



0001779 - 2022/05

## 1 КЛИНИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ

В последние годы наблюдается новая вспышка грибковых инфекций, связанная с увеличением числа людей с иммунодепрессией (9).

В основном это связано с применением более агрессивной противораковой химиотерапии, более интенсивной иммуносупрессивной терапии у реципиентов трансплантатов и использованием антибиотиков широкого спектра действия (2, 3).

Эта вспышка сопровождается увеличением числа выявленных патогенных видов (10) и появлением устойчивости у ранее чувствительных видов.

Тест *in vitro* на чувствительность дрожжей к противогрибковым препаратам может быть полезен в этом новом контексте (1, 4, 7, 8). Анализ FUNGITEST отвечает этой цели, поскольку позволяет определить чувствительность дрожжей к противогрибковым препаратам в соответствии со стандартизированным методом, полученным на основе эталонного метода (5, 6), который легко выполнять и интерпретировать.

## 2 ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

FUNGITEST используется для изучения роста дрожжей в присутствии 6 противогрибковых препаратов в двух различных концентрациях, в модифицированной буферной среде RPMI 1640, в присутствии окислительно-восстановительного индикатора.

Оценка роста основана на уменьшении цветного индикатора, который превращает среду из **синей в розовую**. Когда рост ингибируется противогрибковым препаратом, среда остается синей.

Этот тест, представленный в виде 16-луночного микропланшета, включает:

- 2 лунки для контроля роста
- 12 лунок, содержащих дегидратированные противогрибковые препараты (6 противогрибковых препаратов в двух различных концентрациях)
- 2 лунки отрицательного контроля

Пограничные значения были выбраны после изучения распределения МПК противогрибковых препаратов, полученных с помощью прототипных микропланшетов, используемых по той же процедуре, что и FUNGITEST.

Данное предварительное исследование (11) было проведено в двух референтных лабораториях: Отделении микологии Института Пастера в Париже и Иммунологической лаборатории Фармацевтического факультета в Монпелье; 193 штамма были отобраны для репрезентативности штаммов, выделенных в рутинной практике, включая устойчивые штаммы. В этом исследовании было протестировано 8 разведений 6 противогрибковых препаратов и получено распределение полученных МПК. На основании графиков распределения и последних данных литературы для каждого противогрибкового препарата были выбраны 2 концентрации для окончательного представления галереи.

В отсутствие текущих международных рекомендаций, дающих интерпретацию МПК, выбранные точки пограничных значений являются компромиссом и могут быть изменены в будущем: необходимы дополнительные исследования для определения соответствия между результатами, полученными *in vitro*, и их клинической значимостью.

### 3 СОСТАВ НАБОРА

FUNGITEST включает:

- Микропланшет: 10 индивидуально упакованных 16-луночных микропланшетов (схема микропланшета указана ниже).
- 10 пленок адгезивных
- Среда суспензионная: 10 флаконов, содержащих 3,0 мл готовой к использованию среды суспензионной.

Каждый микропланшет индивидуально упакован в запаянный алюминиевый пакет с пленкой адгезионной и осушителем.

#### Схема микропланшета

<b>FUNGITEST</b>	T+	T+	880xxx	T+	=>	Положительный контроль
				5 FC	=>	5-фторцитозин (2–32 мкг/мл)
	5FC2	5FC32		AB	=>	амфотерицин В (2–8 мкг/мл)
				MCZ	=>	миконазол (0,5–8 мкг/мл)
	AB2	AB8		KET	=>	кетоназол (0,5–4 мкг/мл)
				I TR	=>	итраконазол (0,5–4 мкг/мл)
	MCZ0,5	MCZ8		FLU	=>	флуконазол (8–64 мкг/мл)
				T-	=>	Отрицательный контроль
	KETO,5	KET4				
	I TR0,5	I TR4				
	FLU8	FLU64				
	T-	T-				
		#				
		REF				
		LOT				
		Bio-Rad				

### 4 ХРАНЕНИЕ

Реагенты, хранящиеся при температуре +2–8 С, стабильны до истечения срока годности, указанного на упаковке набора.

