

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТУБЕРКУЛЕЗА И МИКОБАКТЕРИОЗА

ФГБУН ЦНИИТ, Москва

- В условиях напряженной эпидемической ситуации по туберкулезу в РФ остро стоит проблема быстрой и качественной диагностики туберкулеза.

- Задача бактериологической службы заключается в совершенствовании алгоритма микробиологических исследований для диагностики туберкулезной инфекции.

Род
Mycobacterium

```
graph TD; A[Род Mycobacterium] --- B[Микобактерии туберкулезного комплекса (МТК)]; A --- C[Микобактерии лепры]; A --- D[Нетуберкулезные микобактерии (НТМ)];
```

Микобактерии
туберкулезного
комплекса (МТК)

Микобактерии
лепры

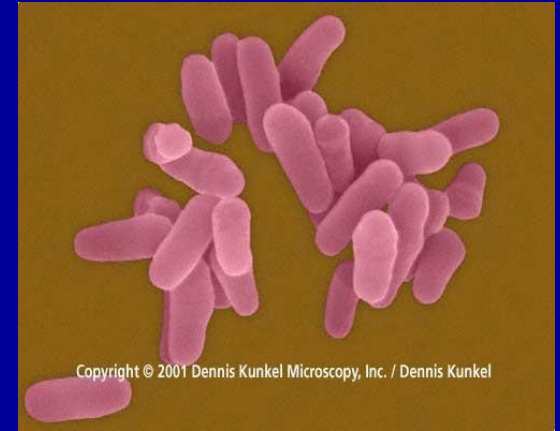
Нетуберкулезны
е микобактерии
(НТМ)

M. tuberculosis complex

● *Mycobacterium tuberculosis* complex

● 7 видов:

M. tuberculosis, *M. africanum*, *M. microti*,
M. pinipedii, *M. caprae*, *M. bovis*,
M. canetti (*M. prototuberculosis*)



● Неподвижные, палочковидные бактерии:

● низкая скорость роста, специфическая клеточная стенка

● Высокое сходство между видами на уровне ДНК: сходство последовательности ДНК между видами >99%

Но: Существенные различия по биохимическим/фенотипическим свойствам, географической

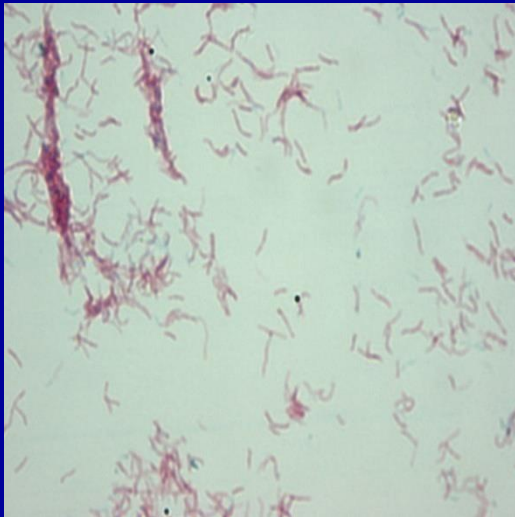
Схема выявления возбудителя туберкулеза классическими микробиологическими методами



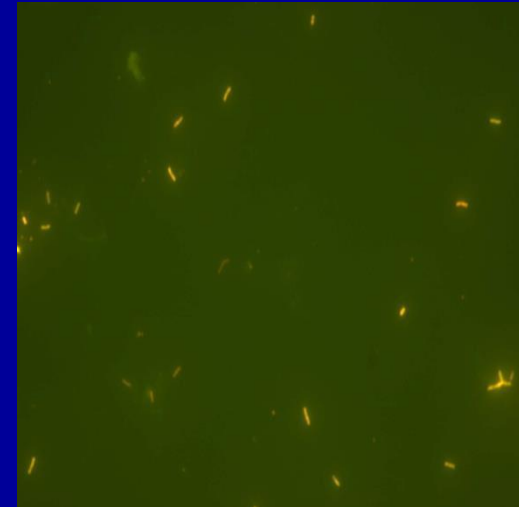
методов – выявление кислотоустойчивых бактерий

Чувствительность - от 10 000 клеток в 1 мл диагн. материала

Окраска по Цилю-Нильсену



Окраска люминесцентными красителями



Число кислотоустойчивых бактерий (КУБ), обнаруживаемых при микроскопическом исследовании, важный показатель, характеризующий степень эпидемической опасности больного и тяжесть заболевания

Культуральные методы

Посев на плотные питательные среды



- среды условно селективные
- продолжительность исследования 10 недель (70 дней)
- еженедельный просмотр посевов

колонии *M.tuberculosis*
на среде Левенштейна-Йенсена

Посев более чувствителен, чем микроскопия

- обнаруживает 10-100 живых бактерий в 1 мл материала

Посев необходим:

- для получения культуры микобактерий
- видовой идентификации
- тестирования лекарственной чувствительности

Время получения результатов исследования на туберкулез классическими микробиологическими методами

- ❖ Микроскопия – 1-2 дня
- ❖ Культуральное исследование – 3-10 нед.
- ❖ Лекарственная чувствительность – 3-4 нед.

