

ВАСТЕС МGІТ 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

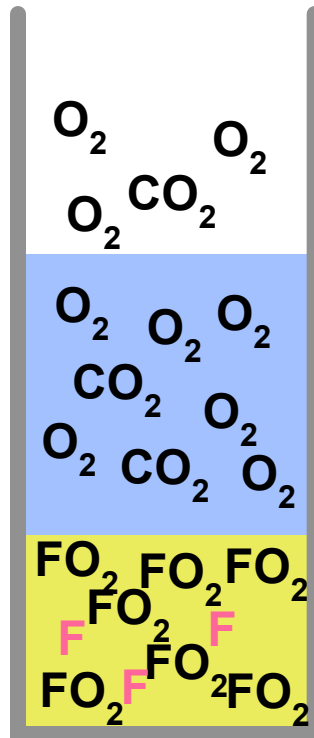
Отрицательные: незначительное или полное отсутствие свечения
(большое количество растворенного кислорода)



Технология MGIT

Отрицательная пробирка

Положительная пробирка

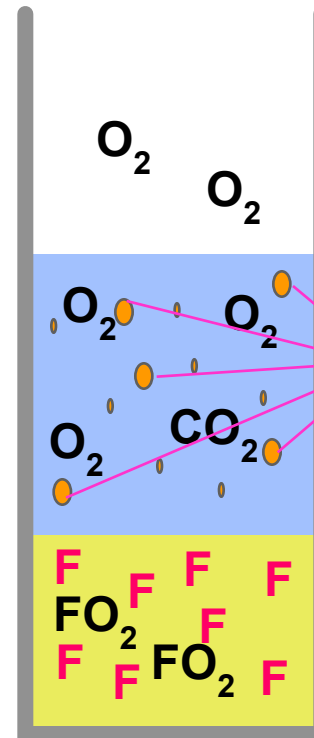


Свободное пространство

Жидкая пит. среда

Флуоресцентный датчик

Флуоресценции нет



Кислород потребляющие бактерии

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

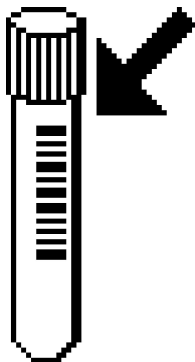
- ◆ Закрyть пробирку крышкой и перемешать.
- ◆ Загрузить пробирки MGIT в BACTEC MGIT 960.
- ◆ Пробирки с плотными средами поместить в термостат в горизонтальных штативах не 2-4 дня, затем переставить в вертикальные штативы, еженедельно просматривать
- ◆ Приготовленные мазки из осадка высушить, окрасить 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