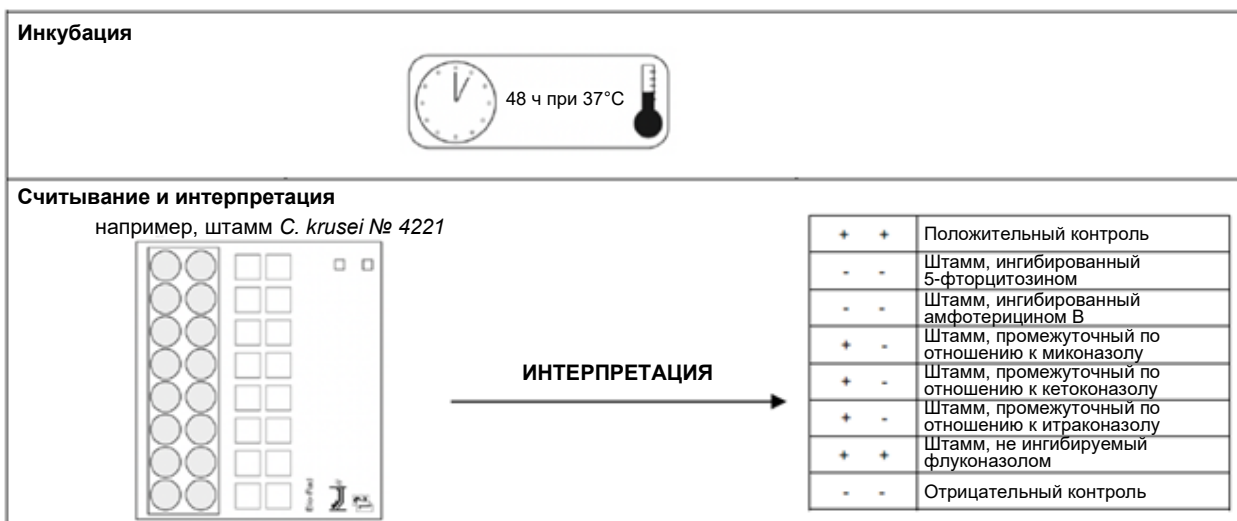
### 5 ТРЕБУЕМЫЙ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

- Стерильная дистиллированная вода
- Микропипетки на 20 мкл и 100 мкл
- Стерильные пробирки
- Стандарт мутности Mac Farland №1: код 56499
- Инкубатор на 37 С

### 6 ПРОЦЕДУРА

## А. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ДРОЖЖЕВОЙ СУСПЕНЗИИ

- С помощью пипетки возьмите 2 аналогичные колонии из чистой и свежей культуры, полученной на среде Сабуро с антибиотиками или без них, и внесите их в 3 мл стерильной дистиллированной воды, чтобы получить первый калиброванный посевной материал, эквивалентной стандарту мутности Mac Farland № 1, т.е. припл.  $3 \times 10^6$  дрожжей/мл.



- Используя калиброванную пипетку разведите 100 мкл этого посевного материала в 1,9 мл стерильной дистиллированной воды.
- Инокулируйте 20 мкл полученного разведения в среду суспензионную, входящую в состав набора. Концентрация посевного материала в этом случае эквивалентна  $\approx 1 \times 10^3$  дрожжей/мл.

## В. ИНОКУЛЯЦИЯ МИКРОПЛАНШЕТА

- Используя калиброванную пипетку, распределите 100 мкл этой суспензии в каждую лунку микропланшета.
- Накройте пленкой адгезивной.

## С. ИНКУБАЦИЯ МИКРОПЛАНШЕТА

Инкубировать: - при 37°C в течение 48 ч

#### D. СЧИТЫВАНИЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Оценивайте результат микропланшета только тогда, когда лунки положительного контроля (Т+) окрашены в розовый цвет
- Наблюдайте за изменением цвета лунок, содержащих противогрибковый препарат, по сравнению с лунками отрицательного контроля (синего цвета).
- Интерпретируйте в соответствии с цветом 2 лунок для каждого противогрибкового препарата:
  - **Синий-синий** = рост отсутствует: штамм ингибирован противогрибковым препаратом *in vitro*
  - **Розовый-синий** = низкий уровень роста: промежуточный штамм
  - **Розовый-розовый** = рост: штамм не ингибируется противогрибковым препаратом *in vitro*

#### 7 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ

Не используйте реагенты после истечения срока годности.

#### РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ГИГИЕНЕ И БЕЗОПАСНОСТИ

Инокулированные штаммы и реагенты являются потенциально инфекционными; с ними следует обращаться с соблюдением обычных мер предосторожности и утилизировать в соответствии с действующими правилами гигиены и нормами для данного вида продукции.