Всего от 6 до 14 недель

- За время, прошедшее с момента вступления в силу

Приказа МЗ РФ № 109 от 20.03.2003,
лабораторная служба кардинально
изменилась, многие баклаборатории были
полностью переоснащены современным
оборудованием .

- Большая часть крупных лабораторий уже использует ускоренные методы микробиологической диагностики.

Ускоренные методы выявления возбудителя

Культуральные

Культивирование на жидких питательных средах с автоматической регистрацией роста культуры

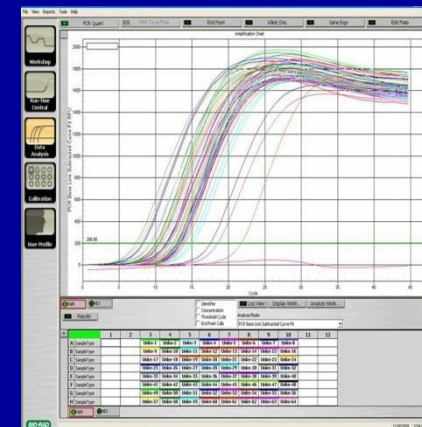
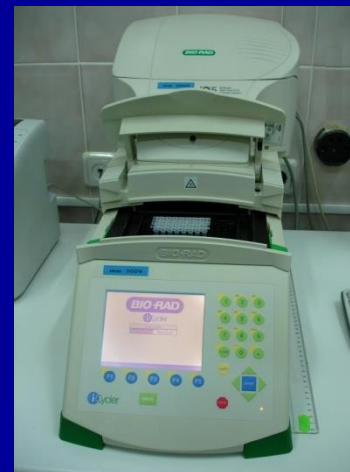
Вастес MGIT 960 7-14 дней



Молекулярно-генетические

Выявление ДНК возбудителя в диагностическом материале

ПЦР 1-2 дня



ΒΑΣΤΕC™ ΜGΙΤ™ 960



ΒΑΣΤΕC ΜGΙΤ 960



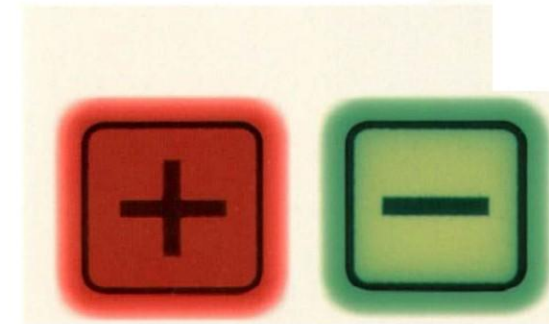
Βύβωρ οπєρακι



Σκаниρωαиє штрих-кода



Загрузка ячєйки, выделєнной зелєным индикатором



VK".3"TEIN nOIO HTeIBHOH H OTJHJI,"T eIBHOH AETEκii,HH ME

Автоматизированная система предназначена для выявления микобактерий и определения лекарственной чувствительности МБТ

- 1. Постоянный автоматический мониторинг роста МБТ.**
- 2. Получение достоверных результатов в течение 5-14 дней.**
- 3. Автоматический контроль качества.**
- 4. Производительность (до 8000 тестов в год)**

В основе методики лежит изобретение индикаторной пробирки **MGIT** - **M**ycobacteria **G**rowth **I**ndicator **T**ube.

В дно встроен флуоресцентный кислородный датчик.

1 раз в час флуоресцентный сенсор считывает результаты тестирования.

Отрицательные:

незначительное или полное отсутствие свечения

O₂ много
много



Положительные:

яркое оранжевое свечение на дне пробирки и оранжевое отражение в колене пробирки

O₂ мало
мало

- Лаборатории до определения лекарственной

чувствительности должны

дифференцировать

МБТ от НТМ.

M.tuberculosis complex

характеризует совокупность признаков

- Медленная скорость роста - более 3-х недель
- Морфология колоний - R или S формы
- Температура роста - 35 - 37°C.
- Отсутствие пигментообразования - цвет слоновой кости
- Выраженная кислотоустойчивая окраска
- Положительный ниациновый тест
- Положительный нитратредуктазный тест
- Отсутствие термостабильной каталазы (68°C)
- Отсутствие роста на среде Левенштейна-Йенсена, содержащей:
 - 1000 мкг/мл натрия салициловокислого;
 - 500 мкг/мл паранитробензойной кислоты;
 - 5% хлорида натрия.
- Рост в присутствии 1.5 мкг/мл ТСН

Видовая идентификация возбудителя, выросшего на средах

МИКРОСКОПИЯ

КИСЛОТОУСТОЙЧИВЫЕ ПАЛОЧКИ

Микобактерии туберкулезного
комплекса
(МТК)

Нетуберкулезные микобактерии
(НТМ)

Быстрая дифференциация
МТК от НТМ:
• ПЦР IS6110
• ТВс-ID (Becton Dickinson)

Идентификация НТМ до вида:
• технология ДНК-стрипов (Hain-test)
• масс-спектрометрия

Нетуберкулезные микобактерии (НТМ)



Источники заражения НТМ



4 группы НТМ (Runyon)

