

ВАСТЕС MGIT 960

Технология посева.



Технология MGIT

- В основе методики лежит изобретение индикаторной пробирки MGIT- **Mycobacteria Growth Indicator Tube**, в дно которой встроен флуоресцентный кислородный датчик
- 1 раз в час флуоресцентный сенсор считывает результаты тестирования

Положительные: очень яркое оранжевое свечение на дне пробирки и оранжевое отражение в колене пробирки

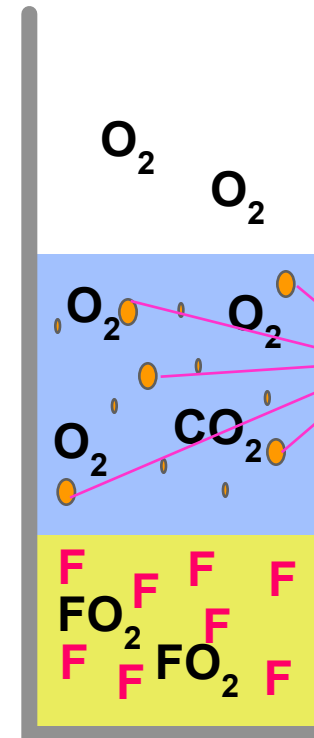
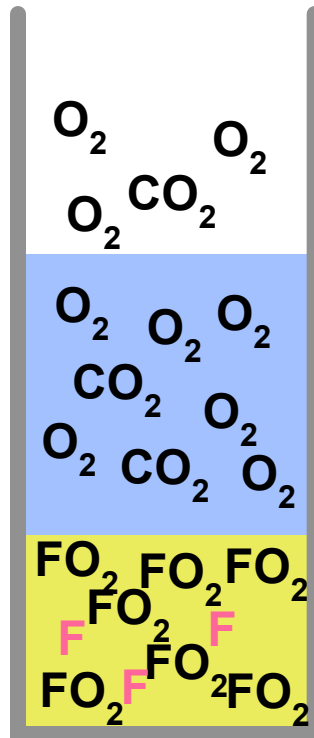
Отрицательные: незначительное или полное отсутствие свечения
(большое количество растворенного кислорода)



Технология MGIT

Отрицательная пробирка

Положительная пробирка



Флуоресценции нет

Сильная флуоресценция



Методика посева

Основные этапы:

1. Подготовительный этап: подготовка пробирок, стекол
2. Инокуляция образца, приготовление мазка
3. Загрузка пробирок MGIT в прибор BACTEC MGIT 960, культивирование посевов на плотных средах при температуре 37*С с еженедельным просмотром
4. Микроскопия осадка (с окраской флуорохромами или по Циль-Нильсену), выдача результата микроскопии
5. При положительном результате: микроскопия, пересев на кровяной агар, тесты на идентификацию (биохимические, ПЦР).
6. При отрицательном результате (если он вызывает сомнение, мутность пробирки, наличие зернистости на дне пробирки): микроскопия, пересев на кровяной агар
7. Выдача результата посева

Процедура посева

Необходимые реактивы и расходные материалы:

- ◆ Пробирка BBL MGIT Tubes с модифицированной средой Миддлбрук и флуоресцентным детектором для культивирования микобактерий туберкулеза
- ◆ Обогащительная добавка Supplement Kit
- ◆ Пробирка с питательной средой Левенштейна-Йенсена
- ◆ Пипетка Пастера одноразовая, стерильная 3,5-5 мл
- ◆ Наконечники к автоматическим пипеткам: Т-200, Т-1000, Т-5000
- ◆ Предметное стекло, облегченное
- ◆ Контейнер для отходов;

Необходимое оборудование:

- ◆ Ламинарный бокс II-класса защиты
- ◆ Прибор ВАСТЕС MGIT 960
- ◆ Пипетки автоматические с переменным объемом до 200 мкл, до 1000 мкл, до 5000 мкл Таймер



Процедура посева

Подготовительный этап:

