a kontrolu TB.

Monorezistence vůči pyrazinamidu není obvyklá, proto v případě neočekávaných výsledných rezistencí ověřte čistotu a identifikaci izolátu testovaného jako *M. tuberculosis*. Pokyny pro kontrolu čistoty mykobakterií naleznete v normě CLSI M24.2

Léčivo (koncentrace)	Systém BACTEC MGIT (výsledek)	Doporučený závěr	Činnost
PZA (100 µg/mL)	Citlivý	Izolát testovaný v systému BACTEC MGIT [PZA/100 µg/mL]; výsledkem je citlivost.	Žádná činnost.
	Rezistentní	Izolát testovaný v systému BACTEC MGIT [PZA/100 µg/mL]; výsledkem je rezistence.	Pokud je izolát monorezistentní vůči PZA, ověřte, zda je testovaný izolát čistou kulturou kmene <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .
	Error („X“) - chyba	Bez závěru.	Opakujte test.

OMEZENÍ POSTUPU

Test na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** neurčuje stupeň citlivosti testovaných izolátů. Výsledkem je citlivost nebo rezistence.

Testy na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** lze provádět pouze s přístrojem **BACTEC MGIT**. Odečet u sad PZA nelze provádět ručně.

Používejte pouze čisté kultury kmene *M. tuberculosis*. Kontaminované kultury nebo kultury obsahující více druhů mykobakterií mohou podávat chybné výsledky a neměly by být testovány. Přímé testování z klinických vzorků se nedoporučuje.

Suspenze z pevných médií je nutno před standardizací nechat po doporučenou dobu usadit. Inokulum připravené z pevných médií vizuálně porovnejte s McFarlandovou normou pro zakalení č. 0,5; neučiníte-li tak, může dojít k odečtu nepřesných výsledků nebo k chybě sady AST.

Pokud pro inokulaci zkumavek nepoužijete suspenzi organismů v poměru ředění 1:5 tam, kde je to předepsáno, může dojít k nepřesným výsledkům.

Pokud pro inokulaci zkumavky s kontrolním vzorkem nepoužijete suspenzi organismů v poměru ředění 1:10, může dojít k nepřesným výsledkům nebo k chybě sady AST.

Pokud při rekonstituci PZA nepoužijete správný objem sterilní destilované/deionizované vody, může dojít k nepřesným výsledkům.

Důležité je důkladně inokulované zkumavky promíchat. Pokud zkumavky nepromícháte řádně, mohou být výsledky falešně rezistentní.

Pokud vložíte zkumavky sady AST do nosiče AST v nesprávném pořadí, může dojít k nepřesným výsledkům. Pokud nezvolíte odpovídající léčivo pro nosič, může dojít k neplatným či nepřesným výsledkům.

Nesprávné založení sady AST do přístroje může mít za následek vytvoření anonymní podmínky, kterou bude nutné vyřešit během osmi hodin. Pokud podmínku do osmi hodin nevyřešíte, bude nutné sadu AST zlikvidovat a znovu nastavit.

Pokud nepoužijete přídavek **BACTEC MGIT 960 PZA** v sadě PZA AST, může dojít k nesprávným výsledkům. **NEPŘIDÁVEJTE** k sadě PZA AST přídavek **BACTEC MGIT 960 SIRE** ani růstový přídavek **BACTEC MGIT**.

Pokud pro sadu PZA AST nepoužijte médium **BACTEC MGIT 960 PZA**, může dojít k nesprávným výsledkům. **NEZAMĚŇTE** 7 mL zkumavky pro indikaci růstu mykobakterií **BBL MGIT** za médium **BACTEC MGIT 960 PZA**.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Na čtyřech geograficky odlišných místech bylo pomocí testu na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** otestováno celkem 118 klinických izolátů *M. tuberculosis*. Součástí testování byly čerstvé klinické izoláty i subkultivované izoláty, a to jak z tekutých, tak z pevných zdrojů kultur. Celkem bylo provedeno 228 testů citlivosti na PZA (tekutých a pevných).

Během externího vyhodnocování sady **BACTEC MGIT 960 PZA** bylo u devíti klinických izolátů nutné zopakovat test PZA z důvodu kontaminace (u šesti izolátů) nebo přílišné inokulace či chyb v postupu (u tří izolátů).

Průměrná doba pro odečet výsledku u testu na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** je sedm dní z celkového rozsahu čtyř až sedmnácti dní. Údaje jsou uvedeny na obrázku 1 na konci příbalového letáku.