Медленнорастущие
видимый рост на среде
более, чем через 7

дней

Быстрорастущие
видимый рост на среде
более, чем через 7 дней

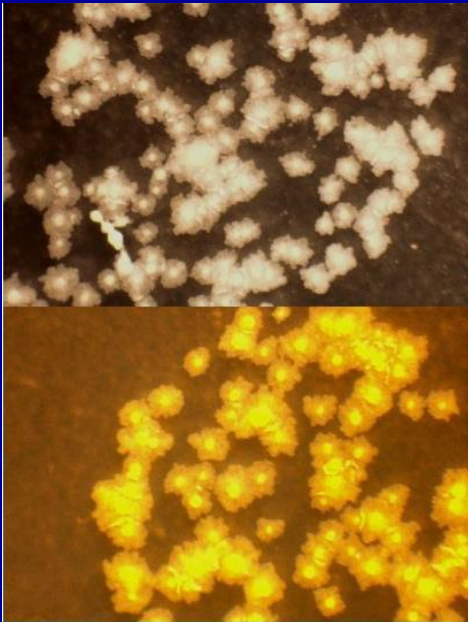
1. **Фототрофные**
M. marinum
M. simiae

2. **Микрофототрофные**
M. szulgai
M. scrofulaceum

3. **Нехромогенные**

M. avium complex (MAC)
M. xenopi
M. malmoense

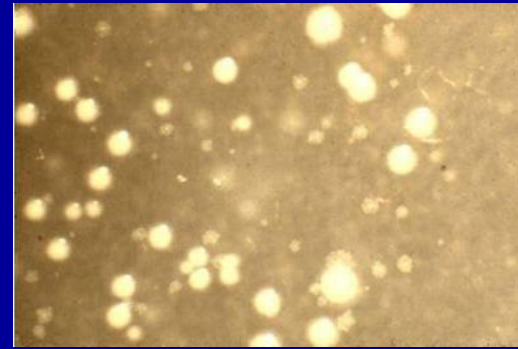
M. chelonae
M. abscessus
M. fortuitum



колонии *M. kansasii* до и
после экспозиции на свету



колонии *M. gordonae*



колонии *M. avium*

Наиболее распространенные НТМ, способные вызывать заболевание человека

Медленнорастущие	Быстрорастущие
<i>M. avium</i>	<i>M. abscessus</i>
<i>M. intracellulare</i>	<i>M. chelonae</i>
<i>M. kansasii</i>	<i>M. fortuitum</i>
<i>M. malmoense</i>	
<i>M. marinum</i>	
<i>M. simiae</i>	
<i>M. szulgai</i>	
<i>M. ulcerans</i>	
<i>M. xenopi</i>	

НТМ вызывают поражения

- легких
- лимфатических узлов
- кожи и подкожной клетчатки
- костей и суставов
- раневых поверхностей
- диссеминированные процессы

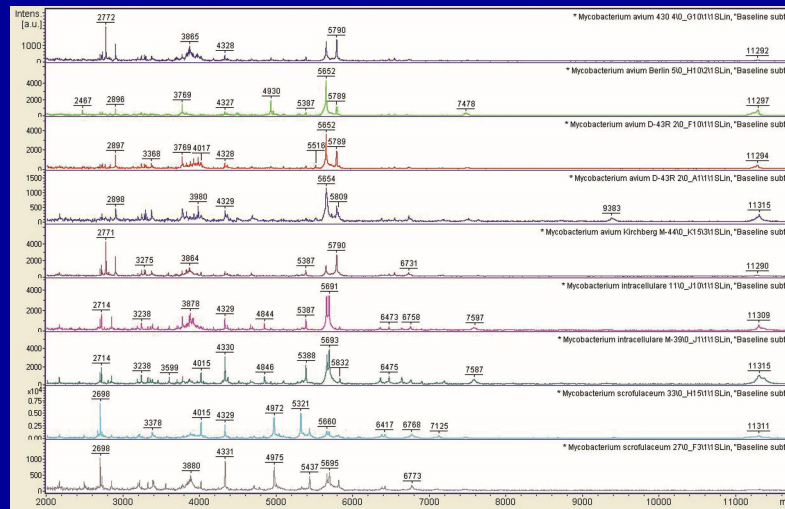
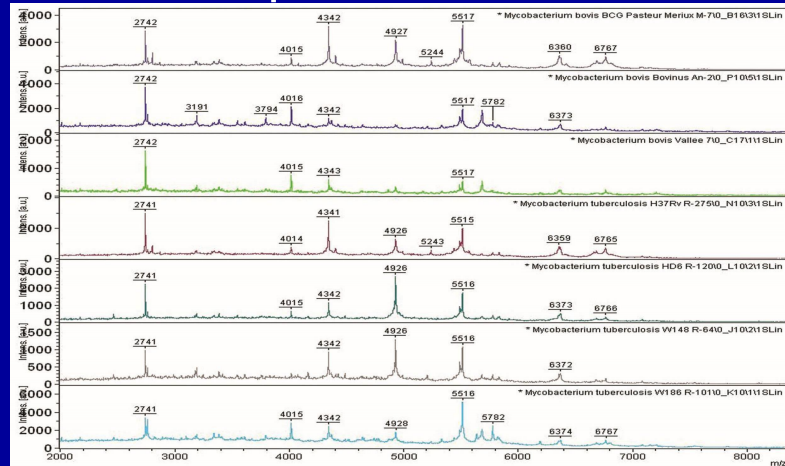
Методы дифференциации МБТ от НТМ

