

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора питательных сред для ускоренного определения лекарственной чувствительности и первичной идентификации микобактерий туберкулеза («ТБ тест-набора»)

1. Назначение.

ТБ тест-набор предназначен для ускоренного определения лекарственной чувствительности к изониазиду, рифампицину, стрептомицину и этамбутолу и первичной идентификации микобактерий туберкулеза, а также не туберкулезных микобактерий, обладающих способностью восстанавливать нитраты в нитриты.

2. Состав.

ТБ тест-набор выпускается комплектом из восьми флаконов (№№ 1-7) с готовой к употреблению питательной средой содержащей нитрат натрия (скошенный гель зеленовато-голубого цвета), одного флакона № 8 с реактивом Грисса (кристаллический порошок серо-розового цвета) и двух стерильных шприцев. Флаконы завальцованы алюминиевыми колпачками: цветными и неокрашенными в соответствии с таблицей или все флаконы закрыты неокрашенными колпачками.

Состав ТБ тест-набора:

№ флакона	Содержимое	Цвет колпачка	Количество флаконов
1	Питательная среда - (контроль) - без препаратов	неокрашенный	2
2	Питательная среда с салицилатом натрия, 1 мг/мл	черный	1
3	Питательная среда с (ТКГ), 2 мкг/мл	белый	1
4	Питательная среда с изониазидом, 1 мкг/мл	синий	1
5	Питательная среда с рифампицином, 40 мкг/мл	красный	1
6	Питательная среда со стрептомицином, 10 мкг/мл	зеленый	1
7	Питательная среда с этамбутолом, 2 мкг/мл	желтый	1
8	Реактив Грисса	неокрашенный	1
	Шприц стерильный объемом 1 мл для посева		1
	Шприц стерильный объемом 5 мл		1

3. Определение лекарственной чувствительности и первичная идентификация микобактерий туберкулеза.

Определение лекарственной чувствительности и первичная идентификация микобактерий туберкулеза основаны на выявлении нитратредуктазной активности.

3.1. Подготовка ТБ тест-набора.

Подготовка ТБ тест-набора зависит от способа посева культур.

1. При посеве шприцем снимают центральную часть алюминиевого колпачка флаконов №№1-7, затем стерильной иглой от шприца объемом 5 мл в асептических условиях прокалывают резиновую пробку для дополнительной аэрации.
2. При посеве пипеткой в асептических условиях флаконы №№ 1-7 освобождают от металлических колпачков и резиновых пробок и перекрывают стерильными резиновыми коническими пробками.

3.2 Посев.

Посев культур *M.tuberculosis* проводят в соответствии с приложением к Приказу МЗ РФ № 109 «Инструкция по унифицированным методам микробиологических исследований при выявлении, диагностике и лечении туберкулеза», высевая по 0,2 мл микробной взвеси во флаконы

№№ 1-7 с питательными средами. После посева с помощью шприца резиновую крышку каждого флакона обрабатывают в течение 5 минут ватным тампоном, смоченным в растворе дезсредства. Затем засеянные флаконы инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 8-12 суток в наклонном положении таким образом, чтобы инокулят равномерно распределялся по всей поверхности скоса среды. Для этого их помещают в упаковочную коробку с предварительно выданной перфорированной стенкой.

3.3 Учет результатов проводят визуально с реактивом Грисса.

3.3.1. Приготовление реактива Грисса.

Непосредственно перед проведением учета результатов готовят 7,5-ный % раствор реактива Грисса путем добавления 5 мл дистиллированной воды, подогретой до температуры 50°C , к содержимому флакона № 8. Приготовленный раствор можно использовать в течение 14 суток при условии хранения его при температуре $2-8^\circ\text{C}$, в темном месте.

3.3.2. Учет результатов.

Через 8 суток инкубирования посевов в один из двух контрольных флаконов добавляют 0,5 мл раствора реактива Грисса с помощью шприца объемом 5 мл.

В случае появления в нем интенсивной розовой или фиолетово-розовой окраски (изменение окраски на 3+; см. цветовую шкалу) продолжают внесение раствора реактива Грисса во все оставшиеся флаконы и проводят визуальный учет наличия изменения окраски во флаконах с препаратами.

