

BD BBL™ MGIT™ AST SIRE System

For the Antimycobacterial Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis*

English: pages 1 – 5 Italiano: pagine 14 – 18
Français: pages 5 – 9 Español: páginas 19 – 23
Deutsch: Seiten 10 – 14



8809591JAA(03)
2016-09

Contact your local BD representative for instructions. / Свържете се с местния представител на BD за инструкции. / Pokyny vám poskytne místní zástupce společnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Ota yhteys lähimpään BD:n edustajaan ohjeiden saamiseksi. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőtől. / Нусқаулар үшін жергілікті BD өкілімен хабарласыңыз. / Lai saņemtu norādījumus, sazinieties ar vietējo BD pārstāvi. / Naudojimo instrukciju teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Neem contact op met uw plaatselijke BD-vertegenwoordiger voor instructies. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielem BD. / Contacte o reprezentante local da BD para instruções. / Pentru instrucțiuni, contactați reprezentantul local BD. / Для получения указаний обратитесь к местному представителю компании BD. / Instrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Kontakta närmaste BD-representant för anvisningar. / Talimatlar için yerel BD temsilcinizle temasa geçin. / За інструкціями зверніться до місцевого представника компанії BD.

INTENDED USE

The **BBL™ MGIT™ AST SIRE System** is a rapid manual qualitative procedure for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*, from culture, to streptomycin, isoniazid, rifampin and ethambutol.

SUMMARY AND EXPLANATION

Antimycobacterial susceptibility testing is necessary for the proper treatment of patients with tuberculosis. The treatment of tuberculosis is commonly through a multiple drug regimen using the primary antimycobacterial drugs, streptomycin, isoniazid, rifampin and/or ethambutol. It is important that the antimycobacterial drugs utilized show appropriate activity against *Mycobacterium tuberculosis*, i.e., susceptibility.

Multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* (MDR-TB) has recently become a serious public health problem.¹ Resistance to any of the four primary drugs, streptomycin (STR), isoniazid (INH), rifampin (RIF), and ethambutol (EMB), makes the disease more difficult and expensive to treat. The rapid detection of these strains is critical to the effective treatment of the patient.

Two methods have been widely used for antimycobacterial susceptibility testing. The first method, known as the Method of Proportion,² uses Middlebrook and Cohn 7H10 or 7H11 Agar. It compares colony counts on drug-containing and drug-free media. Resistance to a drug is detected when 1% or more of the population is resistant to the drug concentration under test. Results are generally available after 21 days of incubation. The second method is based on growth in liquid culture and generally takes from 3 to 14 days.

The **BBL MGIT AST System** provides the susceptibility result within 14 days and allows appropriate antibiotic therapy to be implemented sooner than with the Method of Proportion.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The **BBL MGIT Mycobacteria Growth Indicator Tube** is a tube containing a modified Middlebrook 7H9 Broth which, when supplemented with **BBL MGIT OADC enrichment**, supports the growth and detection of mycobacteria (see **BBL MGIT Products** package insert). The **MGIT** tube contains a fluorescent compound embedded in silicone on the bottom of a 16 x 100 mm round-bottom tube. The fluorescent compound is sensitive to the presence of oxygen dissolved in the broth. The initial concentration of dissolved oxygen quenches the emissions from the compound, and little fluorescence can be detected. Later, actively respiring microorganisms consume the oxygen and allow more fluorescence to be observed using a 365 nm UV transilluminator or longwave UV light.

The **MGIT AST System** is a three to fourteen day qualitative test. The test is based on growth of the *Mycobacterium tuberculosis* strain in a drug-containing tube compared to a drug-free tube. **MGIT** tubes are observed daily from the third day after inoculation. The absence of fluorescence in the drug-containing tube two days beyond the appearance of fluorescence in the Growth Control tube is indicative of susceptibility of the organism to that drug. Fluorescence of a drug-containing tube on or within two days of fluorescence of the Growth Control tube is indicative of resistance of the organism to that drug.

REAGENTS

MGIT AST SIRE Kit contains two each lyophilized vials of streptomycin, isoniazid, rifampin and ethambutol.

Approximate Formula* Per Vial Lyophilized Streptomycin: Streptomycin 160 µg.
Approximate Formula* Per Vial Lyophilized Isoniazid: Isoniazid..... 20 µg.
Approximate Formula* Per Vial Lyophilized Rifampin: Rifampin..... 200 µg.
Approximate Formula* Per Vial Lyophilized Ethambutol: Ethambutol..... 700 µg.

*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance criteria.

PRODUCT DETERIORATION

Some variation in the appearance of the lyophilized SIRE drugs may occur. This results from the lyophilization process and does not affect performance of the products.

Directions For Use: Reconstitute each **BBL MGIT** Streptomycin lyophilized vial with 4 mL of sterile distilled/deionized water to make a stock solution of 40 µg/mL.

Reconstitute each **BBL MGIT** Isoniazid lyophilized vial with 4 mL of sterile distilled/deionized water to make a stock solution of 5 µg/mL.

Reconstitute each **BBL MGIT** Rifampin lyophilized vial with 4 mL of sterile distilled/deionized water to make a stock solution of 50 µg/mL.

Reconstitute each **BBL MGIT** Ethambutol lyophilized vial with 4 mL of sterile distilled/deionized water to make a stock solution of 175 µg/mL.

Warnings and Precautions:

For *in vitro* Diagnostic Use.

Laboratory procedures involving mycobacteria require special equipment and technique to minimize biohazard.³ Biosafety Level 2 practices and procedures, containment equipment and facilities are required for non-aerosol-producing manipulations of clinical specimens such as preparation of acid-fast smears. All aerosol-generating activities must be conducted in a Class I or II biological safety cabinet. Biosafety Level 3 practices, containment equipment and facilities are required for laboratory activities in the propagation and manipulation of cultures of *M. tuberculosis* and *M. bovis*. Animal studies also require special procedures.⁴

BBL MGIT AST SIRE

BBL MGIT AST SIRE-Rifampin, Lyophilized

Warning



H302+H332 Harmful if swallowed or if inhaled

P261 Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/spray. **P264** Wash thoroughly after handling. **P270** Do not eat, drink or smoke when using this product. **P271** Use only outdoors or in a well-ventilated area. **P301+P312** IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. **P304+P340** IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. **P330** Rinse mouth. **P501** Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

Read and follow directions contained in all appropriate package inserts including the **BBL MGIT** Mycobacteria Growth Indicator Tube (see "Availability").

Wear UV protective glasses when observing fluorescence and use only longwave illumination (365 nm). DO NOT USE SHORTWAVE UV LIGHT FOR VIEWING.

Prior to use, the user should examine the tubes for evidence of contamination or damage. Discard any tubes if they appear unsuitable or exhibit fluorescence prior to use. Dropped tubes should be examined carefully. If damage is seen, the tube should be discarded.

A nephelometer must be used for the preparation of isolate suspensions from solid media (e.g., Lowenstein-Jensen Medium).

Autoclave all inoculated **MGIT** tubes prior to disposal.

Storage Instructions: On receipt, store the lyophilized vials at 2–8 °C. Once reconstituted, the antibiotic solutions may be frozen and stored at -20 °C up to 6 months, not to exceed the original expiration date. Once thawed, use immediately. Discard unused portions.

SPECIMEN PREPARATION

All preparations detailed below are from cultures of *Mycobacterium tuberculosis*. The laboratory should confirm, by appropriate identification techniques, that the isolate to be tested is a pure culture.

Preparation of the Isolate from Solid Media:

1. Add 4 mL of **BBL** Middlebrook 7H9 Broth to a 16.5 x 128 mm sterile tube with cap containing 8 – 10 glass beads.
2. Scrape with a sterile loop as many colonies as possible from growth up to 14 days old, trying not to remove any solid medium. Suspend the colonies in the Middlebrook 7H9 Broth. The suspension should exceed in turbidity a 1.0 McFarland standard.
3. Vortex the suspension for 2–3 min to break up the larger clumps.
4. Let the suspension sit for 20 min without disturbing.
5. Transfer the supernatant fluid to another 16.5 x 128 mm sterile tube with cap (avoid transferring any of the sediment) and let sit for another 15 min.
6. Transfer the supernatant fluid (it should be smooth, free of any clumps) to a third 16.5 x 128 mm sterile tube.
7. Adjust the suspension to a 0.5 McFarland standard using a nephelometer.
8. Dilute 1.0 mL of the 0.5 McFarland-adjusted suspension in 4 mL of sterile saline (1:5 dilution). The inoculum is now ready. Proceed to "Inoculation Procedure for Susceptibility Test."

Preparation from a Positive MGIT Tube:

1. For the preparation of the test inoculum, a positive **MGIT** tube should be used the day after it first becomes positive, up to and including three days following initial positivity. A tube which has been positive longer than four days should be subcultured to a fresh **MGIT** tube and used from one to three days following positivity in that **MGIT** tube. Vortex the **MGIT** tube for 10 s.
2. Pipet 1.0 mL of the suspension from the **MGIT** tube into 4 mL of sterile saline (1:5 dilution). The inoculum is now ready. Proceed to "Inoculation Procedure for Susceptibility Test."

PROCEDURE

Materials Provided: **BBL MGIT AST SIRE** Kit containing two each lyophilized vials of streptomycin, isoniazid, rifampin and ethambutol.

Materials Required But Not Provided: **BBL MGIT** Mycobacteria Growth Indicator Tubes, **BBL MGIT** OADC, ancillary culture media, reagents, quality control organisms and laboratory equipment as required for this procedure.

Negative Control: An unopened, uninoculated **MGIT** tube is used for the Negative Control.

Preparation of the Positive Control:

1. Empty broth from an uninoculated **MGIT** tube.
2. Label the tube as a Positive Control and record the date.
3. Prepare a 0.4% sodium sulfite solution (0.4 g in 100 mL sterile distilled or deionized water).
4. Add 5 mL of sodium sulfite solution to the empty **MGIT** tube. Replace the cap, tighten and allow to stand at room temperature for 1 h. Do not incubate.
5. Positive Control tubes can be used many times. Each Positive Control tube can be used for up to 4 weeks when stored at room temperature.

Inoculation Procedure for MGIT Susceptibility Test:

1. Label five **MGIT** tubes for each test isolate. Label one as **MGIT** GC (Growth Control), one as **MGIT** STR, one as **MGIT** INH, one as **MGIT** RIF, and the last as **MGIT** EMB.
2. Aseptically add 0.5 mL of **MGIT** OADC to each tube.
3. Aseptically pipet, using a micropipet, 100 μ L of 40 μ g/mL **MGIT** STR solution to the appropriately labelled **MGIT** tube. Aseptically pipet 100 μ L of 5 μ g/mL **MGIT** INH solution to the appropriately labelled **MGIT** tube. Aseptically pipet 100 μ L of 50 μ g/mL **MGIT** RIF solution to the appropriately labelled **MGIT** tube. Aseptically pipet 100 μ L of 175 μ g/mL **MGIT** EMB solution to the appropriately labelled **MGIT** tube. No antibiotics should be added to the **MGIT** GC tube.

Drug	Concentration of Drug after Reconstitution	Volume Added to MGIT Tubes for Test	Final Concentration In MGIT Tubes
MGIT STR	40 μ g/mL	100 μ L	0.8* μ g/mL
MGIT INH	5 μ g/mL	100 μ L	0.1* μ g/mL
MGIT RIF	50 μ g/mL	100 μ L	1.0* μ g/mL
MGIT EMB	175 μ g/mL	100 μ L	3.5* μ g/mL

*Equivalent to CDC³ recommended critical drug concentrations.

4. Inoculate using a pipet, 0.5 mL of the 1:5 organism suspension (see "Specimen Preparation") into each of the five **MGIT** tubes. Wipe the tubes with a tuberculocidal disinfectant. Tightly recap the tubes and mix well.
5. Incubate the labelled **MGIT** tubes at 37 °C.
6. Streak 0.1 mL of the 1:5 organism suspension to a **Trypticase™** Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II) plate. Enclose in a plastic bag. Incubate at 35–37 °C.
7. Check the blood agar plate at 48 h for bacterial contamination.
8. If the blood agar plate shows no growth, then proceed to "Reading **MGIT** Tubes."
9. If the blood agar plate shows growth, discard **MGIT** tubes and repeat testing with pure culture.

Reading MGIT Tubes:

1. Remove the **MGIT** tubes from the incubator on the third day after inoculation and read with a 365 nm UV transilluminator or longwave UV light.
NOTE: It is important to read the AST tube every day beginning on Day 3, until results can be interpreted.
2. Compare the **MGIT** GC tube to the Positive and Negative Control tubes. The Positive Control should strongly fluoresce (very bright orange color on the bottom of the tube and also an orange reflection on the meniscus). The Negative Control tube should have very little fluorescence.
3. If fluorescence of the **MGIT** GC tube looks more like the Positive Control than the Negative Control, it is positive for growth. Once the **MGIT** GC tube is positive, it is used to interpret the drug-containing tubes. The drug-containing tubes are interpreted on the same day the **MGIT** GC is positive and for up to two additional days, according to the "Interpretation of Test Results" section, not to exceed fourteen days.
4. If the GC tube has no fluorescence and looks more like the Negative Control, reincubate the tubes and continue to read daily until twelve days after inoculation of all tubes. If the GC result is equivocal (difficult to determine whether an orange fluorescence is present), then the tube should be considered negative and reincubated.
5. If the GC tube is not positive by the twelfth day of the test, the test is invalid.

Interpretation of Test Results: Interpret the **MGIT** result as Susceptible if the drug-containing tube does NOT fluoresce within two days of onset of fluorescence in the GC tube. Interpret the **MGIT** result as Resistant if the drug-containing tube fluoresces on or within two days of the day of onset of fluorescence in the GC tube. When interpreting resistance, finalize the result as soon as the **MGIT** GC and the drug-containing tubes fluoresce.

User Quality Control: Upon receipt of a new shipment or lot number of **BBL MGIT AST SIRE** Kit vials, it is suggested that the control organism shown below be inoculated into tubes with drugs (see "Inoculation Procedure for Susceptibility Test"). Upon observing the proper results, as shown below, the **MGIT AST SIRE** drugs are ready for use in testing patient isolates. If the proper results are not observed, repeat the test. If, after repeating the test, the proper results are still not observed, do not use the media until you have contacted Technical Services at (800) 638-8663 (United States only).