- ПЦР IS6110, выявляющая вставочную последовательность, присутствующую только у микобактерий туберкулезного комплекса.
- Иммунохроматографический метод (ID-test)

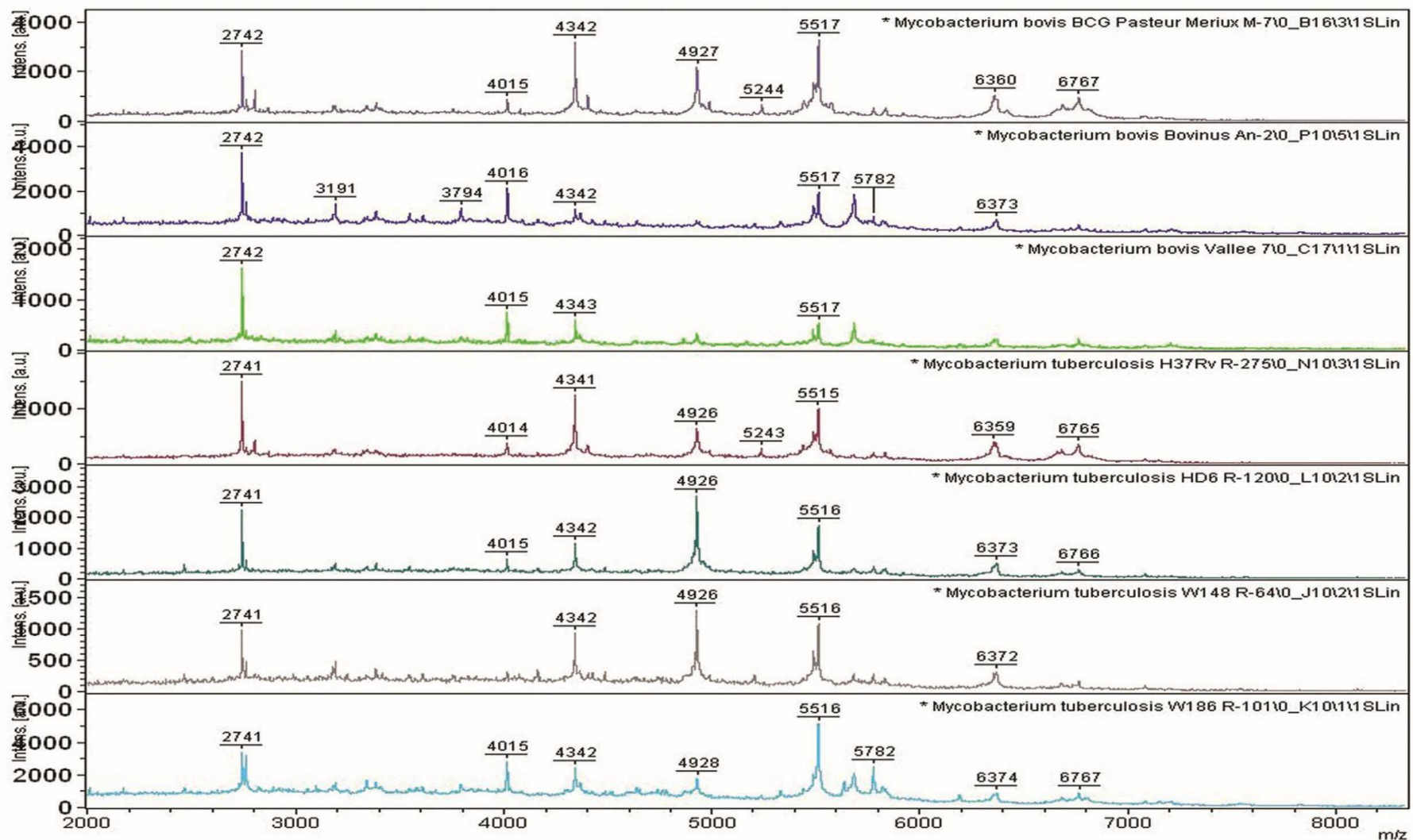


Идентификация НТМ до вида

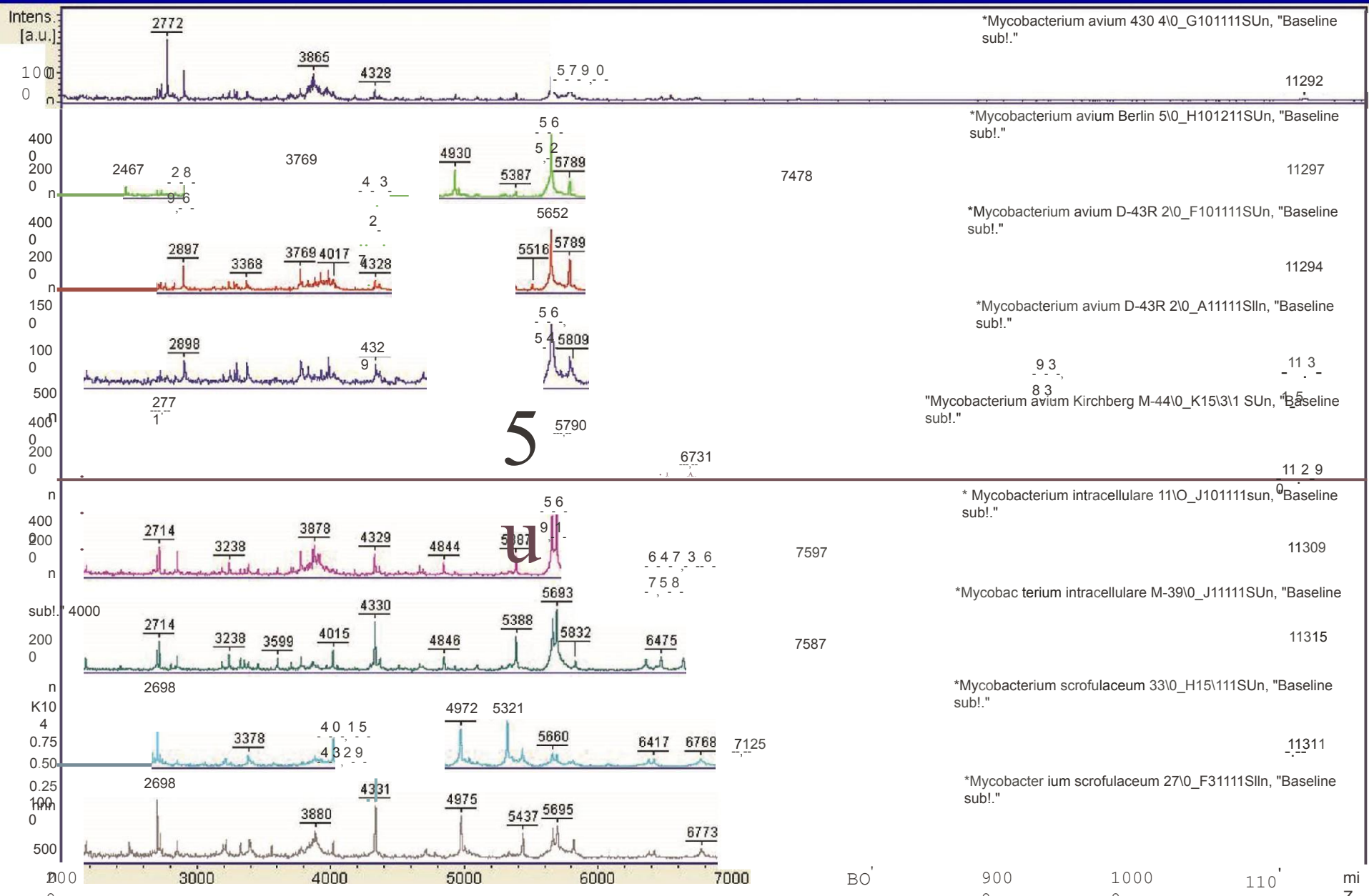
MALDI-ToF масс-спектрометрия, позволяет получить белковые спектры, которые являются уникальными для каждого вида микобактерий.



M. tuberculosis complex



MAIS complex



Определение лекарственной чувствительности микобактерий

Метод абсолютных концентраций

- Культура считается чувствительной, если число колоний, выросших в пробирке с критической концентрацией препарата, не превышает 20, а посевная доза соответствует 1×10^7 микробных тел.

Ускоренные методы выявления и определения лекарственной чувствительности *M.tuberculosis*

- Культуральные
 - Колориметрический (с реактивом Грисса)
 - ВАСТЕС MGIT 960
- Молекулярно-генетические методы

Колориметрический метод определения лекарственной чувствительности *M.tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам I и II ряда

Время получения результата - 8-12 дней

S – 10, H – 1, R – 40, F – 8 мкг/мл
K – 45, OfI – 4, Et – 30, Cap – 50, Cs – 30, PAS – 1 мкг/мл

