

# ВАСТЕС MGIT 960

**Организация рабочего  
процесса.  
Преаналитический этап  
исследования**



# **ВАСТЕС MGIT 960**

**Бактериологическая  
лаборатория должна иметь  
лицензию на право работы с  
возбудителями  
инфекционных заболеваний  
III-IV групп патогенности,**

# Меры безопасности.

- ◆ К работе с инфекционным материалом допускаются только квалифицированные лабораторные работники.
- ◆ При работе инфекционным материалом необходимо использовать средства индивидуальной защиты;
- ◆ Все манипуляции с диагностическим материалом должны выполняться в ламинарном боксе II класса защиты, в стерильных условиях;
- ◆ В работе должна использоваться центрифуга с антиаэрозольной защитой;
- ◆ По окончании работы рабочие помещения, использованная посуда и оборудование, а также отработанный диагностический материал подвергаются дез. обработке.

# Перечень дополнительного оборудования и расходных материалов

- ◆ Бокс биологической безопасности II-класса защиты
- ◆ Антиаэрозольная центрифуга
- ◆ Паровой стерилизатор (автоклав)
- ◆ Автоматические пипетки с переменным объемом 200 мкл, 1000 мкл, 5000 мкл или степпер
- ◆ Вортекс
- ◆ Центрифужная пробирка объемом 50 мл
- ◆ Пипетка Пастера стерильная градуированная 1-3,5 мл
- ◆ Стекло предметное

# 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)

**ИССЛЕДОВАНИЮ НЕ ПОДЛЕЖИТ КРОВЬ И МОЧА!**

# ПРАВИЛА ЗАБОРА МАТЕРИАЛА НА ИССЛЕДОВАНИЕ



# 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)
- ◆ Необходимо иметь 2 контейнера (1 оставляется в лаборатории с пробами, 2-забирается после дез.обработки)

**Никогда не пользуйтесь одним контейнером для доставки, т.к. время экспозиции для дез.обработки не менее 20 минут**

- ◆ Помимо направления на всю партию диагностического материала оформляется сопроводительный лист (2 экземпляра)
- ◆ Сопроводительные документы (направления, сопроводительный лист) доставляются отдельно от проб

# Доставка диагностического материала

Доставленный диагностический материал принимает лабораторный работник, учитываются следующие параметры:

- ◆ целостность доставленных флаконов
- ◆ Количество, согласно сопроводительному листу
- ◆ Наличие всех подписей
- ◆ Правильность заполнения направлений

После чего, лаборант расписывается в сопроводительном листе, один экземпляр которого передает ответственному за доставку

При нарушении одного из параметров доставки материал исследованию не подлежит!



# Критерии направления больных на культуральное исследование МБТ с использованием жидких питательных сред и прибора ВАСТЕС MGIT 960.

- ◆ Впервые выявленные больные туберкулезом (до начала химиотерапии).
- ◆ Дифференциально-диагностические больные (если необходимо).
- ◆ Больные с распространенным и остро прогрессирующим процессом.
- ◆ При рецидивах туберкулеза (до начала химиотерапии).
- ◆ При менингитах и других формах внелегочного туберкулеза (начала химиотерапии).
- ◆ При необходимости для контроля химиотерапии.

# 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



# ВАСТЕС MGIT 960

## Этапы исследования

1. Пробоподготовка
2. Посев
3. Микроскопия мазков из осадка
4. Оценка результатов культивирования
5. Постановка теста на лекарственную чувствительность к противотуберкулезным препаратам.

В среднем длительность 1 исследования при положительном результате 15-18 дней, максимальный протокол при отрицательном результате 42 дня



# ВАСТЕС MGIT 960



# ВАСТЕС MGIT 960

## ПРОБОПОДГОТОВКА



Пробоподготовка с  
использованием пробирки  
**FALCON**



# ПРОБОПОДГОТОВКА

## Цель:

Выделить максимальное количество микобактерий.