Strain	GC	MGIT STR	MGIT INH	MGIT RIF	MGIT EMB
<i>M. tuberculosis</i> ATCC® 27294	Fluorescence within 3–7 days	No fluorescence within 2 days of GC	No fluorescence within 2 days of GC	No fluorescence within 2 days of GC	No fluorescence within 2 days of GC

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent CLSI guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Suspensions made from solid media must be allowed to settle for the prescribed times prior to standardization. Inoculum preparations made from solid media without the use of a nephelometer may give inaccurate results due to incorrect biomass.

The test is uninterpretable if the Growth Control does not fluoresce within twelve days of inoculation.

Use only pure cultures of *M. tuberculosis*. Cultures which are contaminated or which contain multiple strains of mycobacteria may give erroneous results.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance of the **MGIT AST SIRE** System was established in two clinical evaluations conducted at regional reference centers for mycobacterial susceptibility testing and university hospital-based laboratories in areas of high prevalence of *M. tuberculosis* resistance to isoniazid and/or rifampin. The **MGIT AST** System was compared to the Method of Proportion. The clinical evaluation at four sites comparing INH and RIF results between the **MGIT AST** System and Method of Proportion using 7H10 Media (INH at 0.2 µg/mL, RIF at 1.0 µg/mL) included 259 clinical isolates. The clinical evaluation comparing STR and EMB results between the **MGIT AST** System and Method of Proportion included 138 clinical isolates: 103 isolates from two sites using 7H10 Media (STR at 2.0 µg/mL, EMB at 5.0 µg/mL), and 35 isolates from one site using LJ Media (STR at 4.0 µg/mL, EMB at 1.0 µg/mL).

Data was analyzed and interpreted qualitatively for category agreement (S/S or R/R), and overall (site combined) percent agreements were as follows: STR = 94.9%, INH = 93.1%, RIF = 98.5%, and EMB = 93.5%.⁵

Tables 1 and 2 show comparative performance between the **MGIT AST SIRE** System and the Method of Proportion.

Table 1

Number of Isolates with Indicated Susceptibility Results					
Drug	MGIT and MOP R	MOP S MGIT R	MOP R MGIT S	MGIT and MOP S	Total Isolates Tested
STR	24	5	2	107	138
INH	70	13	5	171	259
RIF	61	1	3	194	259
EMB	12	5	4	117	138

S = Susceptible R = Resistant

Reproducibility of **MGIT AST SIRE** System test results were compared to expected results for a panel of 5 ATCC strains and 16 qualified strains which included several strains resistant to each of the drugs. The reproducibility results were: 97% for STR, 94% for INH, 98% for RIF, and 94% for EMB. Individual site reproducibility results ranged from 92% to 100% for combined drug results.

Table 2

Performance Characteristics (%)					
Drug	Sensitivity	Specificity	Predictive Value of Susceptibility	Predictive Value of Resistance	Category Agreement
STR	92.3	95.5	98.2	82.8	94.9
INH	93.3	92.9	97.2	84.3	93.1
RIF	95.3	99.5	98.5	98.4	98.5
EMB	75.0	95.9	96.7	70.0	93.5

AVAILABILITY

Cat. No.	Description	Cat. No.	Description
245119	BD BBL™ MGIT™ AST SIRE Kit, carton of 8 lyophilized vials.	221818	BD BBL™ MGIT™ Normal Saline, 5 mL, carton of 10.
245111	BD BBL™ MGIT™ Mycobacteria Growth Indicator Tubes, 4 mL, carton of 25 tubes.	221819	BD BBL™ MGIT™ Normal Saline, 5 mL, carton of 100.
245113	BD BBL™ MGIT™ Mycobacteria Growth Indicator Tubes, 4 mL, carton of 100 tubes.	295939	BD BBL™ MGIT™ Middlebrook 7H9 Broth, 8 mL, carton of 10.
245116	BD BBL™ MGIT™ OADC, 15 mL, carton of 6 vials.	297345	BD BBL™ MGIT™ Water, 5 mL, carton of 100.

REFERENCES

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 (CLSI). Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardiae, and Other Aerobic Actinomycetes; Approved Standard-Second Edition. CLSI document M24-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA
3. Kent, P.T., and G.P. Kubica. 1985. Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. USDHHS. Centers for Disease Control, Atlanta.
4. U.S. Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, and National Institutes of Health. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 4th ed. HHS Publication No. (CDC) 93-8395. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
5. Data on file, BD Diagnostic Systems.

Technical Information: In the United States contact BD Technical Service and Support at 1.800.638.8663 or www.bd.com.



BD Système BBL MGIT AST SIRE

Pour les tests de sensibilité du *Mycobacterium tuberculosis* à des antimycobactériens

Français

APPLICATION

Le système **BBL MGIT AST SIRE** est un test de détection qualitative rapide de la résistance de souches de *Mycobacterium tuberculosis* à la streptomycine, l'isoniazide, la rifampicine et l'éthambutol ; le test se fait à partir d'une culture.

RESUME ET EXPLICATION

La détection de la sensibilité aux antimycobactériens est cruciale pour un traitement adéquat des patients atteints de tuberculose. Le traitement de la tuberculose est effectué en général au moyen d'une polychimiothérapie constituée des antituberculeux principaux tels que la streptomycine, l'isoniazide, la rifampicine et l'éthambutol. Il est important que les antituberculeux utilisés démontrent une activité spécifique contre *Mycobacterium tuberculosis* vérifiée par sa sensibilité.

Les souches multirésistantes de *Mycobacterium tuberculosis* (MDR-TB) sont récemment devenues un problème de santé publique sérieux.¹ La résistance à la streptomycine (STR), à l'isoniazide (INH), à la rifampicine (RIF) et à l'éthambutol (EMB), les quatre médicaments les plus efficaces, rend la maladie plus difficile et plus chère à traiter. La détection rapide de ces souches est essentielle au traitement efficace d'un patient.

Deux méthodes ont été largement utilisées pour la détection d'une sensibilité aux antituberculeux. La première méthode, connue sous le nom de Méthode des Proportions,² utilise des géloses Middlebrook et Cohn 7H10 ou 7H11. Elle compare le nombre de colonies sur géloses contenant l'antibiotique avec celui obtenu des milieux sans antibiotique. La résistance à un antibiotique est détectée lorsque 1% ou plus d'une population mycobactérienne est résistante à la concentration d'antibiotique testée. Les résultats sont généralement disponibles après 21 jours d'incubation. La seconde méthode repose sur un développement en culture liquide et dure généralement de 3 à 14 jours.

Le système **BBL MGIT AST** fournit des résultats de sensibilité en 14 jours, ce qui permet de mettre en œuvre l'antibiothérapie appropriée plus tôt qu'avec la méthode des proportions.

PRINCIPES DE LA METHODE

Le Tube avec indicateur de croissance mycobactérienne **BBL MGIT** [Mycobacteria Growth Indicator Tube] est un tube contenant un Bouillon Middlebrook 7H9 modifié qui, avec l'addition du supplément d'enrichissement **BBL MGIT OADC**, supporte la croissance et la détection des mycobactéries (voir la notice des produits **BBL MGIT**). Le tube **MGIT** contient un composé fluorescent incorporé à de la silicone au fond de tubes de 16 x 100 mm à fond rond. Le composé fluorescent est sensible à la présence d'oxygène dissous dans le bouillon. Initialement, la concentration d'oxygène dissous inhibe les émissions du composé et une faible fluorescence peut être détectée. Subséquemment, les microorganismes, en respirant, consomment l'oxygène du milieu et permettent l'observation d'une fluorescence plus forte en utilisant un transilluminateur avec des UV à 365 nm ou une lampe UV à ondes longues.

Le système **MGIT AST** est un test qualitatif de trois à quatorze jours. Le test est basé sur la comparaison entre la croissance d'une souche de *Mycobacterium tuberculosis* dans un tube contenant un antibiotique et celle obtenue dans un tube sans antibiotique. Les tubes **MGIT** sont observés quotidiennement à partir du troisième jour après l'inoculation. L'absence de fluorescence dans le tube contenant l'antibiotique deux jours après l'apparition d'une fluorescence dans le tube témoin de croissance indique que l'organisme est sensible à cet antibiotique. Une fluorescence dans le tube contenant l'antibiotique le même jour ou moins de deux jours après l'apparition d'une fluorescence dans le tube témoin de croissance indique que l'organisme est résistant à cet antibiotique.

REACTIFS

La trousse **MGIT AST SIRE** contient deux ampoules de streptomycine, deux d'isoniazide, deux de rifampicine et deux d'éthambutol lyophilisés.

Formule approximative* par ampoule de streptomycine lyophilisée : streptomycine 160 µg.

Formule approximative* par ampoule d'isoniazide lyophilisé : isoniazide 20 µg.

Formule approximative* par ampoule de rifampicine lyophilisée : rifampicine 200 µg.

Formule approximative* par ampoule d'éthambutol lyophilisé : éthambutol 700 µg.

*Ajustée et/ou supplémentée en fonction des critères de performance imposés.

DÉTÉRIORATION DU PRODUIT

Il peut arriver que l'aspect des antibiotiques **SIRE** lyophilisés varie. Cette variation est provoquée par le processus de lyophilisation et n'affecte pas les performances des produits.

Mode d'emploi : reconstituer chaque ampoule de streptomycine lyophilisée **BBL MGIT** avec 4 mL d'eau distillée/désionisée stérile afin d'obtenir une solution stock de 40 µg/mL.

Reconstituer chaque ampoule d'isoniazide lyophilisé **BBL MGIT** avec 4 mL d'eau distillée/désionisée stérile afin d'obtenir une solution stock de 5 µg/mL.

Reconstituer chaque ampoule de rifampicine lyophilisée **BBL MGIT** avec 4 mL d'eau distillée/désionisée stérile afin d'obtenir une solution stock de 50 µg/mL.

Reconstituer chaque ampoule d'éthambutol lyophilisé **BBL MGIT** avec 4 mL d'eau distillée/désionisée stérile afin d'obtenir une solution stock de 175 µg/mL.

Avertissements et précautions :

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Les procédures de laboratoires impliquant des mycobactéries requièrent un équipement particulier et des techniques spéciales afin de minimiser le risque biologique.³ Les manipulations non susceptibles de produire des aérosols d'échantillons cliniques, comme la préparation de frottis acido-résistants, nécessitent des pratiques et des méthodes de sécurité biologique de niveau 2, ainsi que les installations et le matériel de confinement correspondants. Toutes les manipulations susceptibles de produire des aérosols doivent être effectuées sous hotte biologique de sécurité de classe I ou II. Les activités en laboratoire afférentes à la propagation et la manipulation des cultures de *M. tuberculosis* et de *M. bovis* nécessitent des pratiques de sécurité biologique de niveau 3, ainsi que les appareils et installations de confinement correspondants. Les études expérimentales sur l'animal requièrent également des procédures particulières.⁴

BBL MGIT AST SIRE

BBL MGIT AST SIRE-Rifampin, lyophilisé

Attention



H302+H332 Nocif en cas d'ingestion ou d'inhalation

P261 Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. **P264** Se laver soigneusement après manipulation. **P270** Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit. **P271** Utiliser seulement en plein air ou dans un endroit bien ventilé. **P301+P312** EN CAS D'INGESTION: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. **P304+P340** EN CAS D'INHALATION: transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. **P330** Rincer la bouche. **P501** Éliminer le contenu/récipient conformément aux règlements locaux/régionaux/nationaux/internationaux.

Lire et suivre les instructions contenues dans toutes les notices appropriées incluant celles des Tubes avec indicateur de croissance mycobactérienne **BBL MGIT** (voir "Matériel disponible").

Porter des lunettes protectrices contre les UV lorsque vous observez la fluorescence et utiliser une illumination à ondes longues (365 nm) seulement. NE JAMAIS UTILISER DE LUMIERE UV A ONDES COURTES POUR VISIONNER.

Avant utilisation, il convient d'examiner les ampoules pour rechercher des signes de contamination ou de détérioration. Jeter tout tube apparaissant suspect ou présentant une fluorescence avant son utilisation. Examiner avec soin les tubes tombés à terre. Éliminer les tubes visiblement endommagés.

Un néphélomètre doit être utilisé lors de la préparation de suspensions à partir d'un isolat sur milieu solide (par exemple, Milieu Lowenstein-Jensen).

Tous les tubes **MGIT** inoculés doivent être autoclavés avant d'être jetés.

Instructions pour la conservation : Dès réception, conserver les ampoules lyophilisées à une température de 2–8 °C. Une fois reconstituées, les solutions d'antibiotique peuvent être congelées et conservées à -20 °C jusqu'à 6 mois, sans dépasser la date de péremption d'origine. Une fois décongelées, les solutions doivent être utilisées immédiatement. Jeter les portions non utilisées.

PREPARATION DE L'ECHANTILLON

Toutes les préparations détaillées ci-après sont faites à partir des cultures de *Mycobacterium tuberculosis*. Le laboratoire doit confirmer, à l'aide des techniques d'identification appropriées, que l'isolat à tester est une culture pure.

Préparation de l'isolat à partir d'un milieu solide :

1. Ajouter 4 mL de Bouillon **BBL** Middlebrook 7H9 à un tube stérile de 16,5 x 128 mm (avec capuchon) contenant 8–10 billes de verre.
2. À l'aide d'une anse bactériologique stérile, racler la surface d'une culture vieille de 14 jours au maximum, afin de récolter le plus de colonies possible tout en prenant soin de ne prélever aucun milieu solide. Suspendre les colonies dans le Bouillon Middlebrook 7H9. La turbidité de la suspension doit excéder le standard McFarland 1,0.
3. Agiter la suspension au vortex pendant 2–3 min afin de briser les gros agrégats.
4. Laisser reposer la suspension pendant 20 min sans la déranger.
5. Transférer le surnageant liquide dans un autre tube stérile de 16,5 x 128 mm avec capuchon (éviter de transférer tout sédiment) et laisser reposer à nouveau 15 min.
6. Transférer le surnageant liquide (il devrait être fluide, exempt de tout agrégat) dans un troisième tube stérile de 16,5 x 128 mm.
7. Ajuster la suspension à une turbidité équivalente au standard McFarland 0,5 à l'aide d'un néphélomètre.
8. Diluer 1,0 mL de la suspension ajustée à celle de McFarland 0,5 dans 4 mL de sérum physiologique stérile (dilution 1:5). L'inoculum est maintenant prêt. Aller à la rubrique "Méthode d'inoculation pour le test de sensibilité."