Штамм МБТ,
устойчивый ко
всем
препаратам

Штамм МБТ,
чувствительный
ко всем
препаратам

Штамм МБТ



Определение лекарственной чувствительности в автоматизированном анализаторе BACTEC MGIT 960



- автоматический мониторинг роста микобактерий
- при достижении в контрольной пробирке значения единиц роста (growth units; GU=400) система сообщает о завершении теста
- культура считается устойчивой, если значение единиц роста более 100.

Максимальное время исследования



на бор SIRE Kit:
на 40 определений ЛЧ

На чувствительность к SIRE – 14 суток



на бор PZA Kit:
на 50 определений ЛЧ

На чувствительность к PZA – 21 сутки

Современные методы определения лекарственной чувствительности микобактерий

МТК

Культуральные

- 1) Колориметрический метод
- 2) Bactec MGIT 960

ПТП 1-го и 2-го ряда

Молекулярно-генетические
(1-3 дня)

- Мультиплексная ПЦР (Синтол)
RIF, INH, Fq
- ТБ-биочип, ТБ-биочип-2
RIF, INH, OfI
- ДНК-полоски (Hain-test)
 - GenoType® MTBDRplus
 - RIF, INH, Fq, PZA
 - GenoType® MTBDRsl
 - фторохинолоны/циклические пептиды
 - этамбутол
- Секвенирование гена *rtcA* (ЦНИИЭ)
PZA

НТМ

Культуральные

Sensititre TREK Diag
(Magellan Biosciences)

