

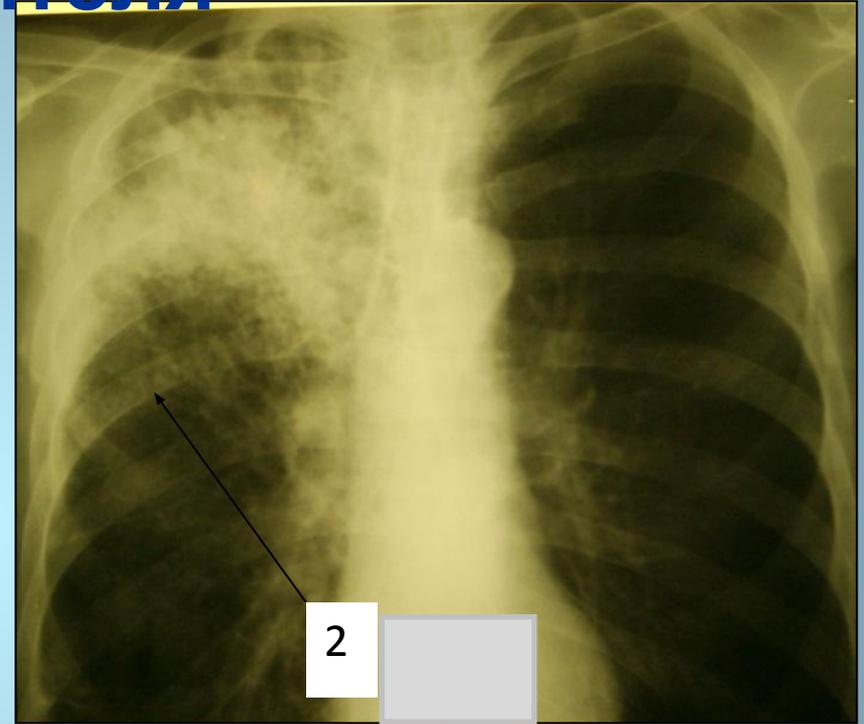
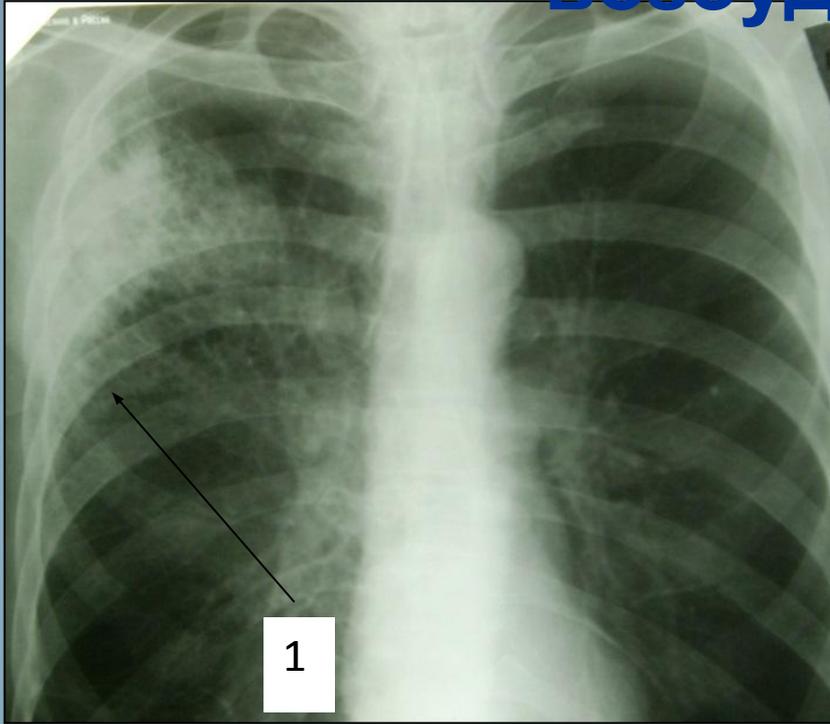
**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ
СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ
ДИАГНОСТИКИ МБТ НА БАЗЕ
БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ
ЛАБОРАТОРИИ ГБУЗ ЯО «ОКТБ»**

О.Ю.Соснина

**зав. бактериологической
лабораторией, врач - бактериолог
высшей категории**

Ярославль, 2016г.

Поздняя идентификация возбудителя



Обзорная рентгенограмма, выполненная с интервалом 18 дней.

- 1. Остропрогрессирующий инфильтративный туберкулез.**
- 2. Казеозная пневмония верхней доли правого легкого (тот же больной через 18 дней). Летальный исход.**



**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**
(Минздрав России)

П Р И К А З

19 декабря 2014 г.