Préparation à partir d'un tube **MGIT** positif :

1. Pour la préparation de l'inoculum pour le test, un tube **MGIT** positif doit être utilisé la journée **après** qu'il est devenu positif et pour une période de trois jours au plus après ce premier résultat positif. Un tube ayant été positif durant plus de quatre jours doit être repiqué dans un nouveau tube **MGIT** ; ce nouveau tube doit être utilisé entre le premier et le troisième jour après qu'il est devenu positif. Agiter le tube **MGIT** à l'aide d'un vortex pendant 10 s.
2. À partir du tube **MGIT** pipetter 1,0 mL de suspension dans 4 mL de sérum physiologique stérile (dilution 1:5). L'inoculum est maintenant prêt. Aller à la rubrique "Méthode d'inoculation pour le test de sensibilité."

METHODE

Matériel fourni : Une trousse **BBL MGIT** AST SIRE contenant deux ampoules de streptomycine, deux d'isoniazide, deux de rifampicine et deux d'éthambutol lyophilisés.

Matériel requis mais non-fourni : Tubes avec indicateur de croissance mycobactérienne **BBL MGIT**, le **BBL MGIT** OADC, les milieux de culture ancillaires, les réactifs, les organismes pour le contrôle de qualité et l'équipement de laboratoire nécessaire pour cette procédure.

Contrôle Négatif : Un tube **MGIT** non ouvert, non inoculé, est utilisé comme Contrôle Négatif.

Préparation du Contrôle Positif :

1. Vider le bouillon d'un tube **MGIT** non inoculé.
2. Identifier le tube comme Contrôle Positif et enregistrer la date.
3. Préparer une solution de sulfite de sodium à 0,4 % (0,4 g dans 100 mL d'eau distillée/désionisée stérile).
4. Ajouter 5 mL de la solution de sulfite de sodium au tube **MGIT** vide. Remettre le capuchon, bien fermer et laisser reposer le tube pendant au moins 1 h à température ambiante. Ne pas incuber.
5. Les tubes de Contrôle Positif peuvent être utilisés plusieurs fois. Chaque tube Contrôle Positif peut être utilisé pendant une période allant jusqu'à 4 semaines s'il est conservé à température ambiante.

Méthode d'inoculation pour le test de sensibilité :

1. Etiqueter cinq tubes **MGIT** pour chaque isolat à tester. Marquer un tube comme **MGIT** GC (Contrôle de Croissance), un comme **MGIT** STR, un comme **MGIT** INH, un comme **MGIT** RIF et le dernier comme **MGIT** EMB.
2. Ajouter de manière aseptique 0,5 mL de **MGIT** OADC à chaque tube.

- A l'aide d'une micropipette, ajouter de manière aseptique 100 µL de la solution stock de 40 µg/mL de **MGIT STR** au tube **MGIT** marqué de manière appropriée. Pipetter de manière aseptique 100 µL de la solution stock de 5 µg/mL **MGIT INH** dans le tube **MGIT** marqué de manière appropriée. Pipetter de manière aseptique 100 µL de la solution stock de 50 µg/mL **MGIT RIF** dans le tube **MGIT** marqué de manière appropriée. Pipetter de manière aseptique 100 µL de la solution stock de 175 µg/mL **MGIT EMB** dans le tube **MGIT** marqué de manière appropriée. Aucun antibiotique ne doit être ajouté au tube **MGIT GC**.

Antibiotique	Concentration de d'antibiotique après reconstitution	Volume ajouté aux tubes MGIT lors du test	Concentration finale dans les tubes MGIT
MGIT STR	40 µg/mL	100 µL	0,8* µg/mL
MGIT INH	5 µg/mL	100 µL	0,1* µg/mL
MGIT RIF	50 µg/mL	100 µL	1,0* µg/mL
MGIT EMB	175 µg/mL	100 µL	3,5* µg/mL

*Equivalent aux concentrations critiques recommandées par le CDC.³

- A l'aide d'une pipette, inoculer 0,5 mL de la suspension d'organismes 1:5 (voir "Préparation des échantillons") dans chacun des cinq tubes **MGIT**. Essuyer les tubes avec une solution de désinfectant détruisant l'agent de la tuberculose. Fermer les tubes hermétiquement et mélanger vigoureusement.
- Incuber les tubes **MGIT** étiquetés à 37 °C.
- Strier 0,1 mL de la suspension d'organismes 1:5 sur une gélose de soja **Trypticase** additionnée de 5 % de sang de mouton (TSA II). Mettre dans un sac de plastique fermé. Incuber à 35–37 °C.
- Vérifier la gélose au sang après 48 h pour la présence d'une contamination bactérienne.
- Si la gélose au sang ne montre aucune croissance, poursuivre à la rubrique "Lecture des tubes **MGIT**."
- Si la gélose au sang montre une croissance, jeter les tubes **MGIT** et répéter le test avec une culture pure.

LECTURE DES TUBES MGIT :

- Le troisième jour après l'inoculation, retirer les tubes **MGIT** de l'incubateur et les lire avec un transilluminateur avec des UV à 365 nm ou une lumière avec des UV à ondes longues.
NOTA : il est important de lire les tubes **MGIT** chaque jour dès le troisième jour, jusqu'à ce que les résultats soient interprétables.
- Comparer le tube **MGIT GC** aux tubes de Contrôles Positif et Négatif. Le tube de Contrôle Positif devrait montrer une forte fluorescence (couleur orange vif intense dans le fond du tube et une réflexion orange sur le ménisque). Le tube de Contrôle Négatif devrait montrer une très faible fluorescence.
- Si la fluorescence présente dans le tube **MGIT GC** ressemble plus à celle du Contrôle Positif qu'à celle du Contrôle Négatif, cela représente un résultat de croissance positif. Une fois que le tube **MGIT GC** est positif, il est utilisé pour interpréter les tubes contenant un antibiotique. Les tubes contenant un antibiotique sont interprétés le jour même où le tube **MGIT GC** devient positif et durant deux jours additionnels, tel que décrit à la rubrique "Interprétation des résultats", à condition de ne pas passer quatorze jours.
- Si le tube **GC** ne montre aucune fluorescence et ressemble plus au tube Contrôle Négatif, réincuber les tubes et continuer à les lire quotidiennement jusqu'à douze jours après l'inoculation de tous les tubes. Si le résultat du tube **GC** est équivoque (difficile d'évaluer si une fluorescence est présente), le tube devrait être considéré comme négatif et réincubé.
- Si le tube **GC** n'est pas positif le douzième jour du test, le test est non valide.

Interprétation des résultats du test : interpréter le résultat **MGIT** comme sensible si le tube contenant l'antibiotique n'est PAS fluorescent moins de deux jours après l'observation d'une fluorescence dans le tube **GC**. Interpréter le résultat **MGIT** comme résistant si le tube contenant l'antibiotique est fluorescent le même jour que le tube **GC** ou moins de deux jours après que le tube **GC** soit devenu fluorescent. Lors de l'interprétation de la résistance, finaliser le résultat aussitôt que le tube **MGIT GC** et ceux contenant l'antibiotique deviennent fluorescents.

Contrôle de qualité réalisé par l'utilisateur : Dès la réception d'un nouvel arrivage ou lors d'un nouveau lot d'ampoules **BBL MGIT AST SIRE**, il est suggéré que l'organisme de contrôle ci-après soit inoculé dans des tubes avec antibiotiques (voir "Méthode d'inoculation pour le test de sensibilité"). Lorsque des résultats appropriés sont obtenus, tels que décrits ci-après, les antibiotiques **MGIT AST SIRE** sont prêts à être utilisés pour tester des isolats provenant de patients. Répéter le test si les résultats appropriés ne sont pas obtenus. Si les résultats ne sont toujours pas obtenus après la répétition du test, ne pas utiliser le milieu jusqu'à ce que vous ayez contacté le représentant local de BD.

Souches	GC	MGIT STR	MGIT INH	MGIT RIF	MGIT EMB
<i>M. tuberculosis</i> ATCC 27294	Fluorescence moins de 3–7 jours	Aucune fluorescence moins de 2 jours après GC	Aucune fluorescence moins de 2 jours après GC	Aucune fluorescence moins de 2 jours après GC	Aucune fluorescence moins de 2 jours après GC

Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

LIMITES DE LA METHODE

On doit laisser aux suspensions préparées à partir de milieux solides le temps de repos prescrit avant de les standardiser. Les inoculums préparés à partir de milieux solides sans utiliser un néphélomètre peuvent donner des résultats imprécis dus à une biomasse incorrecte.

Le test ne peut pas être interprété si le contrôle de croissance ne devient pas fluorescent moins de douze jours après l'inoculation.

Utiliser seulement des cultures pures de *M. tuberculosis*. Des cultures contaminées ou qui contiennent des multiples souches de mycobactéries peuvent donner des résultats erronés.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

La performance du Système **MGIT** AST SIRE a été établie grâce à deux évaluations cliniques réalisées dans des laboratoires de centres régionaux de référence pour les tests de sensibilité mycobactérienne et d'hôpitaux universitaires dans des régions de haute incidence de *M. tuberculosis* résistants à l'isoniazide et/ou la rifampicine. Le Système **MGIT** AST a été comparé à la Méthode des Proportions. L'évaluation clinique comparant les résultats obtenus pour INH et RIF par le Système **MGIT** AST et par la Méthode des Proportions sur Milieu 7H10 (0,2 µg/mL pour INH, 1,0 µg/mL pour RIF) comptait 259 isolats cliniques. L'évaluation clinique comparant les résultats obtenus pour STR et EMB par le Système **MGIT** AST et par la Méthode des Proportions portait sur 138 isolats cliniques dont 103 isolats provenant de deux sites sur Milieu 7H10 (2,0 µg/mL pour STR, 5,0 µg/mL pour EMB) et 35 isolats provenant d'un seul site sur Milieu LJ (4,0 µg/mL pour STR, 1,0 µg/mL pour EMB).

Les données ont été analysées et interprétées qualitativement en fonction de la concordance des classes attribuées (S/S ou R/R) ; les pourcentages de concordance suivants ont été obtenus sur l'ensemble des sites : STR = 94,9 %, INH = 93,1 %, RIF = 98,5 %, et EMB = 93,5 %.⁵

Les tableaux 1 et 2 donnent la comparaison entre la performance du Système **MGIT** AST SIRE et celle de la Méthode des Proportions.

Tableau 1

Nombre des isolats donnant les résultats de sensibilité indiqués

Antibiotique	MGIT et MOP R	MOP S MGIT R	MOP R MGIT S	MGIT et MOP S	Total des isolats testés
STR	24	5	2	107	138
INH	70	13	5	171	259
RIF	61	1	3	194	259
EMB	12	5	4	117	138

S = Sensible

R = Résistant

La reproductibilité des résultats du Système **BBL MGIT** AST SIRE a été établie en les comparant aux résultats escomptés pour un ensemble de 5 souches ATCC et de 16 souches qualifiées comprenant plusieurs souches résistantes à chacune des drogues. La reproductibilité des résultats était de : 97 % pour STR, 94 % pour INH, 98 % pour RIF et 94 % pour EMB. La reproductibilité des résultats sur chaque site individuel pour toutes les drogues combinées variait de 92 % à 100 %.

Tableau 2

Caractéristiques de performance (%)

Antibiotique	Sensibilité	Spécificité	Valeur prédictive de Sensibilité	Predictive Value de Résistance	Correspondance des classes
STR	92,3	95,5	98,2	82,8	94,9
INH	93,3	92,9	97,2	84,3	93,1
RIF	95,3	99,5	98,5	98,4	98,5
EMB	75,0	95,9	96,7	70,0	93,5

MATERIEL DISPONIBLE

N° cat.	Description	N° cat.	Description
245119	Trousse BD BBL MGIT AST SIRE, carton de 8 ampoules lyophilisées.	221818	Sérum physiologique normal BD BBL , 5 mL, carton de 10.
245111	Tubes avec Indicateur de croissance mycobactérienne BD BBL MGIT , 4 mL, carton de 25 tubes.	221819	Sérum physiologique normal BD BBL , 5 mL, carton de 100.
245113	Tubes avec Indicateur de croissance mycobactérienne BD BBL MGIT , 4 mL, carton de 100 tubes.	295939	Bouillon BD BBL Middlebrook 7H9, 8 mL, carton de 10.
245116	BD BBL MGIT OADC, 15 mL, carton de 6 ampoules.	297345	Eau BD BBL , 5 mL, carton de 100.

BIBLIOGRAPHIE : voir la rubrique "References" du texte anglais.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site www.bd.com.

BD BBL MGIT AST SIRE System

Zum Testen der Empfindlichkeit von *Mycobacterium tuberculosis* gegen antimykobakterielle Substanzen

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Das **BBL MGIT AST SIRE**-System ist eine von Hand durchgeführte qualitative Schnellprozedur zum Testen der Empfindlichkeit von *Mycobacterium tuberculosis* aus Kulturen gegen Streptomycin, Isoniazid, Rifampin und Ethambutol.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Um an Tuberkulose erkrankte Patienten richtig zu behandeln, ist ein antimykobakterieller Empfindlichkeitstest nötig. Tuberkulose wird gewöhnlich mit mehreren Arzneimitteln behandelt, wobei die primären antimykobakteriellen Arzneimittel, Streptomycin, Isoniazid, Rifampin und/oder Ethambutol, verwendet werden. Es ist wichtig, daß die angewendeten antimykobakteriellen Arzneimittel entsprechende Aktivität, d.h. Empfindlichkeit, gegen *Mycobacterium tuberculosis* aufweisen.

Mycobacterium tuberculosis mit Mehrfachresistenz (MDR-TB) wurde vor kurzer Zeit als schwerwiegendes Problem im öffentlichen Gesundheitswesen erkannt.¹ Resistenz gegen eines der vier primären Arzneimittel, Streptomycin (STR), Isoniazid (INH), Rifampin (RIF) oder Ethambutol (EMB), erschwert die Behandlung der Erkrankung und führt zu höheren Kosten. Für eine wirksame Patientenbehandlung ist der schnelle Nachweis dieser Stämme wesentlich.