Определение чувствительности НТМ

- Нетуберкулезные микобактерии резистентны к большинству противотуберкулезных препаратов.
- Важно дифференцировать микобактериоз и МЛУ/ШЛУ туберкулез.
- Для определения лекарственной чувствительности НТМ применяется планшетное титрование Sensititre TREK Diag (Magellan Biosciences)

Спектр антибактериальных препаратов (Sensititre TREK Diag, Magellan Biosciences)

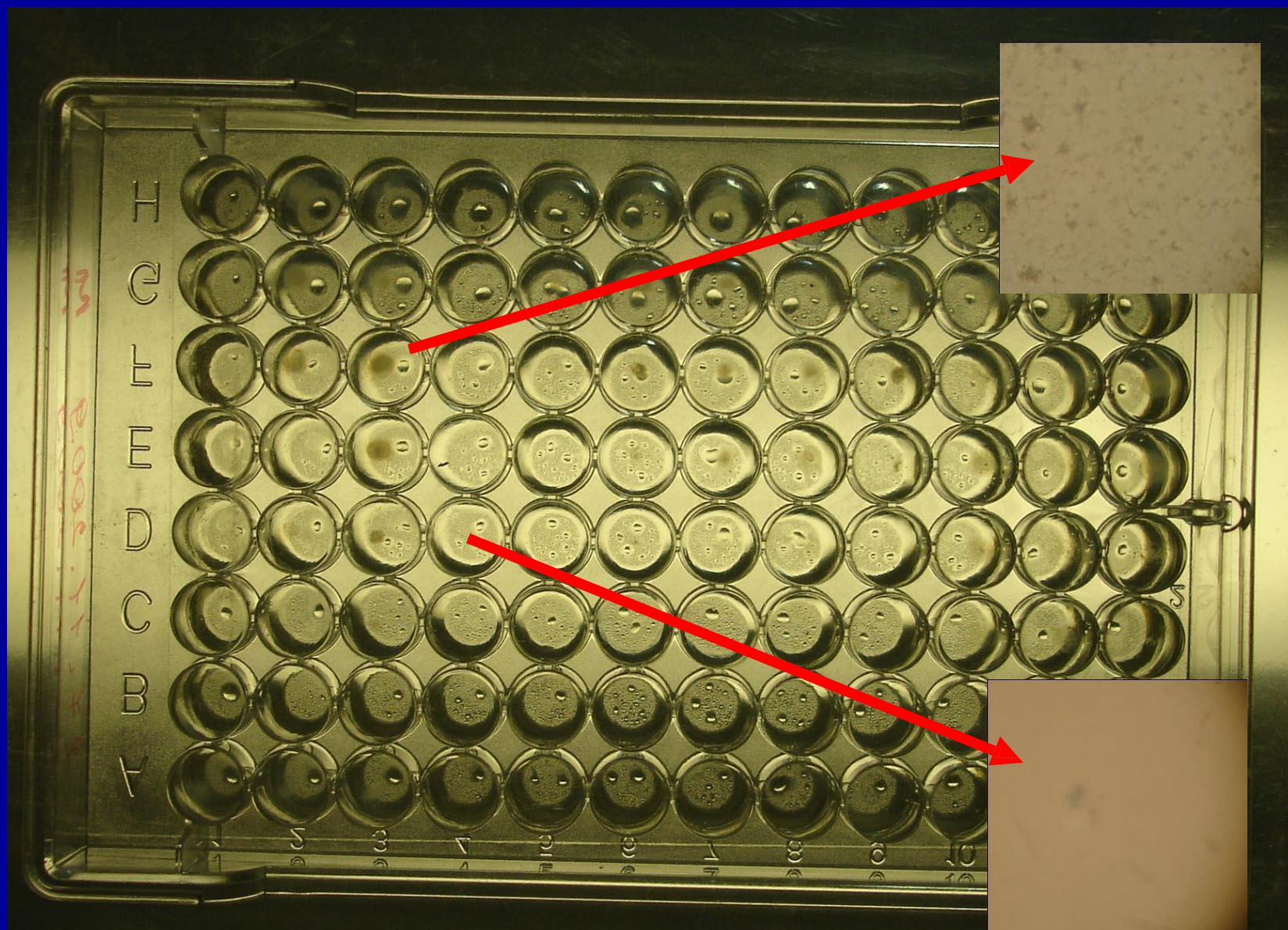
- Быстрорастущие НТМ

- Триметоприм
- /сульфаметоксазол
- Ципрофлоксацин
- Моксифлоксацин
- Цефоксацин
- Амикацин
- Доксисицилин
- Тайгецилин
- Кларитромицин
- Линезолид
- Имипенем
- Цефепим
- Амоксициллин
- /клавулоновая кислота
- /клавулоновая кислота
- Цефтриаксон
- Миноциклин
- Тобрамицин

- Медленнорастущие НТМ

- Кларитромицин
- Ципрофлоксацин
- Стрептомицин
- Доксисицилин
- Этионамид
- Рифабутин
- Этамбутол
- Изониазид
- Моксифлоксацин
- Рифампицин
- Триметоприм
- Амикацин
- Линезолид