- ◆ подготовка пробирок: отобрать необходимое количество пробирок MGIT, и пробирок со средой Левенштейна-Йенсена, промаркировать их;
- ◆ Подготовка стекол: для приготовления мазка используются желательно новые, обезжиренные стекла, промаркировать стекла соответственно пробиркам.
- ◆ Приготовить раствор антибиотиков PANTA: развести лиофилизированную PANTA в 15 mL OADC (*Стабильность раствора- 24 ч при хранении в холодильнике*)
- ◆ В асептических условиях открыть крышку пробирки MGIT и добавить 0,8 мл раствора PANTA + OADC, используя автоматическую пипетку со стерильным наконечником



Процедура посева

- ◆ Добавить 0.5 мл исследуемого образца в пробирку MGIT

- ◆ 0,5 мл образца
- добавить в пробирку с селективной средой

- ◆ 0,5 мл образца для
приготовления суспензии
нанести на поверхность
предварительно подготовленной



Процедура посева

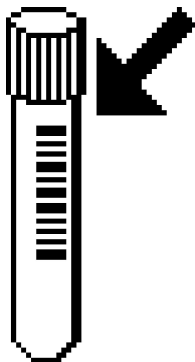
- ◆ Закрывать пробирку крышкой и перемешать.
- ◆ Загрузить пробирки MGIT в BACTEC MGIT 960.
- ◆ Пробирки с плотными средами поместить в термостат в горизонтальных штативах не 2-4 дня, затем переставить в вертикальные штативы, еженедельно просматривать
- ◆ Приготовленные мазки из осадка высушить, окрасить по Циль-Нильсену или флуорохромными красителями, промикроскопировать, оценить результат (согласно приказу МЗ РФ от 21.03.2003 № 109)



ВАСТЕС MGIT 960

Шаг 1: Выбрать меню.

- ◆ Открыть одну из секций прибора
- ◆ Выбрать на дисплее прибора соответствующую иконку



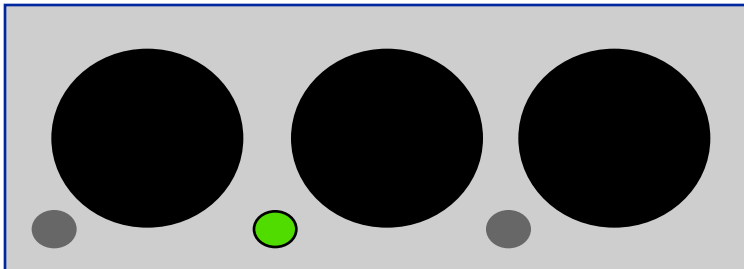
ВАСТЕС MGIT 960

Шаг 2: Считать штрих-кода пробирки с помощью сканера



ВАСТЕС MGIT 960

Шаг 3: Поместить пробирку в указанную ячейку (горит зеленый свет)

