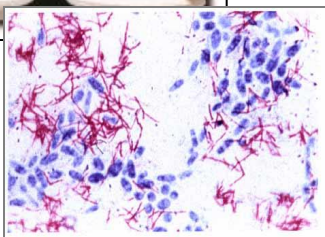


Ускоренная культуральная диагностика туберкулеза на жидких средах – технология BD BACTEC™ MGIT™ 960. Возможности метода, виды диагностического материала, особенности сбора, хранения, доставки материала в лабораторию





Заявка на микробиологическое исследование

Методы исследования микобактерий

- **Микроскопические:**
 - Микроскопия по Циль-Нильсену
 - Люминесцентная микроскопия
 - LED микроскопия
- **Культуральные:**
 - Культуральное выявление микобактерий и определение их лекарственной чувствительности к ПТП 1-го (5 препаратов) и 2-го ряда (9 препаратов) на **ЖИДКИХ** питательных средах: **технология MGIT**
 - Культуральное выявление микобактерий на **ПЛОТНЫХ** питательных средах (Левенштейна-Йенсена, Финна-2) и определение их лекарственной чувствительности методом абсолютных концентраций
- **Молекулярно-генетические:**

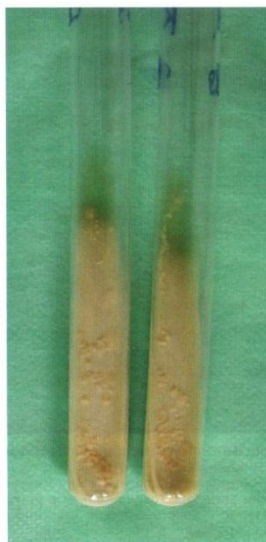
Выявление ДНК МБТ и определение мутаций в генах определяющих лекарственную устойчивость к 1-му или 2-3-м ПТП

 - ПЦР в режиме реального времени
 - ПЦР с дальнейшей гибридизацией на биологических микрочипах
 - ПЦР с дальнейшей гибридизацией на стриповых мембранах



Классический комплекс исследования микобактерий с определением чувствительности к широкому спектру противотуберкулезных препаратов занимает в среднем 2,5-3 месяца

Метод		Срок получения результата
Микроскопия обогащенного материала (осадка)		1-2 рабочих дня
Культуральное исследование на плотных средах	Посев	■ положительный результат в среднем – 30-50 суток ■ отрицательный результат – по истечении 12 недель
	Идентификация и определение лекарственной чувствительности	■ в среднем 21-28 суток без учета подготовки культуры



R-вариант *M.tuberculosis*



Комплекс ускоренного исследования микобактерий с определением чувствительности к широкому спектру противотуберкулезных препаратов занимает в среднем 25 дней, соответственно сокращает сроки исследования в 3 раза

Метод		Срок получения результата
Микроскопия обогащенного материала (осадка)		1-2 рабочих дня
Молекулярно-генетический	выявление ДНК МБТ	2-3 рабочих дня
	скрининг генетических маркеров лекарственной устойчивости МБТ	в среднем 5 рабочих дней
Культуральное исследование микобактерий на жидких средах – метод ВАСТЕС MGIT 960/320	посев	<ul style="list-style-type: none"> положительный результат с 4-х суток в среднем положительный результат – 7-21 суток отрицательный результат – по истечении 42 суток
	дифференциация культур иммунохр-м методом	в течение 1-го рабочего дня
	определение лекарственной чувств-ти к препаратам 1-го и 2-го ряда	<ul style="list-style-type: none"> 4-13 суток Z – 4-20 суток в среднем 10-14 дней с момента инкубации роста