№ 951

Москва

**Об утверждении
методических рекомендаций по совершенствованию диагностики
и лечения туберкулеза органов дыхания**

ГД У	Этап наблюдения / лечения	Методы исследования, кратность						
		Люм/ LED микро- скопи я	МГМ		ВАСТЕС МGIT		Плотные среды	
			ДНК МБТ	Наличи е мутац ий	Посев (на пробирку MGIT)	ТЛЧ	Посев (на 1 или 2 проби рки)	ТЛЧ (если нет данны х ВАСТЕС)
0	Перед постановкой на учет (далее ежемесячно)	из 2-х образц ов	из 1 или 2-х образцов	1-кр. при ДНК МБТ+	из 1 или 2- х образцов	1-кр. при МБТ+	из 2-х образ цов	1-кр. при МБТ+
I-A I-B II-A	До лечения	из 2-х образц ов	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 образ цов	1-кр. при МБТ+
	Интенсивная фаза х/т (частота обследования – в зависимости от режима х/т)	из 2-х образц ов	из 1 образца при наличии показаний	1-кр. при ДНК МБТ+	из 1 образца при наличи показани й	1-кр. при МБТ+	из 1 образ ца	1-кр. при МБТ+
	Фаза продолжения х/т (частота обследования – в зависимости от режима х/т)	из 2-х образц ов	из 1 образца при наличии показаний	1-кр. при ДНК МБТ+	из 1 образца при наличи показани й	1-кр. при МБТ+	из 1 образ ца	1-кр. при МБТ+
	Завершение курса	из 2-х	-	-	-	-	из 2-х	-

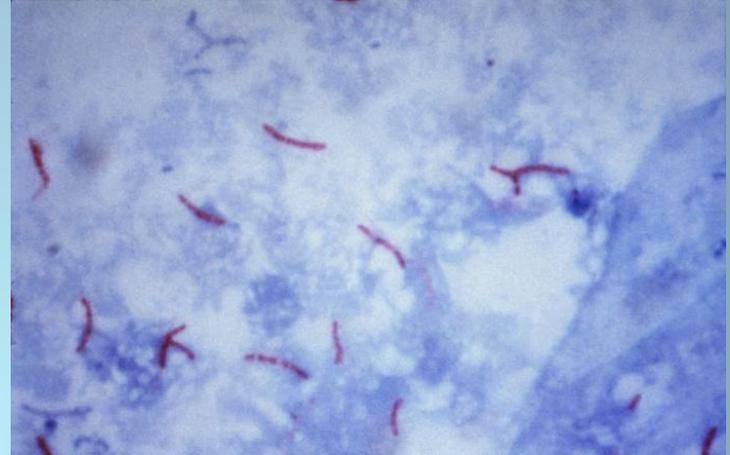
II-Б	по показан иям, но не реже 1 раза в шесть месяцев	из 2-х образцо в	-	-	-	-	из 1 образца	1-кр. при МБТ+
III	Перед зачисле нием в группу, в дальней шем – не реже 1 раза в 6 мес.	из 2-х образцо в	-	-	-	-	из 2-х образцо в	-
IV-A IV-Б IV-B	Перед зачисле нием в группу, в дальней шем – не реже 1 раза в 6 мес.	из 2-х образцо в	из 1 или 2-х образцо в	1-кр. при ДНК МБТ+	из 1 или 2-х образцо в	1-кр. при МБТ+	из 2-х образцо в	1-кр. при МБТ+

V-A V-B V-B	Перед зачисле нием в группу, в дальней шем – по показан иям	из 2-х образцо в	из 1 или 2-х образцо в	1-кр. при ДНК МБТ+	из 1 или 2-х образцо в	1-кр. при МБТ+	из 2-х образцо в	1-кр. при МБТ+
VI-A VI-B	Перед зачисле нием в группу, в дальней шем – по показан иям	из 2-х образцо в	из 1 или 2-х образцо в	1-кр. при ДНК МБТ+	из 1 или 2-х образцо в	1-кр. при МБТ+	из 2-х образцо в	1-кр. при МБТ+

Методы микроскопии

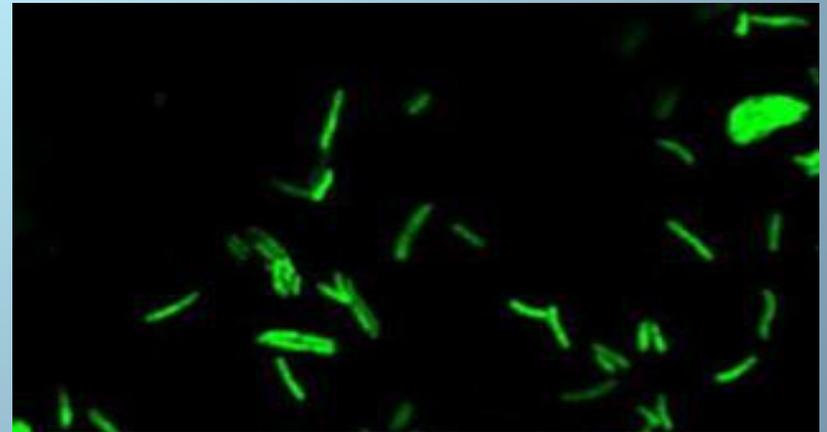
- **Микроскопия с окраской по Цилю-Нильсену:**