Zum Testen der Empfindlichkeit antimykobakterieller Substanzen sind zwei Methoden weit verbreitet. Bei der ersten Methode, als Verhältnismethode bekannt,² wird Agar nach Middlebrook und Cohn 7H10 oder 7H11 verwendet; diese Methode beruht auf Koloniezählungen von Medien mit und ohne Arzneimittel. Eine Resistenz gegen ein Mittel wird nachgewiesen, wenn 1 % oder mehr der Bakterienpopulation gegen die im Test verwendete Arzneimittelkonzentration resistent ist. Ergebnisse liegen im allgemeinen nach 21-tägiger Inkubation vor. Die zweite Methode basiert auf Wachstum in einer Flüssigkultur und dauert normalerweise 3 bis 14 Tage.

Das **BBL MGIT AST**-System liefert das Ergebnis der Empfindlichkeitsprüfung innerhalb von 14 Tagen und ermöglicht einen früheren Beginn einer angemessenen Antibiotikatherapie als die Proportionsmethode.

VERFAHRENSPRINZIP

Das **BBL MGIT**-Indikatorröhrchen für Mykobakterienwachstum enthält eine modifizierte Middlebrook 7H9 Bouillon, die nach Zusatz von **BBL MGIT** OADC-Anreicherung das Wachstum und den Nachweis von Mykobakterien unterstützt (siehe Packungsbeilage für **BBL MGIT**-Produkte). Das **MGIT**-Indikatorröhrchen ist ein 16 x 100 mm-Röhrchen mit rundem Boden. Eingebettet im Silikon am Boden des Röhrchens befindet sich eine fluoreszierende Verbindung. Die fluoreszierende Verbindung spricht auf das Vorliegen von in der Bouillon aufgelöstem Sauerstoff an. Anfänglich ist nur wenig Fluoreszenz nachweisbar, da die große Menge aufgelösten Sauerstoffs die Emissionen der Verbindung absorbiert. Später nehmen die aktiv respirierenden Mikroorganismen den Sauerstoff auf, und mit Hilfe eines UV-Durchleuchtungsgerätes bei 365 nm oder mit einer Langwellen-UV-Lampe kann die Fluoreszenz besser beobachtet werden.

Das **MGIT AST**-System ist ein qualitativer Test, der drei bis vierzehn Tage dauert. Der Test basiert auf dem Vergleich des Wachstums eines *Mycobacterium tuberculosis*-Stammes in einem arzneimittelhaltigen gegenüber einem arzneimittelfreien Röhrchen. **MGIT**-Röhrchen werden ab dem dritten Tag nach der Inokulation täglich beobachtet. Wenn zwei Tage nach der Fluoreszenzentstehung im Wachstumskontrollröhrchen das arzneimittelhaltige Röhrchen keine Fluoreszenz aufweist, deutet das darauf hin, daß der Organismus gegen das betreffende Arzneimittel empfindlich ist. Eine Fluoreszenz im arzneimittelhaltigen Röhrchen innerhalb von zwei Tagen nach der Fluoreszenzentstehung im Wachstumskontrollröhrchen deutet darauf hin, daß der Organismus gegen das betreffende Arzneimittel resistent ist.

REAGENZIEN

Der **MGIT AST SIRE**-Kit enthält jeweils zwei lyophilisierte Fläschchen Streptomycin, Isoniazid, Rifampin und Ethambutol.

Ungefähre Zusammensetzung* pro Fläschchen lyophilisiertem Streptomycin: Streptomycin 160 µg.
Ungefähre Zusammensetzung* pro Fläschchen lyophilisiertem Isoniazid: Isoniazid 20 µg.
Ungefähre Zusammensetzung* pro Fläschchen lyophilisiertem Rifampin: Rifampin 200 µg.
Ungefähre Zusammensetzung* pro Fläschchen lyophilisiertem Ethambutol: Ethambutol 700 µg.

*Abgestimmt und/oder supplementiert auf die geforderten Testkriterien.

HALTBARKEIT DES PRODUKTS

Es kann zu Abweichungen im Erscheinungsbild der lyophilisierten SIRE-Wirkstoffe kommen. Dies ist eine Folge der Lyophilisierung und wirkt sich nicht auf die Produktleistung aus.

Gebrauchsanleitung: Ein lyophilisiertes **BBL MGIT**-Fläschchen Streptomycin wird mit 4 mL sterilem destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituiert. Somit ergibt sich eine Vorratslösung mit 40 µg/mL.

Ein lyophilisiertes **BBL MGIT**-Fläschchen Isoniazid wird mit 4 mL sterilem destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituiert. Somit ergibt sich eine Vorratslösung mit 5 µg/mL.

Ein lyophilisiertes **BBL MGIT**-Fläschchen Rifampin wird mit 4 mL sterilem destilliertem/deionisiertem Wasser rekonstituiert. Somit ergibt sich eine Vorratslösung mit 50 µg/mL.

Ein lyophilisiertes **BBL MGIT**-Fläschchen Ethambutol wird mit 4 mL sterilem destilliertem/deionisiertem Wasser rekonstituiert. Somit ergibt sich eine Vorratslösung mit 175 µg/mL.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-vitro-Diagnostikum.

Laborverfahren mit Mykobakterien erfordern die Verwendung spezieller Geräte und Verfahrensweisen, um die Risiken, die beim Umgang mit mikrobiologischem Material bestehen, zu reduzieren.³ Beim Arbeiten mit klinischen Proben, bei denen keine Aerosole entstehen - wie bei der Herstellung von säurefesten Abstrichen - sind Laborpraktiken und Verfahren sowie Sicherheitsvorrichtungen der Biosicherheitsstufe 2 erforderlich. Alle Arbeiten, bei denen Aerosole entstehen, müssen in einer biologischen Sicherheitswerkbank der Klasse I oder II durchgeführt werden. Verfahren, Behälter und Einrichtungen der biologischen Sicherheitsstufe 3 sind für Laboraktivitäten zur Vermehrung und Manipulation von *M. tuberculosis*- und *M. bovis*-Kulturen einzusetzen. Darüber hinaus erfordern Tierstudien ebenfalls besondere Verfahren.⁴

BBL MGIT AST SIRE

BBL MGIT AST SIRE-Rifampin, lyophilisiert

Achtung



H302+H332 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Einatmen

P261 Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. **P264** Nach Gebrauch gründlich waschen. **P270** Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen. **P271** Nur im Freien oder in gut belüfteten Räumen verwenden. **P301+P312** BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. **P304+P340** BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. **P330** Mund ausspülen. **P501** Inhalt/Behälter gemäß den örtlichen/regionalen/nationalen/internationalen Bestimmungen entsorgen.

Alle betreffenden Packungsbeilagen durchlesen und die darin enthaltenen Anweisungen befolgen, einschließlich der Packungsbeilage für das **BBL MGIT**-Indikatorröhrchen für Mykobakterienwachstum (siehe "Lieferbare Produkte").

Beim Beobachten der Fluoreszenz sollten UV-Schutzbrillen getragen werden. Nur Langwellenbeleuchtung verwenden (365 nm). KEINE KURZWELLEN-UV-BELEUCHTUNG ZUM BEOBACHTEN VERWENDEN.

Die Fläschchen müssen vor Gebrauch auf Anzeichen von Kontamination oder Beschädigung untersucht werden. Röhrchen, die unbrauchbar erscheinen oder vor der Verwendung Fluoreszenz aufweisen, sind zu verwerfen. Röhrchen, die fallengelassen wurden, sorgfältig untersuchen. Bei Anzeichen von Beschädigungen die betreffenden Röhrchen verwerfen.

Zur Vorbereitung von Isolatsuspensionen aus festen Medien (z.B. Löwenstein-Jensen Medium) muß ein Trübungsmesser benutzt werden.

Alle inokulierten **MGIT**-Röhrchen vor dem Verwerfen autoklavieren.

Aufbewahrung: Lyophilisierte Fläschchen nach Erhalt bei 2–8 °C aufbewahren. Rekonstituierte Antibiotikallösungen können eingefroren und bei -20 °C bis zu 6 Monate, jedoch nicht über das ursprüngliche Verfallsdatum hinaus, aufbewahrt werden. Wenn sie einmal aufgetaut sind, müssen sie sofort verwendet werden. Der nicht verwendete Anteil muß entsorgt werden.

PROBENVORBEREITUNG

Alle unten aufgeführten Vorbereitungsschritte beziehen sich auf Kulturen von *Mycobacterium tuberculosis*. Mit geeigneten Identifizierungsverfahren muß das Labor bestätigen, daß das zu testende Isolat eine Reinkultur ist.

Vorbereitung des Isolats aus festen Medien:

1. 4 mL **BBL** Middlebrook 7H9-Bouillon in einem sterilen 16,5 x 128 mm-Röhrchen mit Kappe, das 8 – 10 Glasperlen enthält, zugeben.
2. Von einer bis zu 14 Tage alten Kultur, mit einer sterilen Öse so viele Kolonien wie möglich abschaben, wobei möglichst kein festes Medium mitaufgenommen werden sollte. Die Kolonien in der Middlebrook 7H9-Bouillon suspendieren. Die Suspension muß einen Trübungsstandard höher als 1,0 McFarland aufweisen.
3. Suspension 2–3 min in einem Vortexmischer mischen, um größere Klumpen aufzubrechen.
4. Suspension 20 min ungestört stehen lassen.
5. Den Überstand in ein weiteres steriles 16,5 x 128 mm-Röhrchen mit Kappe überführen (dabei Überführen des Sediments vermeiden) und für weitere 15 min stehen lassen.
6. Den Überstand (der gleichmäßig aussehen und keine Klumpen enthalten sollte) in ein drittes steriles 16,5 x 128 mm-Röhrchen geben.
7. Suspension mit einem Trübungsmesser auf einen Wert von 0,5 McFarland einstellen.
8. 1,0 mL der auf 0,5 McFarland eingestellten Suspension in 4 mL Kochsalzlösung verdünnen (1:5 Verdünnung). Das Inokulum ist jetzt gebrauchsfertig. Weiterverfahren wie in "Inokulationsverfahren für Empfindlichkeitstest" beschrieben.

Vorbereitung aus einem positiven MGIT-Röhrchen:

1. Zur Vorbereitung des Testinokulums soll ein positives **MGIT**-Röhrchen einen Tag nach dem Positivwerden bis zum einschließlich dritten Tag verwendet werden. Von einem Röhrchen, das länger als vier Tage positiv war, sollte eine Subkultur in einem neuen **MGIT**-Röhrchen angelegt werden, und dieses **MGIT**-Röhrchen sollte im Zeitraum von ein bis drei Tagen nach Auftreten einer Positivität verwendet werden. Das **MGIT**-Röhrchen 10 s im Vortexmischer mischen.
2. 1,0 mL Suspension aus dem **MGIT**-Röhrchen in 4 mL sterile Kochsalzlösung (1:5 Verdünnung) pipettieren. Das Inokulum ist jetzt gebrauchsfertig. Weiterverfahren wie in "Inokulationsverfahren für Empfindlichkeitstest" beschrieben.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: **BBL MGIT** AST SIRE-Kit mit jeweils zwei lyophilisierten Fläschchen Streptomycin, Isoniazid, Rifampin und Ethambutol.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: **BBL MGIT**-Indikatorröhrchen für Mykobakterienwachstum, **BBL MGIT** OADC, zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und die für dieses Verfahren benötigten Laborutensilien.

Negative Kontrolle: Ein ungeöffnetes, nicht inokuliertes **MGIT**-Röhrchen wird als negative Kontrolle verwendet.

Vorbereitung der positiven Kontrolle:

1. Die Bouillon aus einem nicht inokulierten **MGIT**-Röhrchen ausgießen.
2. Das Röhrchen als positive Kontrolle beschriften und das Datum vermerken.
3. 0,4%ige Natriumsulfatlösung vorbereiten (0,4 g in 100 mL sterilem, destilliertem oder deionisiertem Wasser).
4. 5 mL Natriumsulfatlösung in das leere **MGIT**-Röhrchen geben. Kappe aufsetzen, festdrücken und Röhrchen 1 h bei Raumtemperatur stehen lassen. Röhrchen nicht inkubieren.
5. Die Röhrchen für die positive Kontrolle können mehrfach verwendet werden. Jedes Röhrchen mit positiver Kontrolle kann bei Aufbewahrung bei Raumtemperatur bis zu 4 Wochen lang verwendet werden.

INOKULATIONSVERFAHREN FÜR MGIT-EMPFINDLICHKEITSTEST:

1. Für jedes Testisolat, fünf **MGIT**-Röhrchen beschriften. Ein Röhrchen als **MGIT**-WK (Wachstumskontrolle), eins als **MGIT**-STR, eins als **MGIT**-INH, eins als **MGIT**-RIF und das letzte als **MGIT**-EMB beschriften.
2. Aseptisch 0,5 mL **MGIT** OADC jedem Röhrchen zugeben.
3. Mit einer Mikropipette aseptisch 100 µL der **MGIT**-STR-Lösung mit 40 µg/mL in das entsprechend beschriftete **MGIT**-Röhrchen pipettieren. Aseptisch 100 µL der **MGIT**-INH-Lösung mit 5 µg/mL in das entsprechend beschriftete **MGIT**-Röhrchen pipettieren. Aseptisch 100 µL der **MGIT**-RIF-Lösung mit 50 µg/mL in das entsprechend beschriftete **MGIT**-Röhrchen pipettieren. Aseptisch 100 µL der **MGIT**-EMB-Lösung mit 175 µg/mL in das entsprechend beschriftete **MGIT**-Röhrchen pipettieren. Dem **MGIT**-WK-Röhrchen dürfen keine Antibiotika zugesetzt werden.

Arzneimittel	Konzentration des Mittels nach Rekonstitution	Zugesetztes Volumen MGIT-Teströhrchen	Abschlusskonzentration in MGIT-Röhrchen
MGIT STR	40 µg/mL	100 µL	0,8* µg/mL
MGIT INH	5 µg/mL	100 µL	0,1* µg/mL
MGIT RIF	50 µg/mL	100 µL	1,0* µg/mL
MGIT EMB	175 µg/mL	100 µL	3,5* µg/mL

*Äquivalent zu den von den CDC³ empfohlenen kritischen Arzneimittelkonzentrationen.