## Основные этапы пробоподготовки:

1. Деконтаминация
2. Концентрация
3. Нейтрализация

## Важно:

- ♦ строго следовать рекомендациям BD в отношении процедуры деконтаминации
- ♦ Уровень контаминации, рекомендуемый CDC - 5%

# ПРОБОПОДГОТОВКА

Для обеспечения оптимальной производительности труда, соблюдения всех рекомендуемых параметров и предотвращения кросс-контаминации образцов рекомендуется одновременная обработка не более 10 образцов

# Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories

**U.S. Department of Health and Human Services**  
Public Health Service

Centers for Disease Control  
and Prevention

*and*

National Institutes of Health

**Fourth Edition**  
**April 1999**

U.S. GOVERNMENT PRINTING OFFICE  
WASHINGTON: 1999

---

# ПРОБОПОДГОТОВКА

## Необходимые реактивы и расходные материалы:

- ◆ Пробирка полипропиленовая с завинчивающейся крышкой стерильная 50 мл (типа FALCON);
- ◆ Пипетка Пастера одноразовая, стерильная 3,5-5 мл;
- ◆ Емкость с дез.раствором для жидких инфицированных отходов;
- ◆ Контейнер для отработанных пробирок;
- ◆ Стерильный раствор BBL MucosPrep (раствор N-ацетил-цистеина с гидроксидом натрия и цитратом натрия);
- ◆ BBL MucosPrep Phosphate Buffer (Фосфатный буфер), стерилизованный и охлажденный заранее;

## Необходимое оборудование:

- ◆ Ламинарный бокс II-класса защиты
- ◆ Антиаэрозольная центрифуга с охлаждением (ускорение не менее 3000 G)
- ◆ Вортекс
- ◆ Таймер



# BBL MycoPrep

## Набор для деконтаминации образцов



NALC-NaOH = N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide

**240862**

10 x 75-мл раствора NALC-NaOH и  
5 пакетов фосфатного буфера  
(pH 6.8)

**240863**

10 x 150-мл раствора NALC-NaOH и  
10 пакетов фосфатного буфера  
(pH 6.8)

Раствор NaOH-цитрата

NALC ампула (2 - в 150 мл)

# ПРОБОПОДГОТОВКА

## Подготовительный этап:

1. Приготовление фосфатного буфера: растворить 1 пакет солевой основы в 0,5 л д. воды, разлить во флаконы, автоклавировать при 1 атм. (121\*С) 15 мин., охладить, хранить при 4-8\*С 7-10 дней
2. Подготовка раствора BBL MycoPrep:



Разбить ампулу,  
находящуюся  
внутри бутылки.



Тщательно перемешать.  
Использовать в течение  
24 ч.



# BBL MycoPrep – УДОБСТВО и ЭКОНОМИЧНОСТЬ



## Преимущества

Стабильность раствора в течение 24 ч

В наборе содержится фосфатный буфер

Хранение при комнатной температуре

## Выгоды

Позволяет избежать сложностей, связанных с  
взвешиванием, перемешиванием

Экономия времени, безопасность персонала.



# Приготовление раствора NALC-NaOH или MycoPrep

## NAOH-NaLC

- ♦ растворить 29 г. цитрата натрия в 1 л д. воды (раствор А)
- ♦ 40 г NaOH растворить в 1 л холодной воды (раствор В)
- ♦ Разлить во флаконы необходимым объемом (100-150 мл)
- ♦ Стерилизовать при 1 атм. (121 °С, 15 мин)
- ♦ Взвесить NALC в требуемом количестве (0,5 г на 100 мл готового р-ра NaOH-цитрат натрия)
- ♦ Перемешать равные количества раствора А и В
- ♦ Добавить NALC в раствор NaOH
- ♦ Перемешать
- ♦ Использовать в течение 24 ч

## BBL MycoPrep

- ♦ Разбить ампулу NALC в бутылке с содержанием раствора NaOH
- ♦ Перемешать
- ♦ Использовать в течение 24 ч

# ДЕКОНТАМИНАЦИЯ

## NaOH

- ◆ NaOH используется с целью разжижения и деконтаминации исследуемых материалов
- ◆ Конечная концентрация щелочи (гидроксида натрия) в образце должна составлять 1%
- ◆ Не рекомендуется использование NaOH в концентрации более 2% с целью деконтаминации, так как это может оказаться токсичным для ряда микобактерий.