Если в контрольном флаконе интенсивность окраски будет слабо-розовой или слабо-фиолетовой этот флакон уничтожают, а все остальные флаконы тест-набора продолжают инкубировать до 10 суток. Если же в контрольном флаконе не будет изменения окраски, этот флакон уничтожают, а все остальные флаконы ТБ тест-набора продолжают инкубировать до 12 суток.

По истечении срока инкубации вносят раствор реактива Грисса во все оставшиеся флаконы и проводят учет результатов.

Не инкубировать флаконы ТБ тест-набора более 14 суток, т.к. возможно получение ложноположительных результатов.

3.3.3. Интерпретация результатов.

Культура считается **чувствительной**, если во флаконе с лекарственным препаратом не произошло изменения окраски (при интенсивном изменении окраски в контрольном флаконе).

Культура считается **устойчивой**, если во флаконе с лекарственным препаратом произошло изменение окраски (при интенсивном изменении окраски в контрольном флаконе).

Первичная идентификация микобактерий туберкулеза осуществляется через 8-12 суток инкубирования посевов по появлению красной или темно-розовой, или темно-фиолетовой окраски во флаконе №3 с ТКГ и отсутствию окраски во флаконе №2 с салицилатом натрия после внесения раствора реактива Грисса.

4. Хранение.

ТБ тест-набор хранить в герметично закрытой упаковке в защищенном от света месте при температуре $2-8^\circ\text{C}$.

Срок годности — 3 месяца.

По вопросам, касающимся качества ТБ тест-набора, на качество препарата в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Оболенск, Московская обл., Серпуховский р-н, ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, тел./ факс: (4967) 36-00-20, 36-01-16.

Схема анализа лекарственной чувствительности МБТ с ТБ тест-набором

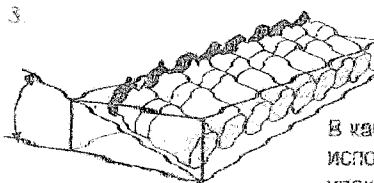
Подготовка флаконов к посеву



- снять центральную часть колпачка
- проколоть стерильной иглой шприца резиновую пробку

Инкубация 8-10 суток при 37° С

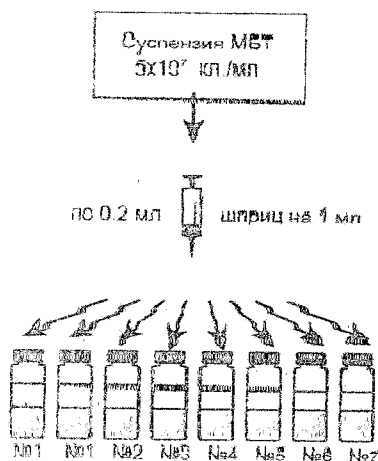
3



В качестве штатива использовать упаковочную коробку

Посев

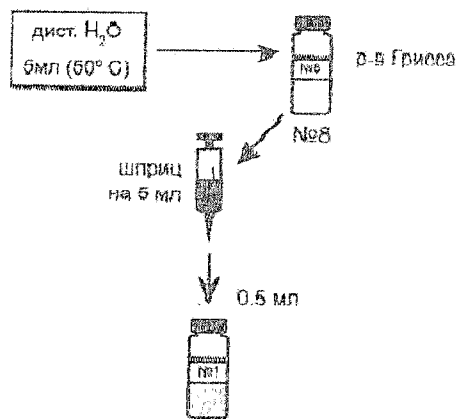
2



ТБ тест-набор

Учет результатов

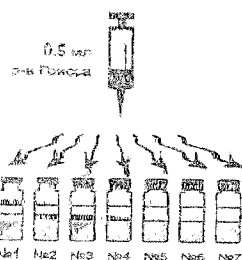
4



возможны 3 варианта окраски

1 вариант

не менее 3+



интерпретация результатов
(культура, устойчивая к рифампицину)

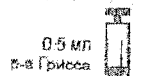
2 вариант

менее 3+ (1+ 2+)



уничтожить

продолжить инкубацию оставшихся флаконов до 10-12 суток



интерпретация результатов
(культура, устойчивая к изониазиду и рифампицину)

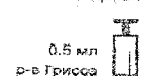
3 вариант

"-" отсут. окраски



уничтожить

продолжить инкубацию оставшихся флаконов до 12-14 суток



интерпретация результатов
(культура, устойчивая к рифампицину)