4. Mit einer Pipette, 0,5 mL der 1:5 verdünnten Organismussuspension (siehe "Probenvorbereitung") in jedes der fünf **MGIT**-Röhrchen geben. Die Röhrchen mit einem tuberkelbazillenschädigenden Desinfektionsmittel abwischen. Röhrchen wieder fest verschließen und gut durchmischen.
5. Die beschrifteten **MGIT**-Röhrchen bei 37 °C inkubieren.
6. 0,1 mL der auf 1:5 verdünnten Organismussuspension auf einer **Trypticase** Sojaagarplatte mit 5 % Schafblut (TSA II) ausstreichen. Platte in eine Plastiktüte einschließen und bei 35–37 °C inkubieren.
7. Die Blutagarplatte nach 48 h auf bakterielle Kontamination untersuchen.
8. Zeigt die Blutagarplatte kein Wachstum, weiter wie in "Ablesen der **MGIT**-Röhrchen" beschrieben verfahren.
9. Zeigt die Blutagarplatte Wachstum, die **MGIT**-Röhrchen entsorgen und den Test mit einer Reinkultur wiederholen.

ABLESEN DER MGIT-RÖHRCHEN:

1. Am dritten Tag nach der Inokulation die **MGIT**-Röhrchen aus dem Inkubator nehmen und mit einem UV-Durchleuchtungsgerät bei 365 nm oder einer Langwellen-UV-Lampe ablesen.

HINWEIS: Es ist wichtig, die AST-Röhrchen vom 3. Tag an täglich abzulesen, bis die Ergebnisse ausgewertet werden können.

2. Das **MGIT**-WK-Röhrchen mit den positiven und negativen Kontrollröhrchen vergleichen. Die positive Kontrolle sollte stark fluoreszieren (sehr helle orange Farbe am Röhrchenboden und eine orangefarbige Reflexion am Meniskus). Die negative Kontrolle sollte nur eine geringe Fluoreszenz aufweisen.

- Falls die Fluoreszenz des **MGIT**-WK-Röhrchens mehr der positiven als der negativen Kontrolle gleicht, ist es positiv auf Wachstum. Sobald das **MGIT**-WK-Röhrchen positiv ist, wird es zur Interpretation der arzneimittelhaltigen Röhrchen verwendet. Die arzneimittelhaltigen Röhrchen werden am selben Tag der Positivität des **MGIT**-WK-Röhrchens oder bis zu zwei Tagen, aber nicht nach mehr als vierzehn Tagen, nachdem es positiv wird, interpretiert; siehe "Auswertung der Testergebnisse".
- Falls das WK-Röhrchen keine Fluoreszenz zeigt und mehr der negativen Kontrolle gleicht, die Röhrchen erneut inkubieren und das tägliche Ablesen bis zu zwölf Tagen nach Inokulation aller Röhrchen fortsetzen. Falls das WK-Ergebnis zweideutig ist, (d.h., die Feststellung einer orangefarbenen Fluoreszenz ist schwierig), sollte das Röhrchen als negativ interpretiert und erneut inkubiert werden.
- Falls das WK-Röhrchen am zwölften Tag negativ ist, ist der Test ungültig.

Auswertung der Testergebnisse: Das **MGIT**-Ergebnis wird als "Empfindlich" interpretiert, wenn das arzneimittelhaltige Röhrchen am Tag des Auftretens oder innerhalb von zwei Tagen nach dem Auftreten der Fluoreszenz im WK-Röhrchen NICHT fluoresziert. Das **MGIT**-Ergebnis wird als "Resistent" interpretiert, wenn das arzneimittelhaltige Röhrchen am Tag des Auftretens oder innerhalb von zwei Tagen nach dem Auftreten der Fluoreszenz im WK-Röhrchen fluoresziert. Bei der Auswertung der Resistenz muß ein Ergebnis abgelesen werden, sobald das **MGIT**-WK-Röhrchen und die arzneimittelhaltigen Röhrchen fluoreszieren.

Qualitätskontrolle durch den Anwender: Es wird empfohlen, daß bei Erhalt einer neuen Sendung oder Chargennummer von **MGIT** AST SIRE-Kit-Röhrchen, die nachstehend aufgeführten Kontrollorganismus in arzneimittelhaltige Röhrchen zu inokulieren (siehe "Inokulationsverfahren für Empfindlichkeitstest"). Wenn die unten gezeigten, korrekten Ergebnisse beobachtet werden, können die **MGIT** AST SIRE-Arzneimittel zum Testen von Patientenisolaten verwendet werden. Sollten die Ergebnisse nicht mit der folgenden Tabelle übereinstimmen, ist der Test zu wiederholen. Sollten nach Wiederholung des Tests die Ergebnisse immer noch nicht korrekt sein, Medien nicht verwenden und Vertreter von BD anrufen.

Stamm	WK	MGIT STR	MGIT INH	MGIT RIF	MGIT EMB
<i>M. tuberculosis</i>	Fluoreszenz	Keine	Keine	Keine	Keine
ATCC 27294	innerhalb von 3-7 Tagen	Fluoreszenz innerhalb von 2 Tagen der WK	Fluoreszenz innerhalb von 2 Tagen der WK	Fluoreszenz innerhalb von 2 Tagen der WK	Fluoreszenz innerhalb von 2 Tagen der WK

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Anwender sollten die relevanten CLSI-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Aus festen Medien bereitgestellte Suspensionen müssen sich vor der Standardisierung die vorgeschriebene Zeit absetzen. Aus festen Medien und ohne Anwendung eines Trübungsmessers bereitgestellte Inokula können aufgrund einer inkorrekten Biomasse zu falschen Ergebnissen führen.

Der Test ist nicht auswertbar, wenn die Wachstumskontrolle nicht innerhalb von zwölf Tagen nach der Inokulation fluoresziert.

Nur Reinkulturen von *M. tuberculosis* verwenden. Kontaminierte Kulturen oder Kulturen mit mehreren Stämmen von Mykobakterien können zu falschen Ergebnissen führen.

LEISTUNGSMERKMALE

Die Leistung des **MGIT** AST SIRE-Systems wurde bei zwei klinischen Untersuchungen nachgewiesen, die in regionalen Referenzzentren für mykobakterielle Empfindlichkeitstests durchgeführt wurden und in Labors, die jeweils mit einem Universitätsklinikum assoziiert sind und die sich in einem Bezirk mit sehr häufig auftretender Resistenz von *M. tuberculosis* gegen Isoniazid und/oder Rifampin befinden. Das **MGIT** AST-System wurde mit der Verhältnismethode verglichen. Der Vergleich der INH- und RIF-Ergebnisse zwischen dem **MGIT** AST-System und der Verhältnismethode, wobei 7H10-Medien (0,2 µg/mL für INH und 1,0 µg/mL für RIF) verwendet wurden, umfaßte bei der klinischen Untersuchung in vier Zentren 259 klinische Isolate. Der Vergleich von STR- und EMB-Ergebnissen zwischen dem **MGIT** AST-System und der Verhältnismethode umfaßte bei der klinischen Untersuchung 138 klinische Isolate: Dabei verwendeten 103 Isolate, die von zwei Zentren stammten, 7H10-Medien (0,2 µg/mL für STR und 5,0 µg/mL für EMB), und 35 Isolate, die von einem Zentrum stammten, LJ-Medien (4,0 µg/mL für STR und 1,0 µg/mL für EMB).

Die Daten wurden analysiert und qualitativ als E/E (empfindlich/empfindlich) oder R/R (resistent/resistent) interpretiert. Die gesamte prozentuale Übereinstimmung (sämtliche Zentren) fiel dabei folgendermaßen aus: STR = 94,9 %, INH = 93,1 %, RIF = 98,5 %, und EMB = 93,5 %.⁵

Die Tabellen 1 und 2 stellen die Leistung zwischen dem **MGIT** AST SIRE-System und der Verhältnismethode vergleichsweise dar.

Tabelle 1

Anzahl an Isolaten mit den jeweiligen Empfindlichkeitsergebnissen					
Anzweimittel	MGIT und VM	VM-E MGIT R	VM-R MGIT E	MGIT und VM-E	Summe getesteter Isolate
STR	24	5	2	107	138
INH	70	13	5	171	259
RIF	61	1	3	194	259
EMB	12	5	4	117	138

E = Empfindlich R = Resistent

Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse des MGIT AST SIRE-Systems wurde mit den erwarteten Ergebnissen aus einer Reihe von 5 ATCC-Stämmen und 16 qualifizierten Stämmen, die resistente Stämme gegen jedes dieser Arzneimittel beinhalten, verglichen. Die Reproduzierbarkeitsergebnisse lagen bei: 97 % für STR, 94 % für INH, 98 % für RIF und 94 % für EMB. Die Reproduzierbarkeitsergebnisse für einzelne Zentren lagen für sämtliche Arzneimittel zwischen 92 % und 100 %.

Tabelle 2

Leistungsmerkmale (%)					
Anzweimittel	Empfindlichkeit	Spezifität	Vorhersagewert für Empfindlichkeit	Vorhersagewert für Resistenz	Kategorieübereinstimmung
STR	92,3	95,5	98,2	82,8	94,9
INH	93,3	92,9	97,2	84,3	93,1
RIF	95,3	99,5	98,5	98,4	98,5
EMB	75,0	95,9	96,7	70,0	93,5

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr.	Beschreibung	Best.-Nr.	Beschreibung
245119	BD BBL MGIT AST SIRE-Kit, Karton mit 8 lyophilisierten Fläschchen.	221818	BD BBL Normale Kochsalzlösung, 5 mL, Karton mit 10.
245111	BD BBL MGIT-Indikatorröhrchen für Mykobakterienwachstum, 4 mL, Karton mit 25 Röhrchen.	221819	BD BBL Normale Kochsalzlösung, 5 mL, Karton mit 100.
245113	BD BBL MGIT-Indikatorröhrchen für Mykobakterienwachstum, 4 mL, Karton mit 100 Röhrchen.	2295939	BD BBL Middlebrook 7H9 Bouillon, 8 mL, Karton mit 10.
245116	BD BBL MGIT OADC, 15 mL, Karton mit 6 Fläschchen.	297345	BD BBL Wasser, 5 mL, Karton mit 100.

LITERATURNACHWEIS: S. "References" im englischen Text.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder www.bd.com.

BD Sistema BBL MGIT AST SIRE

Per il test di sensibilità agli antimicobatteri di *Mycobacterium tuberculosis*

Italiano

USO PREVISTO

Il sistema **BBL MGIT AST SIRE** è una procedura manuale rapida di tipo qualitativo, per la prova di sensibilità di *Mycobacterium tuberculosis* a streptomina, isoniazide, rifampicina ed etambutolo, a partire da coltura.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

La prova di sensibilità antimicobatterica è necessaria per la terapia specifica dei pazienti con tubercolosi. La terapia della tubercolosi viene di solito effettuata per mezzo di molteplici farmaci tra cui le sostanze antimicobatteriche di tipo primario: la streptomina, l'isoniazide, la rifampicina e/o l'etambutolo. È essenziale che i farmaci antimicobatterici utilizzati mostrino attività specifica verso *Mycobacterium tuberculosis*, dovuta a sensibilità.

Mycobacterium tuberculosis (MDR-TB) ha recentemente assunto le dimensioni di un problema di igiene pubblica.¹ La resistenza a uno dei quattro farmaci primari, streptomina (STR), isoniazide (INH), rifampicina (RIF) ed etambutolo (EMB), rende ancora più seria la malattia e più costosa la guarigione. L'individuazione rapida di questi ceppi è di importanza critica ai fini della somministrazione di una terapia efficace.

Due sono i metodi più comunemente usati per il test di sensibilità agli antimicobatteri. Il primo, conosciuto come Metodo della Proporzionazione,² usa l'Agar Middlebrook e Cohn 7H10 o 7H11. Esso mette a confronto il numero di colonie presenti in terreni contenenti farmaci rispetto ad altri che ne sono privi. Viene determinata la resistenza ad un farmaco allorché l'1% o più della popolazione è resistente alla concentrazione del farmaco testato. Risultati attendibili vengono in genere ottenuti dopo 21 giorni di incubazione. Il secondo metodo è basato sulla crescita da coltura su terreno liquido e richiede di solito da 3 a 14 giorni.

Il sistema **BBL MGIT AST** consente di ottenere il risultato della sensibilità entro 14 giorni e di iniziare la terapia antibiotica più rapidamente rispetto al metodo delle proporzioni.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

La provetta **BBL MGIT**, indicatore di crescita dei Micobatteri, è una provetta contenente Brodo modificato Middlebrook 7H9 che, quando addizionato con il supplemento OADC **BBL MGIT**, favorisce la crescita e il rilevamento dei Micobatteri (vedere il foglietto illustrativo dei prodotti **BBL MGIT**). La provetta **MGIT** contiene un composto fluorescente incapsulato nel silicone posto sul fondo di una provetta circolare da 16 x 100 mm. Il composto fluorescente è sensibile alla presenza dell'ossigeno disciolto nel brodo. All'inizio, l'alta concentrazione di ossigeno contenuto nel terreno riduce le emissioni del composto e si nota solo una debole fluorescenza. In un secondo tempo, i microrganismi che respirano attivamente consumano l'ossigeno e permettono di osservare la fluorescenza usando un transilluminatore UV da 365 nm o una lampada UV ad onde lunghe.

Il sistema **MGIT AST** è un test qualitativo che richiede da tre a quattordici giorni. Il test è basato sulla crescita del ceppo *Mycobacterium tuberculosis* in una provetta contenente antibiotico rispetto a una provetta che ne è priva. Le provette **MGIT** vengono controllate quotidianamente a partire dal terzo giorno d'inoculo. L'assenza di fluorescenza in una provetta col farmaco al secondo giorno dall'apparizione della fluorescenza nella provetta di Controllo Crescita, indica la sensibilità dell'organismo a tale farmaco. La fluorescenza in una provetta col farmaco durante o entro il secondo giorno di fluorescenza nella provetta di Controllo Crescita, è indicazione di resistenza dell'organismo a tale farmaco.

REAGENTI

Ogni kit **MGIT AST SIRE** contiene due fiale liofilizzate di streptomina, due di isoniazide, due di rifampicina e due di etambutolo.