- нативный материал
- доступен для лабораторий всех уровней
- не требует особых затрат
- результат через 1 час



- **Микроскопия люминесцентная:**

- осадок
- только для ЛУ фтизиатрического профиля
- результат на 2 сутки



Недостатки методов:

- Не позволяют дифференцировать МБТ от нетуберкулёзных МБ
- Можно обнаружить КУМ только при наличии 5000 – 10000 микробных тел в 1 мл мокроты

Бактериологические методы

Посев на плотные среды:

- Левенштейна- Йенсена
- Финн-2

Достоинства методов:

- Позволяют выявить КУМ при наличии в 1 мл исследуемого материала 10-100 микробных тел (чувствительность метода 70-80%);
- При получении чистой культуры можно протестировать её лекарственную чувствительность;
- Можно использовать любой материал.

Недостатки методов:

- Длительность протокола исследования: отрицательная пробирка – 90 дней, положительная – 18-36 дней;



Бактериологические методы

**Посев на жидкие среды с
использованием
автоматизированной
системы ВАСТЕС MGIT 960**



Система детекции и определения чувствительности микобактерий туберкулеза BD ВАСТЕС™

МСН™ 060



Достоинства методов:

- Позволяют выявить КУМ при наличии в 1 мл исследуемого материала 10-100 микробных тел (чувствительность метода 70-80%)
- При получении чистой культуры можно протестировать её лекарственную чувствительность.

Недостатки методов:

- Длительность протокола исследования: отрицательная пробирка 42 дня, положительная – от 3 дней и выше.
- Нельзя исследовать кровь и мочу;
- Высокая стоимость исследования.