ÚČINNOST

Analytické studie

Inokulační rozsah pro tekutá a pevná média AST:

Tekutá média – doporučeným postupem pro přípravu sady PZA z pozitivní 7 mL zkumavky **MGIT** je použití přímé inokulace ze dne 1 a dne 2 po projevení pozitivitu a zředěného inokula (poměr 1:5) ze dnů 3 až 5 po projevení pozitivitu. Interní studie prokázaly, že inokula připravená z pozitivní 7 mL zkumavky **MGIT** ze dnů 1 až 5 jsou v rozsahu od 2,0 x 10⁴ do 7,5 x 10⁶ CFU/mL.

Pevná média – doporučeným postupem pro přípravu sady PZA z kultury množící se na pevném médiu (až14 dní poté, co byly pozorovány první známky množení) je použití suspenze organismů zředěné v poměru 1:5 a odpovídající McFarlandově normě č. 0,5. Interní studie prokázaly, že inokula připravená z kultur množících se na pevných médiích jsou v rozsahu od 2,1 x 10⁵ do 3,9 x 10⁶ CFU/mL.

Možnost reprodukce šarže:

Možnost reprodukce šarže byla vyhodnocena za použití 25 kmenů *M. tuberculosis* (včetně tří kmenů ATCC). Každý kmen byl otestován ve trojici pomocí testu na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA**. Každý replikát měl vlastní podmínky testu, které se lišily podle šarže použitého léčiva PZA, přídávku PZA a použitého média PZA (vždy tři šarže).

Vypozorované výsledky byly porovnány s očekávanými výsledky. Celková možnost reprodukce pro test na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** je 96,8 %.

Panelové provokační testování CDC:

Účinnost testu na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** byla vyhodnocena za použití panelu provokačních kmenů získaných z Centra pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC) v Atlantě, GA, USA. Panel sestával z devíti kmenů *M. tuberculosis* se známými vzorci pro citlivost (za použití **BACTEC 460TB**). Panel byl otestován ve trojici pomocí testu na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA**. Výsledky testu **BACTEC MGIT 960 PZA** byly porovnány s očekávanými výsledky CDC. Celková shoda mezi očekávanými výsledky CDC a výsledky testu na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** je 98,7 %.

Klinické vyhodnocení

Test na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** byl vyhodnocen na čtyřech geograficky odlišných místech, mezi něž patřily regionální referenčních centra, fakultní nemocnice s laboratořemi a dvě místa v zahraničí. Test na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** byl porovnáván s metodou testování citlivosti **BACTEC 460TB PZA**.

Testování možnosti reprodukce:

Možnost reprodukce testu na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** byla vyhodnocena na klinických pracovištích za použití panelu s pěti známými kmeny. Výsledky testu **BACTEC MGIT 960 PZA** byly porovnány s očekávanými výsledky. Celková možnost reprodukce pro test na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** je 94 %.

Panelové provokační testování CDC:

Účinnost testu na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** byla vyhodnocena na všech čtyřech klinických místech za použití panelu provokačních kmenů získaných z Centra pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC) v Atlantě, GA, USA. Panel sestával z devíti kmenů *M. tuberculosis* se známými vzorci pro citlivost (za použití **BACTEC 460TB**). Ze 36 výsledků PZA získaných pomocí testu na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** se 33 výsledků shodovalo s očekávanými výsledky CDC. Vypočítaná procentuální shoda s očekávanými výsledky CDC je pro test na citlivosti **BACTEC MGIT 960 PZA** 91,7 %.

Klinické testování izolátů:

Pomocí testu na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** a testu na citlivost **BACTEC 460TB PZA** bylo otestováno celkem 118 klinických izolátů *M. tuberculosis*. Součástí testování byly čerstvé klinické izoláty i subkultivované izoláty, a to jak z tekutých, tak z pevných zdrojů kultur. Tímto způsobem bylo získáno celkem 228 výsledků testu.

V tabulce 1 jsou uvedeny výsledky klinických izolátů testovaných na lék PZA při 100 µg/mL z tekutého zdroje kultury, z pevného zdroje kultury a z kombinace obou kultur.

Tabulka 1: Výsledky klinických izolátů – test na citlivost **BACTEC MGIT 960 PZA** v porovnání s testem na citlivost **BACTEC 460TB**

		Systém BACTEC 460TB		Systém BACTEC MGIT 960			
		Očekávané výsledky PZA		Výsledná citlivost		Výsledná rezistence	
Zdroj	Počet testů	S	R	Počet shod	Procento shody kategorie (95% CI)	Počet shod	Procento shody kategorie (95% CI)
TEKUTÝ	112	89	23	88	98,9% (93,9–100)	22	95,7% (78,1–99,9)
PEVNÝ	113*	90	23	88	97,8% (92,2–99,7)	20	87,0% (66,4–97,2)
VŠECHNY	225*	179	46	176	98,3% (95,2–99,7)	42	91,3% (79,2–97,6)

*V tabulce nejsou uvedeny tři mezní výsledky pro **BACTEC 460TB**.