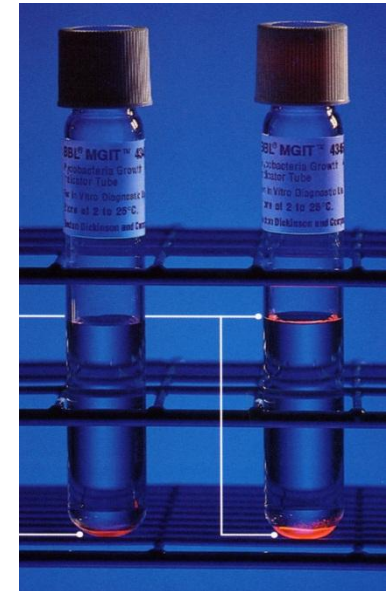


Принцип технологии ВАСТЕС MGIT

- В основе методики лежит изобретение индикаторной пробирки MGIT- **M**ycobacteria **G**rowth **I**ndicator **T**ube.
- В дно пробирки встроен флуоресцентный кислородный датчик

Во время бактериального роста внутри пробирки происходит поглощение O_2 и его замещение CO_2 . По мере расходования O_2 прекращается ингибирование флюорохрома. Флюоресценция становится видимой при облучении пробирки УФ и автоматически регистрируется фотодатчиками прибора. Интенсивность свечения регистрируется в единицах роста (CU – growth units)

- 1 раз в час флуоресцентный сенсор считывает результаты тестирования



Методы культурального исследования МБТ

Исследования микобактерий на плотных питательных средах



- отсутствию стандартизации – «ручная методика»
- Длительное время исследования: идентификации и определения лекарственной чувствительности МБТ - 2,5-3 месяца;

Ускоренное исследование на жидких средах с помощью автоматизированной системы ВАСТЕК MGIT 960/320



- Стандартизация исследования, автоматизированная методика
- Ускоренный метод, среднее время идентификации и определения лекарственной чувствительности МБТ - 11-21 дней;

Определение лекарственной чувствительности

- ❑ Определение ЛЧ МБТ в системе ВАСТЕС MGIT 960 к **5 ПТП 1-го ряда**: к изониазиду, рифампицину, этамбутолу, стрептомицину, пиразинамиду; к **10 ПТП 2-го ряда**: к **амикацину**, **каприомицину**, **офлоксацину**, **левофлоксацину**, **моксифлоксацину**, **этионамиду**, протионамиду, линезолиду, **канамицину**, **ПАСКу**
- ❑ Определение ЛЧ МБТ методом абсолютных концентраций на среде ЛЙ к **4 ПТП 1-го ряда**: к изониазиду, рифампицину, этамбутолу, стрептомицину; к **7 ПТП 2-го ряда**: к канамицину, офлоксацину, этионамиду, протионамиду, каприомицину, циклосерину, ПАСКу



Технологический процесс микробиологического исследования



СТАНДАРТ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ, СОСТОЯЩИХ НА ДИСПАНСЕРНОМ УЧЕТЕ, МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

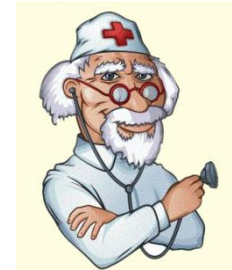
(материалы доклада Севастьяновой Э.В., ЦНИИТ , на конференции в Кисловодске 27-28.02)