Идентификация МБ

Рост различных видов микобактерий на среде Левенштейна-Йенсена

R форма колоний микобактерий



M. szulgai
Желтого или
оранжевого цвета
шероховатые
колонии



M. smegmatis
шероховатые
колонии от
желтого до
темно-желтого
цвета



M. tuberculosis
Темно-желтого
цвета
шероховатые
колонии

S форма колоний микобактерий



M. goodii
Желтого или
оранжевого
гладкие кол

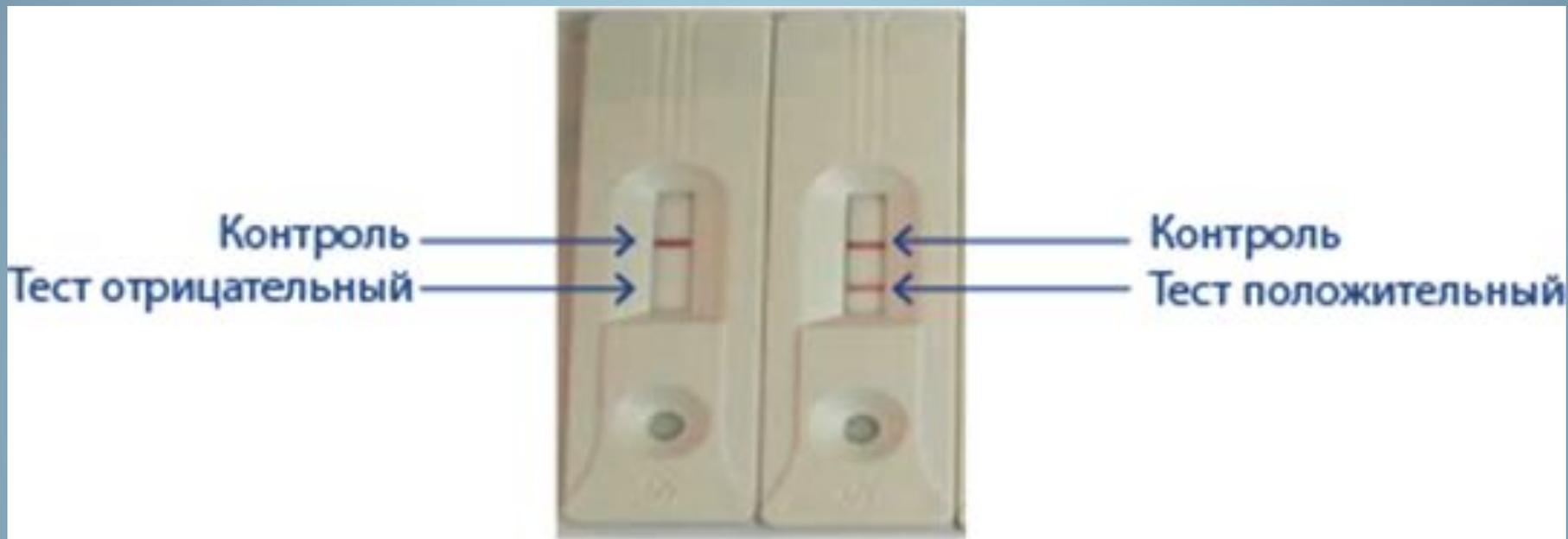


M. mageritense
Темно-жел
цвета глад
колонии



M. xenopi
Гладкие
колонии
желтого ц

Метод иммунохроматографии



Основан на определении наличия специфического антигена МБТ МРТ-64

- Прост в выполнении
- Обеспечивает идентификацию МБТ за 15 минут

Молекулярно-генетические методы

1. Биологические микрочипы;
2. ДНК-стрипы;
3. Мультикомплексная ПЦР в режиме реального времени;
4. Картриджная технология.

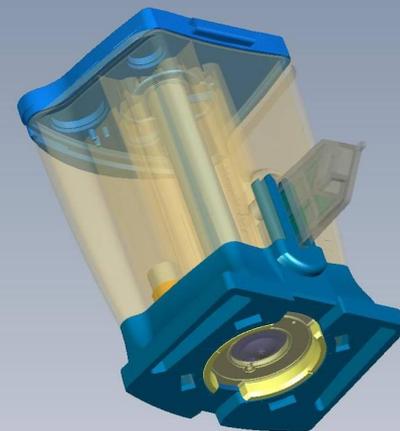
Преимущества методов:

- Быстрое (в течение рабочей смены) и достоверное выявление больных с МЛУ
- Позволяют выявлять устойчивость к препаратам второго ряда, разделять потоки больных и включать в режим лечения наиболее эффективные препараты

Недостатки методов:

- Высокая стоимость аппаратуры и расходных материалов

Молекулярно-генетический метод GENEXPERT МТВ/РИФ



Клинический пример

Пациентка Н, 26 лет, выявлена по обращению с бронхолегочными жалобами. Госпитализирована в пульмонологическое отделение. Получала лечение по поводу внебольничной пневмонии, осложненной экссудативным плевритом в течение 13 дней, без положительного эффекта. После консультации фтизиатра переведена в хирургическое отделение ГБУЗ ЯО ОКТБ, где было проведено обследование, в том числе ПЦР-исследование мокроты.

Клинический диагноз: очаговый туберкулёз нижней доли правого легкого , осложнённый экссудативным плевритом

ПЦР-исследование

Assay Information				
Assay		Assay Version		
Xpert MTB-RIF Assay G4		5		
Test Result:		MTB DETECTED VERY LOW; Rif Resistance DETECTED		
Test and Analyte Result				
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result
Probe D	29.6	92.0	POS	PASS
Probe C	29.7	107.0	POS	PASS
Probe E	0	-5.0	NEG	PASS
Probe B	29.2	72.0	POS	PASS
SPC	25.6	209.0	NA	PASS
Probe A	29.3	82.0	POS	PASS
QC-1	0	0	NEG	PASS
QC-2	0	0	NEG	PASS

В результате данного исследования были выявлены микобактерии туберкулёза с устойчивостью к RIF, что позволило поставить диагноз очаговый туберкулёз и начать своевременное и адекватное лечение.

Рентгенограмма



на момент выявления

Мультикомплексная ПЦР в режиме реального времени



Станция для выделения ДНК



Амплификаторы

Распространенность туберкулеза МБТ+ МЛУ (на 100 тыс.)



Биологический материал, исследуемый данными методами:

1. **Bactec MGIT 960:** мокрота , промывные воды бронхов, плевральная жидкость, спинномозговая жидкость.
2. **Система GeneXpertDx:** мокрота, промывные воды бронхов, плевральная жидкость, спинномозговая жидкость.
3. **ПЦР в режиме Real Time:** любой биологический материал, кроме крови.

- Для анализа в автоматизированной системе Bactec MGIT 960 используются стерильные пробирки на 50 мл с плотно завинчивающейся крышкой. Для ПЦР диагностики используются контейнера в индивидуальной упаковке с контрольной лентой

(признак того, что баночка до пациента не вскрывалась).
- Биологический материал должен доставляться в стерильной посуде (каждая соответствует выполняемому анализу) и сопровождаться направительным бланком в котором указывается название ЛПУ, Ф.И.О. больного, год рождения, адрес, диагноз, вид патологического материала, дата, цель исследования, подпись врача.

Благодарю за внимание!