Všechny izoláty s nesouhlasnými výsledky testu **BACTEC MGIT 960 PZA** byly otestovány na dvou nezávislých místech pomocí testu na citlivost **BACTEC 460TB PZA**. Nesouhlasné výsledky byly u těch kmenů, u nichž se výsledky testu **BACTEC MGIT 960 PZA** odlišovaly od výsledků testu **BACTEC 460TB PZA**. Mezní výsledky nebyly do výpočtu účinnosti sady **BACTEC MGIT 960 PZA** zahrnuty.

Ze čtyř nesouhlasných izolátů citlivých na PZA (S-**BACTEC MGIT 960**, R-**BACTEC 460TB**) byla na obou nezávislých místech u jednoho výsledkem citlivost a u dalších tří rezistence. Z tří nesouhlasných testovaných izolátů rezistentních vůči PZA (R-**BACTEC MGIT 960**, S-**BACTEC 460TB**) byla na obou nezávislých místech u všech izolátů výsledkem citlivost.

Dva ze tří mezních výsledků testu **BACTEC 460TB** na PZA (S-**BACTEC MGIT 960**, B-**BACTEC 460TB**) byly na obou nezávislých místech označeny jako citlivé. Jeden ze tří mezních výsledků testu **BACTEC 460TB** na PZA (R-**BACTEC MGIT 960**, B-**BACTEC 460TB**) byl jedním nezávislým místem určen jako citlivý. Druhé nezávislé místo označilo výsledek jako mezní.

DOSTUPNOST

Kat. číslo Popis

- 245128 Sada **BACTEC MGIT 960 PZA**, balení se dvěma lyofilizovanými lahvičkami a šesti přidavky PZA.
- 245115 Médium **BACTEC MGIT 960 PZA**, balení po 25 lahvičkách.

ODKAZY

1. Barenfanger, 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. Heifets, L.B. and Iseman, 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. Salfinger, 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.

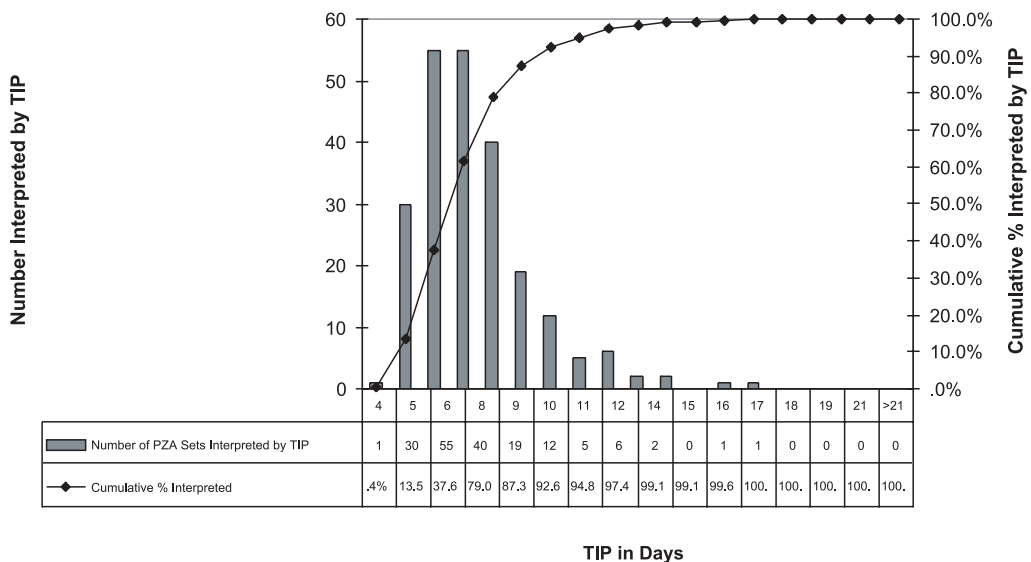
8. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.

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.

BD Diagnostics Technická podpora: mimo USA, obraťte se na místního zástupce společnosti BD nebo navštivte www.bd.com/ds .