### ВАЖНО!

Для предотвращения перекрестной контаминации при работе в ламинарном боксе может быть открыта только одна пробирка с образцом!

# ДЕКОНТАМИНАЦИЯ



- ❶ В каждой пробирке - 5-7 мл образца, если больше, то необходимо разделить его на 2 пробирки

# ДЕКОНТАМИНАЦИЯ



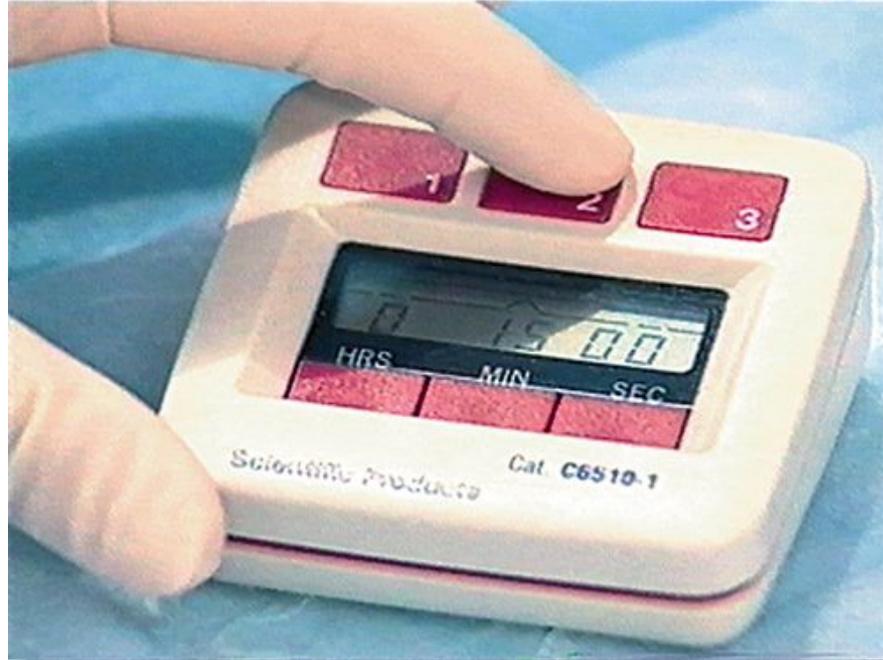
- ② Добавить равное количество (10 мл) свежеприготовленного раствора NALC-NaOH в пробирку с образцом и закрыть ее

# ДЕКОНТАМИНАЦИЯ



- ③ Смешать содержимое пробирки с помощью Vortex в течение  $\approx$  20 сек, но не более 30 сек (риск разрушить NaLC), можно перемешать содержимое пробирки вручную

# ДЕКОНТАМИНАЦИЯ



- ④ Оставить образец на 15 мин при комнатной температуре

# ДЕКОНТАМИНАЦИЯ



- 6 Добавить стерильный фосфатный буфер до 50 мл.
- 6 Закрывать пробирку и осторожно перемешать содержимое.

# Концентрация



- ⑥ Поместить образцы в центрифугу на 15 мин при 3000  $g$

# Концентрация



- После центрифугирования необходимо вылить из пробирки всю жидкость. Исследуемый образец останется на дне пробирки (1-3 мл)

# Нейтрализация



- ⑧ Добавить 0.5-2 мл стерильного фосфатного буфера конечная рН образца 6,8 – 7.

# Нейтрализация



- ③ Ресуспендировать осадок, использовать суспензию для посева на жидкие и плотные среды, а также для приготовления мазка.

# Пробоподготовка

Полученный материал необходимо использовать в следующем порядке:

- 1) посев в пробирки MGIT;
- 2) посев на плотные питательные среды;
- 3) приготовление мазков.

Если материал не используется немедленно, он должен быть заморожен при -20 С.

Материал рекомендуется сохранять по меньшей мере в течение 1-2 недель, так как он может понадобиться для повторного посева в случае контаминации.