#### 8 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ТЕСТА

Для контроля показателей FUNGITEST используются следующие штаммы:

ШТАММЫ	РЕЗУЛЬТАТ КУЛЬТУРЫ ЧЕРЕЗ 48 ЧАСОВ ПРИ 37 °С							
	Т+	5 ФЦ	АВ	МКЗ	КЕТ	ИТРА	ФЛУ	Т-
<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	Розовый	Ч	Ч/П	Ч/П	Ч	Ч/П	Ч	Синий
<i>C. krusei</i> ATCC 6258	Розовый	П	Ч/П	П	Ч/П	Ч/П	П	Синий
<i>C. albicans</i> CIP 884.65	Розовый	Ч	Ч/П	Ч/П	Ч	Ч	Ч	Синий
<i>C. glabrata</i> SDP A35	Розовый	Ч	Ч	Ч/П	П	П/Р	П/Р	Синий
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	Розовый	Ч	Ч	Ч/П	Ч	Ч/П	Ч	Синий

#### 9 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Все производимые реагенты готовятся в соответствии с нашей системой качества.

#### 10 СПРАВОЧНЫЕ ДОКУМЕНТЫ

1. АНАИССИ ЭЛИАС ДЖ., КАРИОТАКИС НИКОЛАС К., ХАЧЕМ РЭЙ, ДИГНАНИ МАРИЯ К., РЕКС ДЖОН Х., ПАЕЦНИК ВИКТОР. Корреляция между активностью противогрибковых агентов *in vitro* и *in vivo* против видов *Candida*. Журнал инфекционных заболеваний. 1994; **170**: 384–389 (ANAISSIE ELIAS J, KARYOTAKIS NICHOLAS C, HACHEM RAY, DIGNANI MARIA C., REX JOHN H., AND PAETZNICK VICTOR. Correlation between In Vitro and In Vivo Activity of Antifungal Agents against *Candida* Species. The Journal of Infection Diseases 1994; **170**: 384-389.)
2. БЕРЕНГЕР Ж., ФЕРНАНДЕС-БАКА В., САНЧЕС Р., БУЗА Э. Активность *in vitro* амфотерицина В, флуцитозина и флуконазола против дрожжей, вызывающих инфекции кровотока. Европейский журнал клинической микробиологии и инфекционных заболеваний. 1995; **14**: 362–365 (BERENGUER J, FERNANDEZ-BACA V, SANCHEZ R, BOUZA E. In Vitro Activity of Amphotericin B, Flucytosine and Fluconazole against Yeasts Causing Bloodstream Infections. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1995; **14**: 362-365.)
3. ДРОМЕР Ф., ДЮПОН Б. Растущая проблема грибковых инфекций у носителей с ослабленным иммунитетом. Журнал медицинской микологии. 1996; **6**, Приложение I: 1–6

(DROMER F, DUPONT B. The increasing problem of fungal infections in the immunocompromised host. *J. Mycol. Méd.* 1996; **6**, Suppl. I: 1-6.)

4. ЭСПИНЕЛЬ-ИНГРОФФ А., ПФАЛЛЕР М.А. Противогрибковые препараты и проверка на восприимчивость к ним. В сборнике под ред. МЮРРЕЙ П.Р., БАРОН Э.ДЖ., ПФАЛЛЕР М.А., ТЕНОВЕР Ф.К., ЙОЛКЕН Р.Х. Руководство по клинической микробиологии, 6-е изд. Вашингтон, округ Колумбия: Американское общество микробиологии, 1995 (ESPINEL-INGROFF A, PFALLER MA. Antifungal agents and susceptibility testing. In MURRAY PR, BARON EJ, PFALLER MA, TENOVER FC, YOLKEN RH, eds. *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1995.)

5. ЭСПИНЕЛЬ-ИНГРОФФ А., РОДРИГЕС-ТУДЕЛА Х.Л., МАРТИНЕС-СУАРЕС Х.В. Сравнение двух альтернативных процедур микроразбавления с эталонным методом макроразбавления M27-P Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам для экстракорпорального тестирования изолятов *Candida albicans*, устойчивых к флуконазолу и восприимчивых к нему. *Журнал клинической микробиологии.* 1995; **33**: 3154–3158 (ESPINEL-INGROFF A, RODRIGUEZ-TUDELA JL, and MARTINEZ-SUAREZ JV. Comparison of Two Alternative Microdilution Procedures with the National Committee for Clinical Laboratory Standards Reference Macrodilution Method M27-P for In Vitro Testing of Fluconazole-Resistant and -Susceptible Isolates of *Candida albicans*. *J. Clin. Microbiol.* 1995; **33**: 3154-3158.)