ГДУ	Этап наблюдения / лечения	Методы исследования, кратность						
		Люм/ LED микро- скопия	МГМ		ВАСТЕС MGIT		Плотные среды	
			ДНК МБТ	Наличие мутаций	Посев (на пробирку MGIT)	ТЛЧ	Посев (на 1 или 2 пробирки)	ТЛЧ (если нет данных ВАСТЕС)
0	Перед постановкой на учет (далее ежемесячно)	из 2-х образцов	из 1 или 2-х образцов	1-кр. при ДНК МБТ+	из 1 или 2-х образцов	1-кр. при МБТ+	из 2-х образцов	1-кр. при МБТ+
I-A I-B II-A	До лечения	из 2-х образцов	из 1 или 2-х образцов (кр.IIA)	1-кр. при ДНК МБТ+	из 1 или 2-х образцов	1-кр. при МБТ+	из 2-х образцов	1-кр. при МБТ+
	Интенсивная фаза х/т (частота обследования – в зависимости от режима х/т)	из 2-х образцов	из 1 образца при наличии показаний	1-кр. при ДНК МБТ+	из 1 образца при наличии показаний	1-кр. при МБТ+	из 1 образца	1-кр. при МБТ+
	Фаза продолжения х/т (частота обследования – в зависимости от режима х/т)	из 2-х образцов	-	-	из 1 образца при наличии показаний	1-кр. при МБТ+	из 1 образца	1-кр. при МБТ+
	Завершение курса лечения	из 2-х образцов	-	-	-	-	из 2-х образцов	-
II-B	по показаниям, но не реже 1 раза в шесть месяцев	из 2-х образцов	-	-	-	-	из 1 образца	1-кр. при МБТ+
III	Перед зачислением в группу, в дальнейшем – не реже 1 раза в 6 мес.	из 2-х образцов	-	-	-	-	из 2-х образцов	-
IV-A IV-B IV-B	Перед зачислением в группу, в дальнейшем – не реже 1 раза в 6 мес.	из 2-х образцов	из 1 или 2-х образцов	1-кр. при ДНК МБТ+	из 1 или 2-х образцов	1-кр. при МБТ+	из 2-х образцов	1-кр. при МБТ+
V-A V-B V-B	Перед зачислением в группу, в дальнейшем – по показаниям	из 2-х образцов	из 1 или 2-х образцов	1-кр. при ДНК МБТ+	из 1 или 2-х образцов	1-кр. при МБТ+	из 2-х образцов	1-кр. при МБТ+
VI-A VI-B	Перед зачислением в группу, в дальнейшем – по показаниям	из 2-х образцов	из 1 или 2-х образцов	1-кр. при ДНК МБТ+	из 1 или 2-х образцов	1-кр. при МБТ+	из 2-х образцов	1-кр. при МБТ+

Виды диагностического материала

- Мокрота, отделяемое верхних дыхательных путей, полученное после аэрозольных ингаляций, промывные воды бронхов
- Все виды материала, получаемого при бронхоскопии
- Экссудаты
- Отделяемое ран и свищей
- Промывные воды желудка (преимущественно у детей)
- Спинномозговая жидкость
- Операционный материал (без примеси крови)

Какой материал исследовать?



Не рекомендуется исследовать кровь

Подготовка пациента к исследованию, сбор материала

- Сбор МОКРОТЫ проводится в специально оборудованном помещении под контролем медицинского работника, утром, до еды, после тщательного туалета полости рта в стерильные флаконы объемом 50 мл
- Прочий материал забирается в специализированных кабинетах (процедурный, бронхоскопический...) в пробирки объемом 50 мл
- На флаконе указывается Ф.И.О. пациента
- К каждой пробе выписывается направление стандартного образца

Как собрать материал?



Хранение и доставка диагностического материала

- Собранный диагностический материал необходимо в течении двух часов доставить в бактериологическую лабораторию!
- Если это невозможно:
- Мокроту и ПБВ можно хранить при $t +4-6^{\circ}\text{C}$ до двух суток
- Требовательный к хранению материал (экссудаты, спинномозговая жидкость) может сохраняться при $t +4-6^{\circ}\text{C}$ до 8 часов
- Замораживать диагностический материал перед доставкой не рекомендуется, т.к. требуется быстрая заморозка при $t -25-30^{\circ}\text{C}$ и размораживать материал разрешается только 1 раз

Как хранить и доставлять материал?



Хранение и доставка диагностического материала

- Доставляется диагностический материал в сопровождении специально обученного медицинского работника (если это не возможно, необходимо обучить водителя).
- В лабораторию диагностический материал доставляется в специальных контейнерах (желательно термоконтейнерах) и штативах
- Необходимо иметь 2 контейнера (1 оставляется в лаборатории с пробами, 2-й забирается после дез.обработки)
- Помимо направления на всю партию диагностического материала оформляется сопроводительный лист (2 экземпляра)
- Сопроводительные документы (направления, сопроводительный лист) доставляются отдельно от проб

Благодарю за внимание!