Formula approssimata* per fiala di streptomina liofilizzata: Streptomina..... 160 µg.

Formula approssimata* per fiala di isoniazide liofilizzata: Isoniazide 20 µg.

Formula approssimata* per fiala di rifampicina liofilizzata: Rifampicina 200 µg.

Formula approssimata* per fiala di etambutolo liofilizzato: Etambutolo 700 µg.

*Controllata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

DETERIORAMENTO DEL PRODOTTO

A causa del processo di liofilizzazione, può verificarsi una variazione dell'aspetto dei farmaci **SIRE** liofilizzati, che non altera le prestazioni dei prodotti.

Istruzioni per l'uso: Ricostituire ogni fiala liofilizzata di streptomina **BBL MGIT** con 4 mL di acqua distillata/deionizzata sterile per ottenere uno stock di soluzione di 40 µg/mL.

Ricostituire ogni fiala liofilizzata di isoniazide **BBL MGIT** con 4 mL di acqua distillata/deionizzata sterile per ottenere uno stock di soluzione di 5 µg/mL.

Ricostituire ogni fiala liofilizzata di rifampicina **BBL MGIT** con 4 mL di acqua distillata/deionizzata sterile per ottenere uno stock di soluzione di 50 µg/mL.

Ricostituire ogni fiala liofilizzata di etambutolo **BBL MGIT** con 4 mL di acqua distillata/deionizzata sterile per ottenere uno stock di soluzione di 175 µg/mL.

Avvertenze e precauzioni:

Per uso diagnostico *in vitro*.

I procedimenti di laboratorio che riguardano i Micobatteri richiedono tecniche e attrezzature idonee a ridurre al minimo il rischio biologico.³ Per le manipolazioni di campioni clinici (es. preparazione di strisci acido-resistenti) che non comportano produzione di aerosol, si richiede l'impiego di apparecchiature e strutture di contenimento e l'adozione delle norme di sicurezza biologica di livello 2. Tutte le procedure che comportano la generazione di aerosol devono essere eseguite sotto cappa di sicurezza biologica di Classe I o II. Per le attività di laboratorio che comportano la propagazione e manipolazione di colture di *M. tuberculosis* e *M. bovis*, si richiede l'impiego di apparecchiature e strutture di contenimento e l'adozione delle norme di sicurezza biologica di livello 3. Anche gli studi su animali richiedono procedure speciali.⁴

BBL MGIT AST SIRE

BBL MGIT AST SIRE-Rifampin, liofilizzato

Attenzione



H302+H332 Nocivo se ingerito o inalato

P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. **P264** Lavarsi accuratamente dopo l'uso. **P270** Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso. **P271** Utilizzare soltanto all'aperto o in luogo ben ventilato. **P301+P312** IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. **P304+P340** IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. **P330** Sciacquare la bocca. **P501** Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alle normative locali/regionali/nazionali/internazionali.

Leggere e seguire le istruzioni contenute nei relativi foglietti illustrativi, compreso quello per le provette **BBL MGIT**, indicatore di crescita dei Micobatteri (vedere "Disponibilità").

Portare occhiali protettivi UV quando si osserva la fluorescenza e usare solamente luce ad onde lunghe (365 nm). **NON USARE LAMPADE UV AD ONDE CORTE.**

Prima dell'uso, esaminare ogni provetta, per assicurarsi che non vi sia traccia di contaminazione o danneggiamento. Eliminare tutte le provette non intatte o che presentano fluorescenza prima dell'uso. Esaminare con attenzione le provette cadute ed eliminarle se risultano danneggiate.

È necessario usare un nefelometro per la preparazione delle sospensioni di isolati a partire da terreni solidi (per es., il Terreno Lowenstein-Jensen).

Sterilizzare in autoclave tutte le provette **MGIT** inoculate prima di eliminarle.

Istruzioni per la conservazione: Al ricevimento, conservare le fiale liofilizzate a 2–8 °C. Una volta ricostituite, le soluzioni di antibiotico possono essere congelate e conservate a -20 °C per un massimo di 6 mesi, ma non oltre la data di scadenza originaria. Una volta scongelate, usare immediatamente. Eliminare le porzioni non utilizzate.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Ogni preparato specificato sotto proviene da colture di *Mycobacterium tuberculosis*. Deve essere data conferma da laboratorio, mediante tecniche di identificazione idonee, che l'isolato da testare è una coltura pura.

Preparazione dell'isolato a partire da terreno solido:

1. Aggiungere 4 mL di Brodo Middlebrook 7H9 **BBL** in una provetta sterile da 16,5 x 128 mm con tappo, contenente 8–10 perline di vetro.
2. Usando un'ansa sterile, prelevare quante più colonie possibile da una coltura in crescita dell'età di 14 giorni al massimo, facendo attenzione a non levar via terreno solido. Sospendere le colonie nel Brodo Middlebrook 7H9. La sospensione dovrebbe avere una torbidità superiore allo standard McFarland 1,0.
3. Vortexare la sospensione per 2–3 min per rompere i granuli più grossi.
4. Lasciar riposare la sospensione per 20 min senza toccarla.
5. Trasferire il fluido supernatante in un'altra provetta sterile da 16,5 x 128 mm con tappo (evitare di trasferire il sedimento) e lasciar riposare per altri 15 min.
6. Trasferire il fluido supernatante (dovrebbe essere omogeneo, privo di grumi) in una terza provetta sterile da 16,5 x 128 mm.
7. Col nefelometro regolare la torbidità della sospensione allo standard McFarland 0,5.
8. Diluire 1,0 mL della sospensione regolata al McFarland 0,5 in 4 mL di soluzione salina sterile (diluizione 1:5). L'inoculo è ora pronto. Proseguire con "Procedura d'inoculo per il test di sensibilità".

Preparazione a partire da una provetta MGIT positiva:

1. Per la preparazione dell'inoculo per il test, va usata una provetta **MGIT** positiva, a partire dal primo dopo la comparsa della positività, fino al terzo giorno dopo. Una provetta positiva da più di quattro giorni deve essere sottoposta a subcoltura in una provetta **MGIT** fresca e usata entro uno–tre giorni dalla positività della stessa provetta **MGIT**. Vortexare la provetta **MGIT** per 10 s.
2. Con una pipetta, trasferire 1,0 mL di sospensione dalla provetta **MGIT** in 4 mL di soluzione salina sterile (diluizione 1:5). L'inoculo è ora pronto. Proseguire con "Procedura d'inoculo per il test di sensibilità."

PROCEDURA

Materiali forniti: kit **BBL MGIT AST SIRE** contenente due fiale liofilizzate di streptomina, due di isoniazide, due di rifampicina e due di etambutolo.

Materiali richiesti ma non forniti: provette **BBL MGIT** indicatori di crescita dei Micobatteri, OADC **BBL MGIT** e, terreni di coltura ausiliari, reagenti, organismi di controllo qualità e attrezzature da laboratorio necessarie per questa procedura.

Controllo Negativo: Per il Controllo Negativo viene usata una provetta **MGIT** chiusa e non inocolata.

Preparazione del Controllo Positivo:

1. Eliminare il brodo di coltura da una provetta **MGIT** non inocolata.
2. Etichettare la provetta come Controllo Positivo e registrare la data.
3. Preparare una soluzione di solfito di sodio allo 0,4% (0,4 g in 100 mL di acqua distillata o deionizzata sterile).
4. Versare 5 mL di soluzione di solfito di sodio nella provetta **MGIT** vuota. Riattivare bene il tappo e lasciare a temperatura ambiente per 1 h. Non incubare.
5. Le provette del Controllo Positivo possono essere usate più volte. Ogni provetta del Controllo Positivo può essere usata per un periodo massimo di 4 settimane se conservata a temperatura ambiente.

Procedura d'inoculo per il test di sensibilità MGIT:

1. Etichettare cinque provette **MGIT** per ogni isolato da saggiare. Etichettarne una come CC (Controllo Crescita) **MGIT**, una come STR **MGIT**, una come INH **MGIT**, una come RIF **MGIT** e l'ultima come EMB **MGIT**.
2. Aggiungere in modo sterile 0,5 mL di OADC **MGIT** in ogni provetta.
3. Usando una micropipetta, trasferire in modo sterile 100 µL di soluzione STR **MGIT** da 40 µg/mL nella provetta **MGIT** apposita. Trasferire in modo sterile 100 µL di soluzione INH **MGIT** da 5 µg/mL nella provetta **MGIT** apposita. Trasferire in modo sterile 100 µL di soluzione RIF **MGIT** da 50 µg/mL nella provetta **MGIT** apposita. Trasferire in modo sterile 100 µL di soluzione EMB **MGIT** da 175 µg/mL nella provetta **MGIT** apposita. Non va versato alcun antibiotico nella provetta CC **MGIT**.

Farmaco	Concentrazione di farmaco dopo la ricostituzione	Volume aggiunto alle provette MGIT per il test	Concentrazione finale nelle provette MGIT
STR MGIT	40 µg/mL	100 µL	0,8* µg/mL
INH MGIT	5 µg/mL	100 µL	0,1* µg/mL
RIF MGIT	50 µg/mL	100 µL	1,0* µg/mL
EMB MGIT	175 µg/mL	100 µL	3,5* µg/mL

*Equivalente all'esatta concentrazione di farmaco raccomandata dai CDC.³

- Usando una pipetta, inoculare 0,5 mL di sospensione batterica 1:5 (vedere "Preparazione dei campioni") in ognuna delle cinque provette **MGIT**. Pulire le provette con disinfettante tuberculocida. Riavvitare bene le provette e mescolare accuratamente.
- Incubare a 37 °C le provette **MGIT** etichettate.
- Inoculare 0,1 mL di sospensione batterica 1:5 su una piastra di Agar soia **Trypticase** con sangue di montone al 5% (TSA II). Mettere in un contenitore di plastica. Incubare a 35–37 °C.
- Verificare la contaminazione batterica sull'agar sangue dopo 48 h.
- Se non si nota alcuna crescita sulla piastra di agar sangue, procedere a "Lettura dei risultati dalle provette **MGIT**".
- Se si nota qualche crescita sull'agar sangue, eliminare le provette **MGIT** e ripetere il test con colture pure.

Letture dei risultati dalle provette MGIT:

- Togliere le provette **MGIT** dall'incubatore al terzo giorno a partire dall'inoculo e leggere con un transilluminatore UV da 365 nm o una lampada UV ad onde lunghe.
NOTA: È importante leggere dalle provette **MGIT** ogni giorno, a partire dal Giorno 3, fino a quando è possibile l'interpretazione dei risultati.
- Confrontare la provetta **CC MGIT** con le provette del Controllo Positivo e Negativo. Il Controllo Positivo dovrebbe esibire una forte fluorescenza (color arancione vivo alla base della provetta e riflesso arancione sul menisco). La provetta del Controllo Negativo dovrebbe presentare una fluorescenza molto debole.
- Se la fluorescenza prodotta nella provetta **CC MGIT** è più simile a quella del Controllo Positivo che non al Negativo, la provetta è positiva. Una volta che la provetta **CC MGIT** viene definita positiva, essa viene usata per interpretare le provette con farmaco. Le provette con farmaco vengono lette lo stesso giorno in cui la **CC MGIT** è positiva e per altri due giorni, come indicato nella sezione "Interpretazione dei risultati del test", fino e non oltre il quattordicesimo giorno.
- Se la provetta **CC** non presenta alcuna fluorescenza ed è più simile al Controllo Negativo, incubare le provette nuovamente e continuare a leggere quotidianamente fino a dodici giorni dall'inoculo di tutte le provette. Se il risultato del **CC** è equivoco (difficile determinare se sia presente una fluorescenza di color arancione), bisogna considerare la provetta negativa e incubarla di nuovo.
- Se la provetta **CC** non è positiva entro il dodicesimo giorno del test, il test stesso non è valido.

Interpretazione dei risultati del test: Interpretare il risultato **MGIT** come Sensibile se la provetta contenente antibiotico **NON** esibisce fluorescenza entro due giorni dall'apparire della fluorescenza nella provetta **CC**. Interpretare il risultato **MGIT** come Resistente se la provetta contenente antibiotico esibisce fluorescenza durante o entro il secondo giorno dall'apparire della fluorescenza nella provetta **CC**. Nella determinazione della resistenza, ultimare il risultato non appena la provetta **CC MGIT** e quelle contenenti antibiotico esibiscono fluorescenza.

Controllo di qualità per l'utilizzatore: Al ricevimento di una nuova consegna o di un nuovo numero di lotto di provette **BBL MGIT AST SIRE**, si consiglia di inoculare l'organismo di controllo, indicato sotto, in provette contenenti farmaco (vedere "**Procedura d'inoculo per il test di sensibilità**"). Una volta ottenuti i risultati richiesti, come indicato nella tabella sotto, i farmaci **MGIT AST SIRE** sono pronti per essere usati per testare campioni clinici. Ripetere il test se non si ottengono i risultati appropriati. Se non si è in grado di pervenire ai risultati appropriati, pur ripetendo il test, non usare i terreni finché non si è contattato il rappresentante di zona della BD.

Ceppi	CC	STR MGIT	INH MGIT	RIF MGIT	EMB MGIT
<i>M. tuberculosis</i> ATCC 27294	Fluorescenza entro 3–7 giorni	Nessuna fluorescenza entro 2 giorni dal CC	Nessuna fluorescenza entro 2 giorni dal CC	Nessuna fluorescenza entro 2 giorni dal CC	Nessuna fluorescenza entro 2 giorni dal CC

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI in merito.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Le sospensioni provenienti da terreni solidi devono essere lasciate decantare per il numero di volte prescritto, prima della taratura. Gli inoculi preparati da terreni solidi senza far uso di un nefelometro possono dare risultati non attendibili a causa della biomassa non corretta.

Il test non è interpretabile se il Controllo di Crescita non esibisce fluorescenza entro dodici giorni dall'inoculo.

Usare solo colture pure di *M. tuberculosis*. Le colture contaminate o contenenti ceppi multipli di micobatteri possono dare risultati errati.

CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

La performance del sistema **MGIT AST SIRE** è stata stabilita mediante due valutazioni cliniche condotte presso centri di riferimento regionale per la prova di sensibilità antimicobatterica e presso laboratori di cliniche universitarie situate in zone ad alta prevalenza di *M. tuberculosis* resistente all'isoniazide e/o alla rifampicina. Il sistema **MGIT AST** è stato messo a confronto col Metodo della Proporzione. Per la valutazione clinica, derivata dal confronto operato in quattro sedi tra i risultati di INH e RIF col sistema **MGIT AST** e col Metodo della Proporzione, sono stati usati Terreni di coltura 7H10 (INH a 0,2 µg/mL, RIF a 1,0 µg/mL) e sono stati studiati 259 isolati clinici. La valutazione clinica che ha messo a confronto i risultati di STR e EMB col sistema **MGIT AST** e col Metodo della Proporzione, si è basata sull'esame di 138 isolati clinici: 103 isolati provenienti da due sedi che utilizzavano Terreni 7H10 (STR a 2,0 µg/mL, EMB a 5,0 µg/mL) e 35 isolati provenienti da una sede che usava Terreni LJ (STR a 4,0 µg/mL, EMB a 1,0 µg/mL).

I dati sono stati analizzati e interpretati qualitativamente ai fini della concordanza di categoria (S/S oppure R/R) e si è rilevata una concordanza globale (sedi combinate) nelle seguenti percentuali: STR = 94,9%, INH = 93,1%, RIF = 98,5% e EMB = 93,5%.⁵

Le Tabelle 1 e 2 mostrano la performance comparata tra il sistema **MGIT AST SIRE** e il Metodo della Proporzione.

Tabella 1

Numero di isolati con indicazione dei risultati di sensibilità					
Farmaco	MGIT e MdP R	MdP S MGIT R	MdP R MGIT S	MGIT e MdP S	Totale isolati testati
STR	24	5	2	107	138
INH	70	13	5	171	259
RIF	61	1	3	194	259
EMB	12	5	4	117	138

S = Sensibile R = Resistente

I risultati delle prove sul sistema **MGIT AST SIRE** per la riproducibilità sono stati comparati ai risultati attesi per una batteria di 5 ceppi ATCC e 16 ceppi campione tra cui parecchi ceppi resistenti a ognuno dei farmaci. I risultati di riproducibilità sono stati: 97% per STR, 94% per INH, 98% per RIF e 94% per EMB. I risultati di riproducibilità nei singoli centri hanno avuto un range di valori tra il 92% e il 100% per quanto riguarda i farmaci combinati.

Tabella 2

Caratteristiche di performance (%)

Farmaco	Sensibilità	Specificità	Valore predittivo di sensibilità	Valore predittivo di resistenza	Concordanza de categoria
STR	92,3	95,5	98,2	82,8	94,9
INH	93,3	92,9	97,2	84,3	93,1
RIF	95,3	99,5	98,5	98,4	98,5
EMB	75,0	95,9	96,7	70,0	93,5

DISPONIBILITÀ

N° di cat.	Descrizione	N° di cat.	Descrizione
245119	Kit BD BBL MGIT AST SIRE , confezione da 8 fiale liofilizzate.	221818	Soluzione salina normale BD BBL , 5 mL, confezione da 10.
245111	Provette BD BBL MGIT indicatori di crescita dei Micobatteri, 4 mL, confezione da 25 provette.	221819	Soluzione salina normale BD BBL , 5 mL, confezione da 100.
245113	Provette BD BBL MGIT indicatori di crescita dei Micobatteri, 4 mL, confezione da 100 provette.	295939	Brodo BD BBL Middlebrook 7H9, 8 mL, confezione da 10.
245116	OADC BD BBL MGIT , 15 mL, confezione da 6 fiale.	297345	Acqua BD BBL , 5 mL, confezione da 100.

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito www.bd.com.

BD Sistema BBL MGIT AST SIRE

Para la prueba de sensibilidad antimicobacteriana de *Mycobacterium tuberculosis*

Español

USO PREVISTO

El sistema **BBL MGIT AST SIRE** es un procedimiento cualitativo manual rápido para la prueba de sensibilidad de *Mycobacterium tuberculosis* a la estreptomina, isoniacida, rifampicina y etambutol, a partir de un cultivo.

RESUMEN Y EXPLICACION

La prueba de sensibilidad antimicobacteriana es necesaria para el tratamiento adecuado de pacientes con tuberculosis. Por lo general, el tratamiento para la tuberculosis consiste en un régimen de medicamentos múltiples con los antibióticos antimicobacterianos principales, estreptomina, isoniacida, rifampicina y/o etambutol. Es importante que los medicamentos antimicobacterianos empleados presenten la actividad apropiada contra la *Mycobacterium tuberculosis*, es decir, sensibilidad.

La *Mycobacterium tuberculosis* resistente a varios antibióticos (MDR-TB) se ha convertido recientemente en un serio problema para la salud pública.¹ La resistencia a cualquiera de los cuatro antibióticos más importantes, la estreptomina (STR), la isoniacida (INH), la rifampicina (RIF) y el etambutol (EMB), hace más difícil y costoso el tratamiento de la enfermedad. Para el tratamiento efectivo del paciente, es crucial la detección rápida de estas cepas.

Dos métodos han sido utilizados ampliamente para las pruebas de sensibilidad antimicobacteriana. El primer método, conocido como el Método de las Proporciones,² utiliza los Agares Middlebrook y Cohn 7H10 ó 7H11. Este método compara el número de colonias en medios con y sin antibiótico. La resistencia a un antibiótico se detecta cuando el 1% o más de una población micobacteriana es resistente a la concentración del antibiótico analizado. Generalmente, los resultados pueden obtenerse después de 21 días de incubación. El segundo método está basado en el crecimiento en cultivo líquido y tarda generalmente de 3 a 14 días.

El sistema **BBL MGIT AST** proporciona el resultado de sensibilidad en un plazo de 14 días; esto permite que el tratamiento antibiótico apropiado se inicie antes que con el método de las proporciones.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El tubo **BBL MGIT** indicador de crecimiento micobacteriano es un tubo que contiene un Caldo Middlebrook 7H9 modificado. Este caldo favorece el crecimiento y la detección de micobacterias cuando se suplementa con el medio de enriquecimiento **BBL MGIT OADC** (vea el prospecto del paquete de los productos **BBL MGIT**). El tubo **MGIT** contiene un compuesto fluorescente embebido en silicona que está en la parte inferior de un tubo de 16 x 100 mm de fondo redondo. El compuesto fluorescente es sensible a la presencia de oxígeno disuelto en el caldo. La concentración inicial del oxígeno disuelto apaga las emisiones procedentes del compuesto y se puede detectar muy poca fluorescencia. Más tarde, los microorganismos que respiran activamente consumen el oxígeno y permiten que se observe más fluorescencia mediante el uso de un transiluminador ultravioleta de 365 nm o luz ultravioleta de onda larga.

El sistema **MGIT AST** es una prueba cualitativa que tarda de tres a catorce días. La prueba se basa en la comparación del crecimiento de la cepa *Mycobacterium tuberculosis* en un tubo con antibiótico con otro sin él. Los tubos **MGIT** son observados diariamente a partir del tercer día después de la inoculación. La ausencia de fluorescencia en el tubo con antibiótico dos días después de la aparición de fluorescencia en el tubo de control de crecimiento indica que el organismo es sensible a ese antibiótico. La presencia de fluorescencia en un tubo con antibiótico, dentro de los dos días de aparición de fluorescencia en el tubo de control de crecimiento indica que el organismo es resistente a ese antibiótico.

REACTIVOS

El equipo **MGIT AST SIRE** contiene dos frascos de estreptomina liofilizada, dos frascos de isoniacida liofilizada, dos frascos de rifampicina liofilizada y dos frascos de etambutol liofilizado.

Fórmula aproximada* por frasco de estreptomina liofilizada: Estreptomina 160 µg.

Fórmula aproximada* por frasco de isoniacida liofilizada: Isoniacida 20 µg.

Fórmula aproximada* por frasco de rifampicina liofilizada: Rifampicina 200 µg.

Fórmula aproximada* por frasco de etambutol liofilizado: Etambutol 700 µg.

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

DETERIORO DEL PRODUCTO

Es posible que se produzca una ligera variación en el aspecto de los antibióticos SIRE liofilizados. Esta variación es atribuible al proceso de liofilización y no afecta en modo alguno al rendimiento de los productos.

Instrucciones de uso: Reconstituya cada frasco **BBL MGIT** de estreptomina liofilizada con 4 mL de agua estéril desionizada/destilada para preparar una solución madre de 40 µg/mL.

Reconstituya cada frasco **BBL MGIT** de isoniacida liofilizada con 4 mL de agua estéril desionizada/destilada para preparar una solución madre de 5 µg/mL.

Reconstituya cada frasco **BBL MGIT** de rifampicina liofilizada con 4 mL de agua estéril desionizada/destilada para preparar una solución madre de 50 µg/mL.

Reconstituya cada frasco **BBL MGIT** de etambutol liofilizado con 4 mL de agua estéril desionizada/destilada para preparar una solución madre de 175 µg/mL.

Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los procedimientos de laboratorio que involucran micobacterias requieren equipo y técnicas especiales para reducir al mínimo los riesgos biológicos.³ Se requiere la utilización de prácticas y procedimientos de seguridad biológica de nivel 2 y equipo e instalaciones para contención cuando se manipulen muestras clínicas sin producir aerosoles, como en la preparación de frotis acidorresistentes. Todas las actividades que generen aerosoles deben llevarse a cabo en un gabinete de seguridad biológica de clase I o II. Se requiere la utilización de prácticas de seguridad biológica de nivel 3 y equipo e instalaciones para contención en las actividades de laboratorio que incluyan la propagación y manipulación de cultivos de *M. tuberculosis* y *M. bovis*. Los estudios en animales también requieren la implementación de procedimientos especiales⁴.

BBL MGIT AST SIRE

BBL MGIT AST SIRE-Rifampin, liofilizado

Atención



H302+H332 Nocivo en caso de ingestión o inhalación

P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. **P264** Lavarse concienzudamente tras la manipulación. **P270** No comer, beber ni fumar durante su utilización. **P271** Utilizar únicamente en exteriores o en un lugar bien ventilado. **P301+P312** EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. **P304+P340** EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. **P330** Enjuagarse la boca. **P501** Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.

Lea y siga las instrucciones de todos los prospectos de los productos apropiados, incluyendo las de los tubos **BBL MGIT** indicadores de crecimiento micobacteriano (vea "Disponibilidad").

Use gafas de protección para luz ultravioleta cuando observe la fluorescencia y use solamente iluminación de onda larga (365 nm). NO USE LUZ ULTRAVIOLETA DE ONDA CORTA PARA LAS OBSERVACIONES.

Antes de utilizarlos inspeccione todos los frascos en busca de indicios de contaminación o desperfectos. Deseche todos los frascos que no reúnen condiciones adecuadas o que exhiben fluorescencia antes de ser utilizados. Deben examinarse detenidamente los tubos que se hayan caído. Si se observan daños en los tubos, éstos deben desecharse.

Para la preparación de suspensiones de aislados a partir de medios sólidos (por ejemplo, medio Lowenstein-Jensen) debe usarse un nefelómetro.

Todos los tubos **MGIT** inoculados deben ser esterilizados en autoclave antes de desecharse.

Instrucciones para el almacenamiento: Al recibirse, los frascos liofilizados deben almacenarse entre 2–8 °C. Una vez reconstituidas, las soluciones de antibiótico pueden ser congeladas y almacenadas a -20 °C durante un máximo de 6 meses, siempre que este período no sobrepase la fecha de caducidad original. Una vez descongeladas, deben ser usadas inmediatamente. Deseche cualquier porción no utilizada.

PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Todas las preparaciones detalladas más adelante provienen de cultivos de *Mycobacterium tuberculosis*. Mediante las técnicas de identificación apropiadas, el laboratorio debe confirmar que el aislado a ser analizado es un cultivo puro.

Preparación del aislado a partir de medios sólidos:

1. Añada 4 mL del Caldo **BBL** Middlebrook 7H9 a un tubo estéril de 16,5 x 128 mm (con tapón) que contenga de 8–10 perlitas de vidrio.
2. Con un asa estéril, tome de un medio sólido tantas colonias como sea posible, de hasta 14 días de antigüedad, tratando de no extraer nada de medio. Suspnda las colonias en el caldo Middlebrook 7H9. La turbidez de la suspensión debe superar el 1,0 McFarland.
3. Mezcle la suspensión en un vórtex durante 2–3 min para romper los grumos más grandes.
4. Deje reposar la suspensión durante 20 min sin remover.
5. Transfiera el líquido sobrenadante a otro tubo estéril de 16,5 x 128 mm con tapón (evite transferir cualquier porción del sedimento) y deje reposar durante 15 min más.
6. Transfiera el líquido sobrenadante (éste debe estar libre de grumos) a un tercer tubo estéril de 16,5 x 128 mm.
7. Ajuste la suspensión hasta alcanzar un 0,5 McFarland utilizando un nefelómetro.
8. Diluya 1,0 mL de la suspensión ajustada a un 0,5 de turbidez McFarland en 4 mL de una solución salina estéril (dilución 1:5). El inóculo ahora está listo. Prosiga con el "Procedimiento de inoculación para la prueba de sensibilidad."

Preparación a partir de un tubo BBL MGIT positivo:

1. Para la preparación del inóculo de prueba, se debe usar un tubo **MGIT** positivo. Este tubo debe emplearse el día siguiente de haberse tornado positivo y hasta el fin del tercer día desde que se hizo positivo. Un tubo que ha permanecido positivo durante más de cuatro días debe ser subcultivado en un tubo **MGIT** fresco y ser utilizado de uno a tres días después de la aparición de positividad en ese tubo **MGIT**. Agite el tubo **MGIT** en un vórtex durante 10 seg.
2. Con una pipeta, transfiera 1,0 mL de la suspensión del tubo **MGIT** a 4 mL de una solución salina estéril (dilución 1:5). El inóculo ahora está listo. Prosigue con el "Procedimiento de inoculación para la prueba de sensibilidad."

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: Equipo **BBL MGIT AST SIRE** que contiene dos frascos de estreptomicina liofilizada, dos frascos de isoniacida liofilizada, dos frascos de rifampicina liofilizada y dos frascos de etambutol liofilizado.