6. NCCLS. Испытание на чувствительность к противогрибковым препаратам; отчет комитета. Документ NCCLS M27-T. NCCLS, 771 Ист Ланкастер Авеню, Вилланова, штат Пенсильвания. Октябрь 1995. (NCCLS. Antifungal Susceptibility Testing; Committee Report. NCCLS document M27-T. NCCLS, 771 East Lancaster Avenue, Villanova, Pennsylvania. October 1995.)

7. ПОГАМ А. Интерес к изучению *in vitro* чувствительности дрожжей к противогрибковым препаратам. Французский лабораторный обзор. 1996; **282**: 157–159 (PAUGAM A. Intérêt de l'étude *in vitro* de la sensibilité des levures aux antifongiques. *Revue française des laboratoires.* 1996; **282**: 157-159.)

8. ПФАЛЛЕР М.А., БУШЕЛЬМАН Б., БЕЙЛ М.ДЖ. и соавт. Многоцентровое сравнение колориметрического метода бульона с микроразведением с эталонным методом макроразведения для испытания восприимчивости дрожжевых изолятов *in vitro*. *Диагностическая микробиология и инфекционные заболевания.* 1994; **19**: 9–13. 4 (PFALLER MA, BUSCHELMAN B, VALE MJ, et al. Multicenter comparison of a colorimetric microdilution broth method with the reference macrodilution method for *in vitro* susceptibility testing of yeast isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1994; **19**: 9-13. 4)

9. УОЛШ Т.ДЖ., ГОНСАЛЕС К., РОИЛИДЕС Э., МЮЛЛЕР Б.У., АЛИ НАСР, ЛЬЮИС Л.Л., УИТКОМБ Т.О., МАРШАЛЛ Д.ДЖ., ПИЦЦО П.А. Фунгемия у детей, инфицированных вирусом иммунодефицита человека: новые эпидемиологические закономерности, новые патогены и улучшение результатов противогрибковой терапии. *Клинические инфекционные заболевания.* 1995; **20**: 900–906 (WALSH TJ, GONZALEZ C, ROILIDES E, MUELLER BU, ALI NASR, LEWIS LL, WHITCOMB TO, MARSHALL DJ, and PIZZO PA. Fungemia in Children Infected with the Human Immunodeficiency Virus: New Epidemiologic Patterns, Emerging Pathogens, and Improved Outcome with Antifungal Therapy. *Clin. Infect. Dis.* 1995; **20**: 900-906.)

10. УИНГАРД ДЖ.Р. Важность видов *Candida*, отличных от *C. albicans*, как патогенов у онкологических пациентов. *Клинические инфекционные заболевания.* 1995; **20**: 115–125 (WINGARD JR. Importance of *Candida* Species Other than *C. albicans* as Pathogens in Oncology Patients. *Clin. Infect. Dis.* 1995; **20**: 115-125.)

11. ГАРРИГ М.Л., МАЙИ М., ДЮПОН Б., БАСТИД Дж.М., КАРЛС Б., ДРОМЕР Ф. Оценка галереи для проверки чувствительности дрожжей к противогрибковым препаратам. Симпозиум Французского общества медицинской микологии, Институт Пастера, 22–23

ноября 1996 г. (GARRIGUES ML, MALLIE M, DUPONT B, BASTIDE JM, CARLS B, DROMER F. Evaluation d'une galerie pour tester la sensibilité des levures aux antifongiques. Colloque de la Société Française de Mycologie Médicale, Institut Pasteur, 22-23 Novembre 1996.)

Все указанные здесь товарные знаки принадлежат их владельцам.  
FUNGITEST является товарным знаком компании «Био-Рад Европа, ГмбХ» (Bio-Rad Europe, GmbH) в некоторых юрисдикциях.  
BIO-RAD является товарным знаком компании «Био-Рад Лабораториз, Инк.» (Bio-Rad Laboratories, Inc.)

**«БИО-РАД»**

3, Бульвар Раймона Пуанкаре 92430 Марн-ля-Кокетт,  
Франция (3, boulevard Raymond Poincaré 92430  
Marnes-la-Coquette - France)

Тел.: +33 (0) 1 47 95 60 00

Факс: +33 (0) 1 47 41 91 33

[www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com)

май 2022 г.  
0001779