Frequency Distribution of PZA Time in Protocol (TIP)



Obrázek 1: Výsledný časový rozpis **BACTEC MGIT 960** PZA AST

Frequency Distribution of PZA Time in Protocol (TIP) / Frekvenční časový rozpis PZA v protokolu (TIP)

Number Interpreted by TIP / Počet určených podle TIP

Cumulative % Interpreted by TIP / Celkové % určené podle TIP

Number of PZA Sets Interpreted by TIP / Počet sad PZA určených podle TIP

Cumulative % Interpreted / Celkové určené %

TIP in Days / TIP (ve dnech)



Do not reuse / Nepoužívejte opakovaně / Må ikke genbruges / Niet opnieuw gebruiken / Mitte kasutada korduvalt / Ei saa kasutada uudelehen / Usage unique / Nicht wiederverwenden / Μην το ξαναχρησιμοποιείτε / Egyszer használatos / Non riutilizzare / Tik vienkartiam naudojimui / Må ikke gjenbrukes / Nie stosować powtórnie / Não reutilizar / Nepoužívejte opakované / No reusar / Får ej återanvändas / Не использовать повторно / A nu se reutiliza / Tekrar kullanmayın / Ne upotrebljavajte ponovo / Не использовать повторно / Пайдалану баызы / Не koristiti ponovo



Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare / Производител / Producător / Üretici / Proizvođač / Производител / Атқарушы



Use by / Spotřebuje do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Použít do / Usar antes de / Använd före / Используйте до / A se utiliza până la / Son kulanma tarihi / Upotrebiti do / Использовать до / дейін пайдалану / Upotrijebiti do

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) /
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned) /
JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) /
AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) /
VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) /
AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) /
JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) /
EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) /
EEEE-HH-NN / EEEE-HH (HH = hónap utolsó napja) /
AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) /
MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mesio pabaiga) /
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutten av måneden) /
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) /
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiacu) /
aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutet på månaden) /
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца) /
AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii) /
YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu) /
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca) /
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца) /
ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА (АА = айдың соңы) /
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)



Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalogszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalogové číslo / Número de catálogo / Каталоген номер / Număr de catalog / Katalog numarası / Kataloški broj / Номер по каталогу / Каталог номері



Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitadud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autoriseret representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Representante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupce v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизирани представител в EU / Representant autorizat în Uniunea Europeană / Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Ovlašteni predstavnik u Evropskoj zajednici / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / Autorizuirani predstavnik u EU



In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiinaparatuur / Lääkinällinen in vitro -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietais / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicinska potěčka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik / Медицински уред за диагностика ин витро / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Diagnostisk Tibbi Cihaz / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики ин витро / Жасанды жағдайда жүргізілетін медициналық диагностика аспабы / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostik



Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturlimit / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturbereich / Οριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitación de temperatura / Ograničenje teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning / Температурни ограничения / Limitare de temperatură / Sıcaklık sınırlaması / Ograničenje temperature / Ограничение температуры / Температураны шектеу / Dovoljena temperatura



Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch code (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (lot) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Кодиків партії (Партія) / Tétel száma (lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-code (Serie) / Kod partii (serie) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti) / Код (Партия) / Număr lot (Lotul) / Partii Kodu (Lot) / Kod serije / Lot serije / Топтама коды / Lot (kod)



Contains sufficient for <n> tests / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> test / Voldoende voor <n> tests / Kùllaldane <n> testide jaoks / Sisältöön riittävä <n> testejä varten / Contenu suffisant pour <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα <n> εξετάσεις / <n> testhez elegendő / Contenido suficiente para <n> test / Pakankamas kiekis atlikti <n> testu / Innholder tilstrekkelig for <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Contêmo suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester / Содержания и достаточно за <n> теста / Conține suficient pentru <n> teste / <n> testleri için yeterli miktarda içerir / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Достаточно для <n> тестов(а) / <n> тесттері үшін жеткілікті / Sadržaj za (n) testova



Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitytke naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen / Направте справка в инструкциите за употреба / Consultați instrucțiunile de utilizare / Kullanım Talimatları'na başvurun / Pogledajte uputstvo za upotrebu / См. руководство по эксплуатации / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Koristi upute za upotrebu



Keep away from light / Nevystavujte světlu / Må ikke udsættes for lys / Weghouden van licht / Hoida eemal valgusest / Suojattava valolta / Conserver à l'abri de la lumière / Vor Licht schützen / Φυλάξτε το μακριά από φως / Fény nem érheti / Tenere al riparo dalla luce / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Må ikke udsættes for lys / Przechowywać z dala od źródeł światła / Manter ao abrigo da luz / Uchovávať mimo dosahu svetla / Mantener alejado de la luz / Får ej utsättas för ljus / Пазете от светлина / A se feri de lumină / Isjkatn uzak tutun / Držite dalje od svetlosti / Хранить в темноте / Қараңғыланған жерде ұста / Držati dalje od svetla



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2014 BD