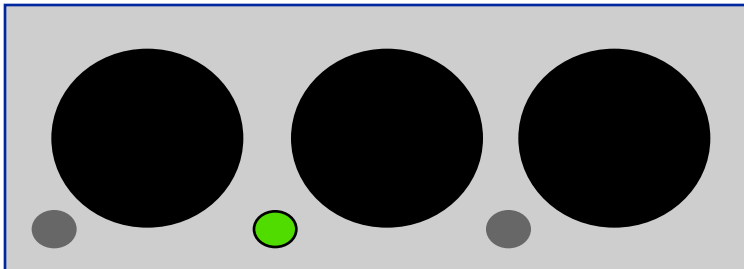
ВАСТЕС MGIT 960

Шаг 2: Считать штрих-кода пробирки с помощью сканера



ВАСТЕС MGIT 960

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

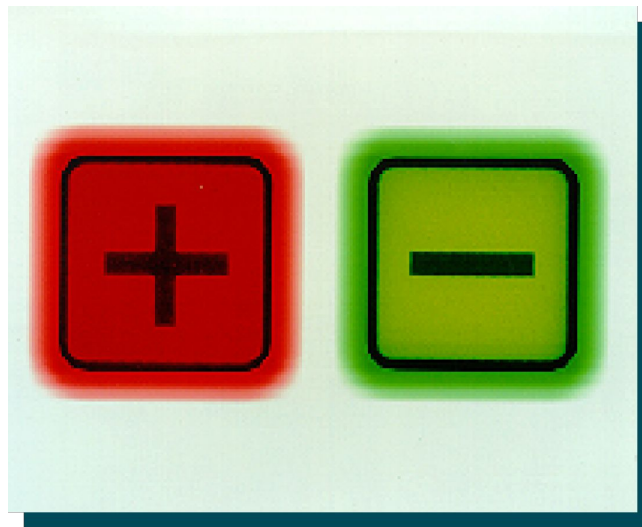


ВАСТЕС MGIT 960

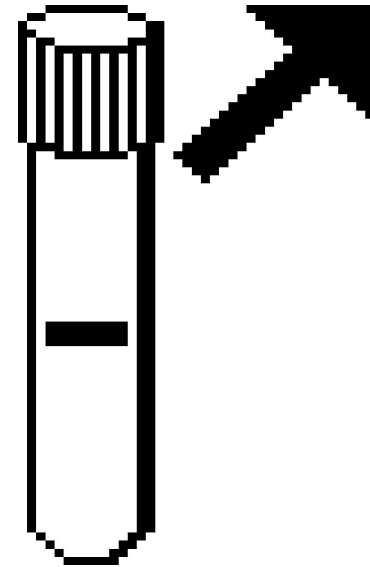
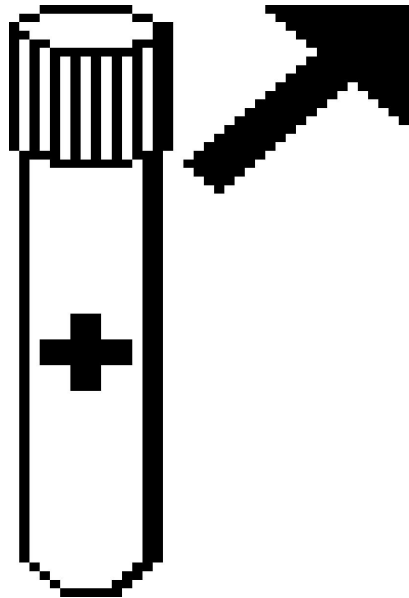
- ◆ Микобактерии туберкулеза дают положительный рост не ранее чем на 4 сутки с момента посева
- ◆ Если положительный рост наблюдается раньше - это может быть либо контаминация, либо рост нетуберкулезных микобактерий

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

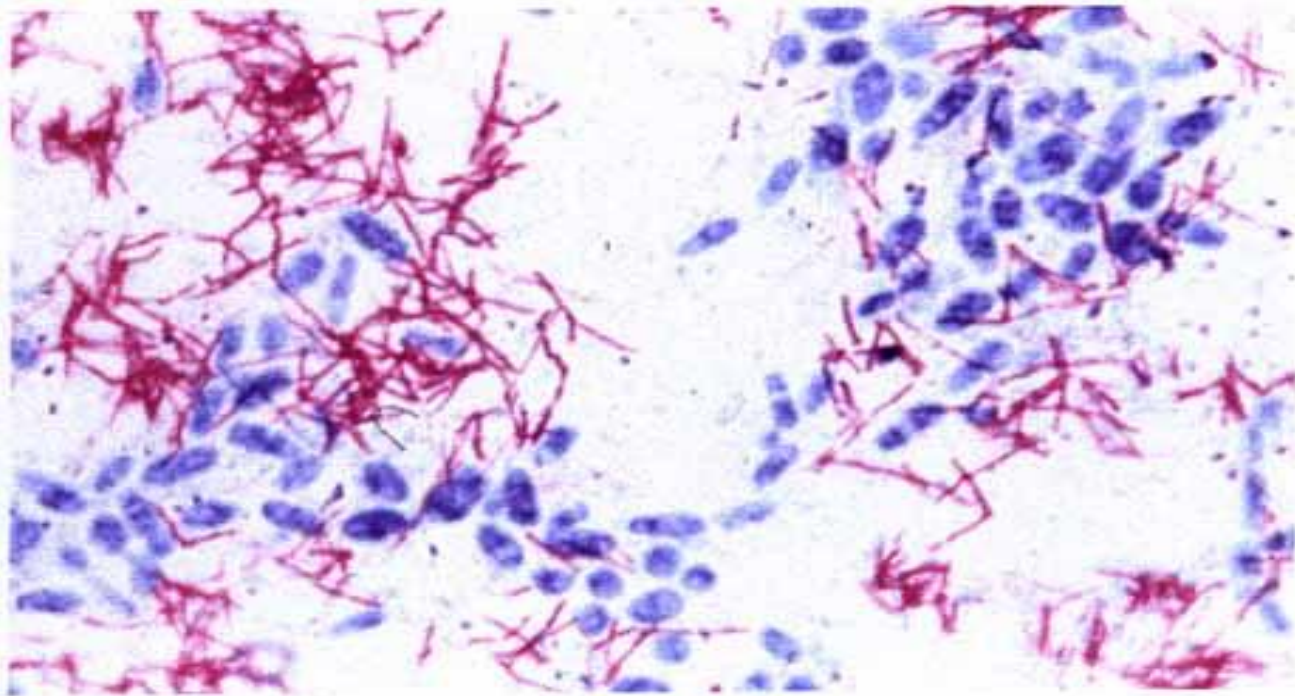


- ◆ **BD предлагает широкий спектр красителей**
 - ◆ Ziehl-Neelsen 212520, 212511, 212517, 212516
 - ◆ Kinyoun stains 212522, 212523, 212518
 - ◆ Rapid 2-step modification of classical techniques (TB Quick Stain)
212315, 212316, 212317

 - ◆ 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 С
- 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.