Определение лекарственной чувствительности НТМ



Тест на лекарственную чувствительность

Чувствительность НТМ

Быстрорастущих НТМ

Patient 4294
M.fortuitum

Patient 4066
M.chelonae

Patient 521
M.abscessus

Trimethoprim/Sulfameth. RES
Linezolid RES (sense to high conc)
Ciprofloxacin
Impinem RES
Moxifloxacin
Cefepime RES
RES Cefoxitin
RES Amoxicillin/Clavulanic ac. RES
Amoxicillin/Clavulanic ac. RES
Amikacin RES
Ceftriaxone RES
Doxycycline RES
Minocycline RES
Tigecycline RES
Tobramycin RES
Clarithromycin
RES

Trimethoprim/Sulfameth. RES
Linezolid RES
Ciprofloxacin RES
RES Impinem
RES Moxifloxacin
RES Cefepime
RES Cefoxitin RES (sens to high conc)
Amoxicillin/Clavulanic ac. RES (sens to high conc)
Amikacin RES (sens to high conc)
Ceftriaxone RES
Doxycycline RES
Minocycline RES
Tigecycline RES
Tobramycin RES
Clarithromycin
RES

Trimethoprim/Sulfameth. RES
Linezolid
Ciprofloxacin RES
Impinem RES
Moxifloxacin RES (sens to high conc)
Cefepime RES
Cefoxitin RES (sens to high conc)
Amoxicillin/Clavulanic ac. RES (sens to high conc)
Amikacin
Ceftriaxone RES
Doxycycline RES
Minocycline RES
Tigecycline RES (sens to high conc)
Tobramycin RES (sens to high conc)
Clarithromycin RES (sens to high conc)

Тест на лекарственную чувствительность медленнорастущих НТМ

Patient 4422
M.kansasii

Clarithromycin
Rifabutin
Ethambutol RES (sens to high conc)
Isoniazid (sens to high conc)
Moxifloxacin
Rifampin
Trimethoprim/Sulfamethoxazole RES
RES Amikacin
Linezolid
Ciprofloxacin RES (sens to high conc)
Streptomycin RES (sens to high conc)
Strepptomycin RES (sens to high conc)
Doxycycline RES
Ethionamide

Patient 3377
M.avium

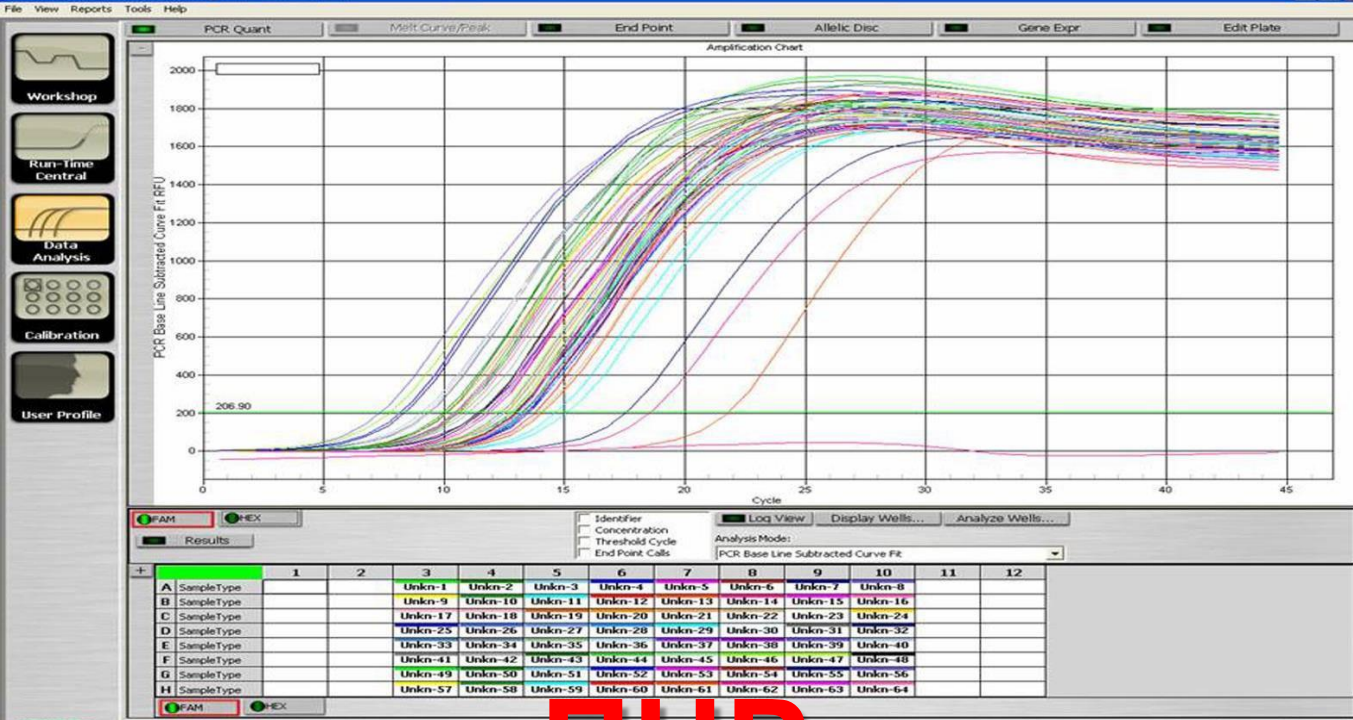
Clarithromycin RES (sens to high conc)
Rifabutin
Ethambutol RES
Isoniazid RES
Moxifloxacin RES
RES Rifampin
Trimethoprim/Sulfamethoxazole RES
RES Amikacin RES (sens to high conc)
Linezolid RES
Ciprofloxacin RES (sens to high conc)
Streptomycin RES
Doxycycline RES
Ethionamide RES