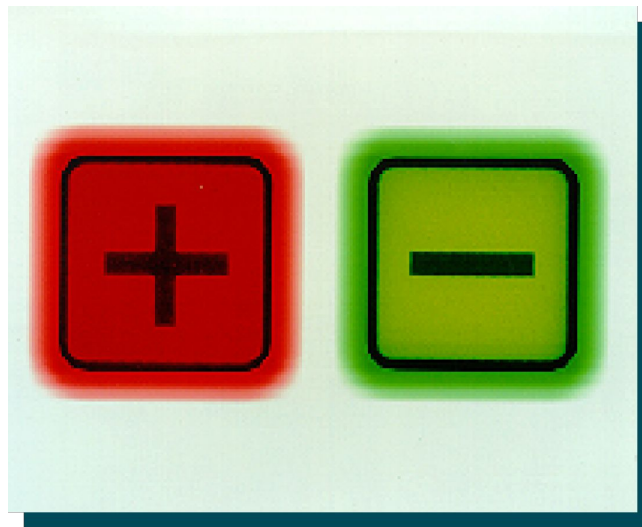


ВАСТЕС MGIT 960

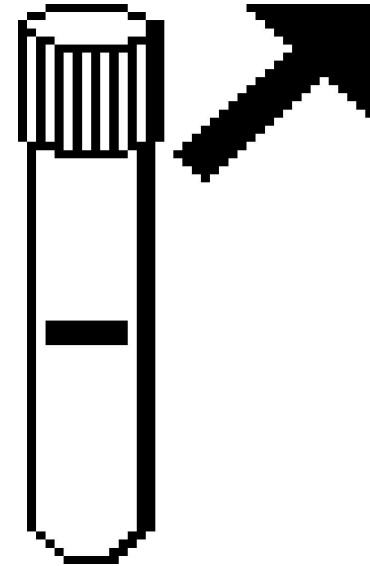
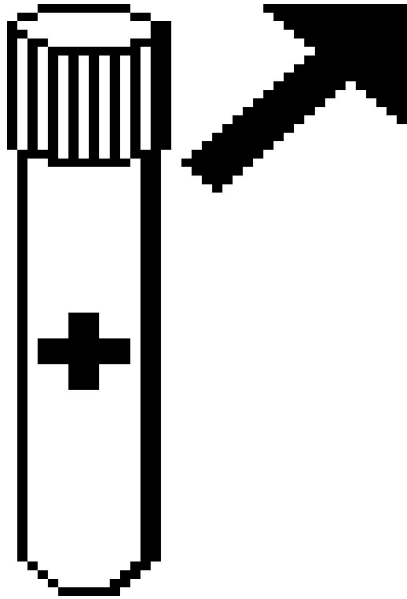
- ◆ Микобактерии туберкулеза дают положительный рост не ранее чем на 4 сутки с момента посева
- ◆ Если положительный рост наблюдается раньше - это может быть либо контаминация, либо рост нетуберкулезных микобактерий

ВАСТЕС MGIT 960

Шаг 4: Извлечь позитивные и негативные (после 42 дня) пробирки, распечатать протокол исследования



BACTEC MGIT 960



Идентификация

- ◆ Визуальный осмотр положительной пробирки (среда прозрачная, на дне пробирки зернистость или облако культуры)
- ◆ Сроки роста (с 4-х суток)
- ◆ Микроскопия по Циль-Нильтсену (корд-фактор)
- ◆ Посев на кровяной агар, контроль контаминации (роста на кровяном агаре нет)
- ◆ Биохимические тесты (ниациновый («+»), нитрат-редуктазный («+»), ПНБ-тест («-»), тест с салицилатом натрия («-»))
- ◆ ДНК-идентификация (ПЦР, Hain-тест)