Materiales necesarios pero no suministrados: Tubos **BBL MGIT** indicadores de crecimiento micobacteriano, **BBL MGIT OADC**, medios de cultivo auxiliares, reactivos, organismos para el control de calidad y equipo de laboratorio que se necesite para este procedimiento.

Control negativo: Para el control negativo, se utiliza un tubo **MGIT** que no haya sido abierto ni inoculado.

Preparación del control positivo:

1. Vacíe el caldo de un tubo **MGIT** no inoculado y estéril.
2. Marque el tubo como un control positivo y anote la fecha.
3. Prepare una solución de sulfito de sodio al 0,4% (0,4 g en 100 mL de agua destilada o desionizada).
4. Añada 5 mL de la solución de sulfito de sodio al tubo vacío **MGIT**. Coloque de nuevo el tapón, ajústelo y deje reposar el tubo a temperatura ambiente durante 1 h. No lo incube.
5. Los tubos de control positivo pueden ser utilizados muchas veces. Cada tubo de control positivo puede utilizarse durante un período de hasta 4 semanas cuando se almacena a temperatura ambiente.

Procedimiento de inoculación para la prueba de sensibilidad:

1. Marque cinco tubos **MGIT** para cada aislado de la prueba. Marque uno de los tubos como **MGIT CC** (control de crecimiento), otro como **MGIT STR**, otro como **MGIT INH**, otro como **MGIT RIF** y el último como **MGIT EMB**.
2. Añada aseptícamente 0,5 mL de **MGIT OADC** a cada tubo.
3. Con una micropipeta, transfiera aseptícamente 100 µL de la solución **MGIT STR** de 40 µg/mL al tubo **MGIT** marcado apropiadamente. Con una pipeta, transfiera aseptícamente 100 µL de la solución **MGIT INH** de 5 µg/mL al tubo **MGIT** marcado apropiadamente. Con una pipeta, transfiera aseptícamente 100 µL de la solución **MGIT RIF** de 50 µg/mL al tubo **MGIT** marcado apropiadamente. Con una pipeta, transfiera aseptícamente 100 µL de la solución **MGIT EMB** de 175 µg/mL al tubo **MGIT** marcado apropiadamente. No deben añadirse antibióticos al tubo **MGIT CC**.

Antibiótico	Concentración antibiótica después de reconstitución	Volumen añadido a los tubos MGIT para la prueba	Concentración final en los tubos MGIT
MGIT STR	40 µg/mL	100 µL	0,8* µg/mL
MGIT INH	5 µg/mL	100 µL	0,1* µg/mL
MGIT RIF	50 µg/mL	100 µL	1,0* µg/mL
MGIT EMB	175 µg/mL	100 µL	3,5* µg/mL

*Equivalente a las concentraciones críticas de medicamento recomendadas por los CDC.³

4. Con una pipeta, inocule 0,5 mL de la suspensión del organismo 1:5 (vea "Preparación de las muestras") en cada uno de los cinco tubos **MGIT**. Limpie los tubos con un desinfectante tuberculocida. Vuelva a tapar los tubos firmemente y mezcle bien.
5. Incube los tubos marcados **MGIT** a 37 °C.
6. Siembre 0,1 mL de la suspensión del organismo 1:5 en una placa de Agar soja **Trypticase** con 5% de sangre de carnero (TSA II). Coloque la placa dentro de una bolsa plástica. Incube entre 35 – 37 °C.
7. Inspeccione la placa de agar sangre a las 48 h en busca de contaminación bacteriana.
8. Si la placa de agar sangre no muestra crecimiento, prosiga con la "Lectura de los tubos **MGIT**."
9. Si la placa de agar sangre muestra crecimiento, deseche los tubos **MGIT** y repita la prueba con un cultivo puro.

Lectura de los tubos MGIT:

1. Al tercer día después de la inoculación, retire los tubos **MGIT** de la estufa y léalos utilizando un transiluminador ultravioleta de 365 nm o luz ultravioleta de onda larga.

NOTA: Es importante leer los tubos **AST** *cada día*, comenzando en el día 3, hasta que se puedan interpretar los resultados.

2. Compare el tubo **MGIT CC** con los tubos de control positivo y negativo. El control positivo debe mostrar una alta intensidad de fluorescencia (color anaranjado muy brillante en el fondo del tubo y también un reflejo anaranjado en el menisco). El tubo de control negativo debe tener muy poca fluorescencia.

- Si la fluorescencia en el tubo **MGIT** CC es más parecida al control positivo que al control negativo, es positivo para el crecimiento. Una vez que el tubo **MGIT** CC sea positivo, se utiliza para interpretar los tubos con antibiótico. Los tubos con antibiótico se interpretan el mismo día que el tubo **MGIT** CC muestre ser positivo y hasta dos días después, de acuerdo con la sección "Interpretación de los resultados del análisis", pero no más de catorce días después.
- Si el tubo CC no muestra fluorescencia y es más parecido al control negativo, vuelva a incubar los tubos y continúe la lectura diaria hasta doce días después de la inoculación de todos los tubos. Si el resultado del tubo CC es dudoso (difícil de determinar si existe o no fluorescencia anaranjada), entonces, el tubo debe considerarse negativo y ser incubado nuevamente.
- Si el tubo CC no es positivo doce días después de la prueba, ésta no es válida.

Interpretación de los resultados del análisis: Interprete el resultado **MGIT** como sensible si el tubo con antibiótico NO muestra fluorescencia dentro de dos días desde la aparición de fluorescencia en el tubo CC. Interprete el resultado **MGIT** como resistente si el tubo con antibiótico muestra fluorescencia dentro de dos días desde la aparición de fluorescencia en el tubo CC. Al interpretar la resistencia, finalice el resultado tan pronto como el tubo **MGIT** CC y el tubo con antibiótico muestren fluorescencia.

Control de calidad por parte del usuario: Al recibir un envío nuevo o una cantidad de frascos del equipo **BBL MGIT** AST SIRE, se sugiere que el organismo de control que se muestra a continuación sean inoculados en tubos con antibiótico (vea "Procedimiento de inoculación para la prueba de sensibilidad"). Al observar los resultados apropiados, como se muestran a continuación, los antibióticos **MGIT** AST SIRE están listos para ser usados en el análisis de aislados de pacientes. Si no se observan los resultados apropiados, repita la prueba. Si, al repetir la prueba, aún no se observan los resultados apropiados, no vuelva a usar el medio sin antes comunicarse con el representante local de BD.

Cepas	CC	MGIT STR	MGIT INH	MGIT RIF	MGIT EMB
<i>M. tuberculosis</i> ATCC 27294	Fluoresce dentro de 3-7 días	No fluoresce dentro de 2 días del CC	No fluoresce dentro de 2 días del CC	No fluoresce dentro de 2 días del CC	No fluoresce dentro de 2 días del CC

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Se debe permitir que las suspensiones preparadas a partir de medios sólidos reposen durante el tiempo prescrito antes de realizar la estandarización. Las preparaciones de inóculos hechas a partir de medios sólidos sin el uso de un nefelómetro pueden dar resultados inexactos debido a una biomasa incorrecta.

La prueba se considera ininterpretable si el control de crecimiento no muestra fluorescencia dentro de los doce días desde la inoculación.

Utilice solamente cultivos puros de *M. tuberculosis*. Los cultivos que están contaminados o que contienen cepas múltiples de micobacterias pueden dar resultados erróneos.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El rendimiento preliminar del sistema **MGIT** AST SIRE se ha establecido a través de dos evaluaciones clínicas realizadas en centros de referencia regional para pruebas de sensibilidad micobacteriana y laboratorios ubicados en hospitales universitarios en áreas donde *M. tuberculosis* presenta una gran prevalencia de resistencia a la isoniacida y/o rifampicina. El sistema **MGIT** AST se comparó con el Método de las Proporciones. La evaluación clínica en cuatro centros para comparar los resultados de INH y RIF entre el sistema **MGIT** AST y el Método de las Proporciones utilizando Medios 7H10 (0,2 µg/mL de INH, 1,0 µg/mL de RIF) incluyó 259 aislados clínicos. La evaluación clínica para comparar los resultados de STR y EMB entre el sistema **MGIT** AST y el Método de las Proporciones incluyó 138 aislados clínicos: 103 aislados procedentes de dos centros utilizando Medios 7H10 (2,0 µg/mL de STR, 5,0 µg/mL de EMB) y 35 aislados procedentes de un centro utilizando Medios LJ (4,0 µg/mL de STR, 1,0 µg/mL de EMB).

Los datos se analizaron e interpretaron cualitativamente para la concordancia de categorías (S/S o R/R) y se encontraron los siguientes porcentajes de concordancia: (centros combinados) STR = 94,9%, INH = 93,1%, RIF = 98,5% y EMB = 93,5%.⁵

Las tablas 1 y 2 presentan el rendimiento clínico comparativo entre el sistema **MGIT** AST SIRE y el Método de las Proporciones.

Tabla 1

Fármaco	Número de aislados que tuvieron la sensibilidad indicada				Aislados totales estudiados
	MGIT y MP R	MP S y MGIT R	MP R y MGIT S	MGIT y MP S	
STR	24	5	2	107	138
INH	70	13	5	171	259
RIF	61	1	3	194	259
EMB	12	5	4	117	138

S = Sensible R = Resistente

La reproducibilidad de los resultados del sistema **BBL MGIT** AST SIRE se comparó con los resultados esperados para un grupo de 5 cepas ATCC y 16 cepas calificadas que incluyeron varias cepas resistentes a cada uno de los fármacos. La reproducibilidad de los resultados fue: 97% para la STR, 94% para la INH, 98% para la RIF y 94% para la EMB. La reproducibilidad de los resultados para cada centro en particular varió entre 92% y 100% para los resultados de los antibióticos combinados.

Tabla 2

Características del rendimiento (%)					
Fármaco	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo de sensibilidad	Valor predictivo de resistencia	Concordancia entre categorías
STR	92,3	95,5	98,2	82,8	94,9
INH	93,3	92,9	97,2	84,3	93,1
RIF	95,3	99,5	98,5	98,4	98,5
EMB	75,0	95,9	96,7	70,0	93,5

DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción	Nº de cat.	Descripción
245119	Equipo BD BBL MGIT AST SIRE, caja de 8 frascos liofilizados.	221818	Solución salina normal BD BBL de 5 mL, caja de 10.
245111	Tubos BD BBL MGIT indicadores de crecimiento micobacteriano de 4 mL, caja de 25 tubos.	221819	Solución salina normal BD BBL de 5 mL, caja de 100.
245113	Tubos BD BBL MGIT indicadores de crecimiento micobacteriano de 4 mL, caja de 100 tubos.	295939	Caldo BD BBL Middlebrook 7H9 de 8 mL, caja de 10.
245116	BD BBL MGIT OADC de 15 mL, caja de 6 frascos.	297345	Agua BD BBL de 5 mL, caja de 100.

BIBLIOGRAFIA: Ver "References" en el texto en inglés.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com.



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabbricante / Аткарушы / 제조업체 / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производитель / Výrobca / Proizvođač / Tilverkare / Üretici / Виробник / 生产厂商



Use by / Используйте до / Spotfebijte do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / 사용 기한 / Upotrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейин пайдаланура / Naudokite iki / Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Использовать до / Použite do / Upotrebiti do / Använd före / Son kullanna tarihi / Використати до / 使用截止日期

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned)
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)
 ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА / (АА = айдың соңы)
 YYYY-MM-DD/YYYY-MM (MM = 월말)
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mēnesio pabaiga)
 GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigas)
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
 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)
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii)
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutet av månaden)
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = аяң соңу)
 PPPP-MM-ДД / PPPP-MM (ММ = кінець місяця)
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (ММ = 月末)



Catalog number / Каталоген номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Katalooginumber / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Каталог нөмірі / 카탈로그 번호 / Katalogo / numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталору / Katalógové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом / 目录号



Authorized Representative in the European Community / Оторизирани представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret representant i De Europæiske Fællesskaber / Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizirani predstavnik u Evropskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Еврона қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / 유럽 공동체의 위임 대표 / Jgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Reprezentante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentant autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavništvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Avrupa Topuluğu Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС / 欧洲共同体授权代表



In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostic medical device / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsiniaparatuur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жүргізетін медициналық диагностика аспабы / In Vitro Diagnostic 의료 기기 / In vitro diagnostikos prietaisais / Medicīnas ierīces, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики ин витро / Medicinska pomůcka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Diyagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский пристрій для діагностики in vitro / 体外诊断医疗设备



Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperaturi piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температурны шектеу / 온도 제한 / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperaturilimiet / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ograničenje teploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sıcaklık sınırlaması / Обмеження температури / 温度限制



Batch Code (Lot) / Код на партидата / Kód (číslo) šarže / Batch-kode (lot) / Batch-Code (Charge) / Κωδικός παρτίδας (παρτίδα) / Código de lote (lote) / Partii kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Топтама коды / 배치 코드(코트) / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Kod partii (seria) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (лот) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партії / 批号 (亚批)



Contains sufficient for <n> tests / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Dostatečné množství pro <n> testů / Ineholder tilstrækkeligt til <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις / Contenido suficiente para <n> pruebas / Küllaldane <n> testide jaoks / Contenu suffisant pour <n> tests / Sadržaj za <n> testova / <n> teszthez elegendő / Contenido suficiente per <n> test / <n> тесттери үшін жеткілікті / <n> 테스트가 충분히 포함됨 / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor "n" testen / Innholder tilstrækkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conteúdo suficiente para <n> testes / Conținut suficient pentru <n> teste / Достаточное для <n> тестов(a) / Obsah vystačí na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test için yeterli malzeme içerir / Вистачить для аналізів: <n> / 足够进行 <n> 次检测



Consult Instructions for Use / Направете справка в инструкциите за употреба / Prostudujte pokyny k použití / Se brugsanvisningen / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultar las instrucciones de uso / Lugeđa kasutusjuhendit / Consulter la notice d'emploi / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нускаулығымен танысып алыңыз / 사용 지침 참조 / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultați instrucțiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se bruksanvisningen / Kullanım Talimatları'na başvurun / Див. інструкції з використання / 请参阅使用说明



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

Australian Sponsor:

Becton Dickinson Pty Ltd.
4 Research Park Drive
Macquarie University Research Park
North Ryde, NSW 2113 Australia



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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2016 BD. BD, the BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.