Бактериоскопия

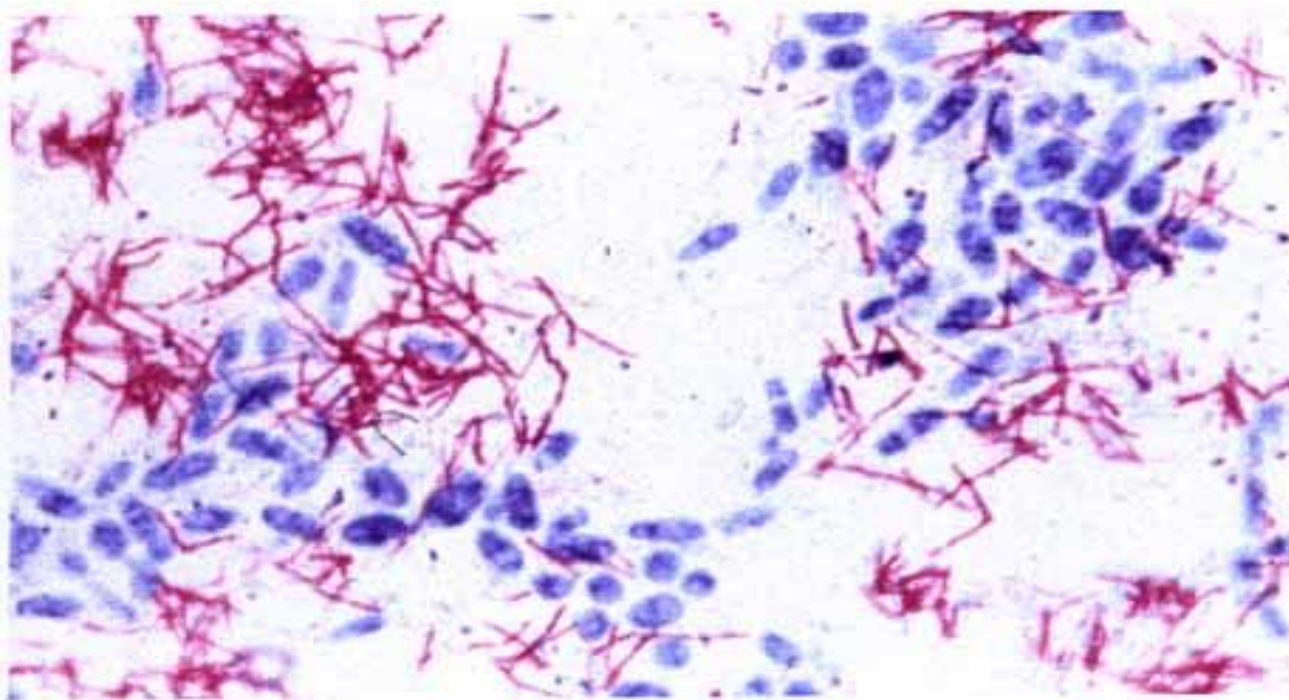


- ◆ **BD предлагает широкий спектр красителей**
 - ◆ Ziehl-Neelsen 212520, 212511, 212517, 212516
 - ◆ Kinyoun stains 212522, 212523, 212518
 - ◆ Rapid 2-step modification of classical techniques (TB Quick Stain)
212315, 212316, 212317

 - ◆ TB Fluorescent Stain Kits 212519, 212521
 - ◆ AFB QC Slide (для 50 тестов) 231391

M. tuberculosis

мазок (окраска по Цилю-Нельсену)



- ◆ Если в 1 мл мокроты- 10 000- 100 000 бакт.клеток
- ◆ Чувствительность метода- 20% - 80%
- ◆ Микроскопия следует за культивированием
(на жидких и плотных средах)

BD ProbeTec ET



- ◆ **Быстрый и точный метод диагностики туберкулеза**

Пробирки MGIT (7 мл)

Пробирки BBL MGIT (100 пробирок)

245122

- ◆ Пластиковые пробирки с полипропиленовой крышкой
- ◆ 7 мл модифицированной среды Middlebrook 7H9, pH 6.7
- ◆ Флуоресцентный индикатор на силиконовой базе на дне пробирки

Набор добавок

1. BBL MGIT OADC (6 x 15 мл)

245124

2. MGIT PANTA (6 бутылок)

лиофилизированная смесь антибиотиков разбавляется в 15 мл OADC

Polymyxin B

G-палочки

Amphotericin B

Грибы

Nalidixic acid

G-

Trimethoprim

Большинство аэробных бактерий

Azlocillin

Ps. aeruginosa

BD BACTEC MGIT 960

Дифференциальная диагностика

Идентификация МБТ-комплекса с применением теста на чувствительность р-NBA на приборе BACTEC MGIT 960.

Принцип метода:

Для дифференциации МБТ-комплекса от других микобактерий применяется чувствительность микроорганизма к паранитробензойной кислоте (р-NBA). Реагент ингибирует рост микобактерий, относящихся к МБТ-комплекса почти полностью, в том время как рост других микобактерий ингибируется слабо или не ингибируется совсем.

Тест м.б. модифицирован для применения с питательной средой BACTEC MGIT 960, в которой р-NBA будет ингибировать рост МБТ-комплекса, в результате чего будет снижаться потребление кислорода.

Этот процесс м.б. зарегистрирован прибором BACTEC MGIT 960 как низкий уровень роста (негативная пробирка).

Контроль контаминации

Контроль контаминации

- Необходимо посеять жидкость из пробирки MGIT на чашки с кровяным агаром
- Инкубировать в течение 24-х часов в термостате при +36 C
- Наличие роста на чашке свидетельствует о КОНТАМИНАЦИИ материала.

Контаминация при использовании системы MGIT и ее предупреждение

- Уровень контаминации до 5-8% от общего количества образцов может считаться приемлемым.
- При повышении уровня контаминации выше 10% необходимо принимать меры по выявлению причин контаминации и ее снижению.