Задачи молекулярно-генетических методов исследования для фтизиатрии

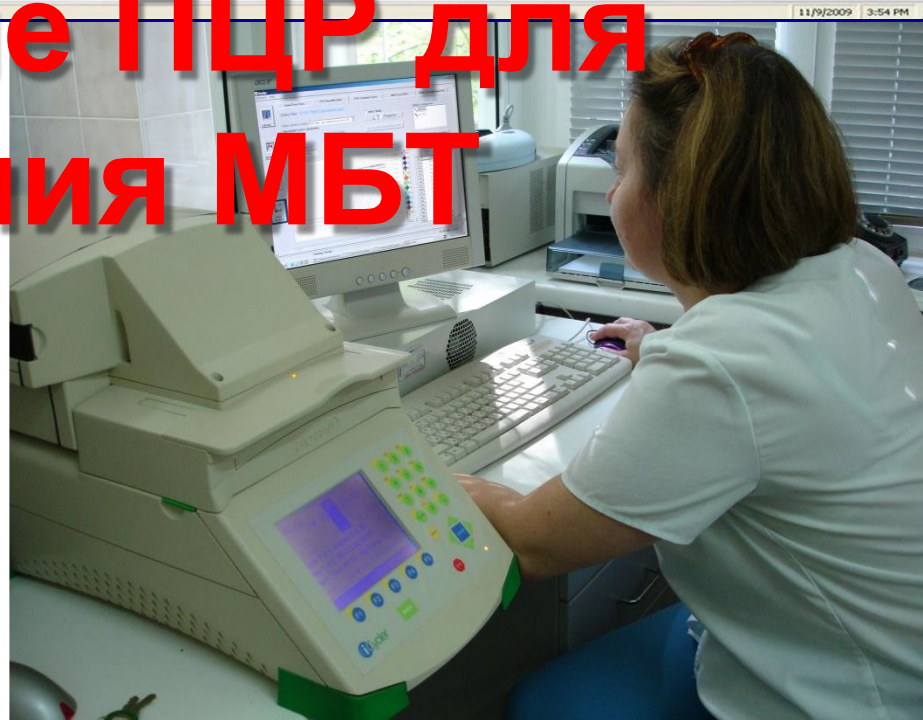
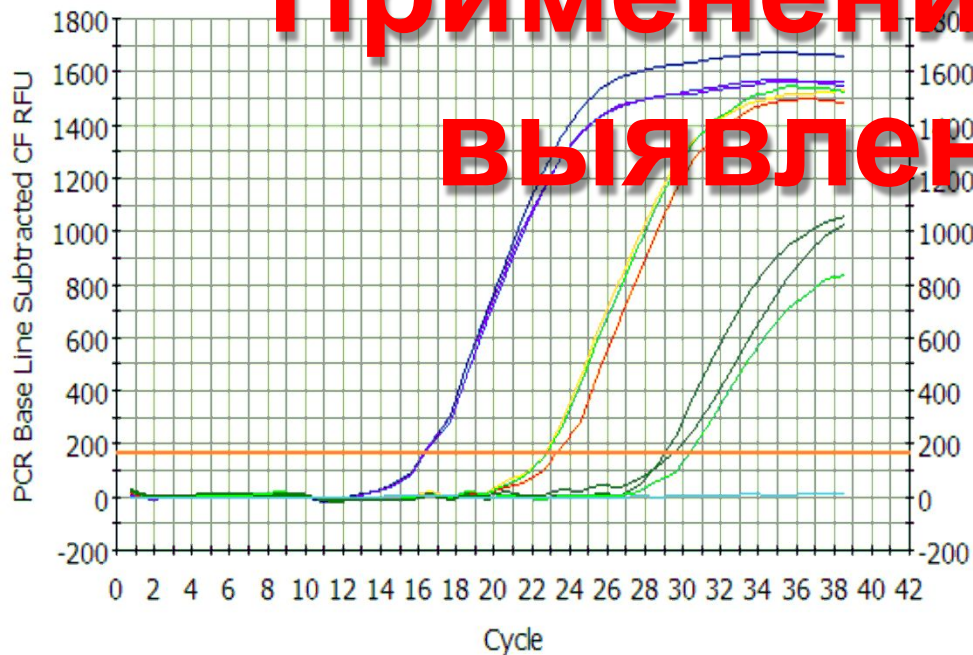
- Выявление и идентификация микобактерий туберкулеза**
 - Определение лекарственной чувствительности штаммов**
 - Типирование штаммов**

Расшифровка генома МБТ позволила

- охарактеризовать элементы генома, присущие микобактериям туберкулезного комплекса
- выявить полиморфные последовательности в геноме, позволяющие отличать различные виды и штаммы МТК между собой



Применение ПЦР для выявления МБТ



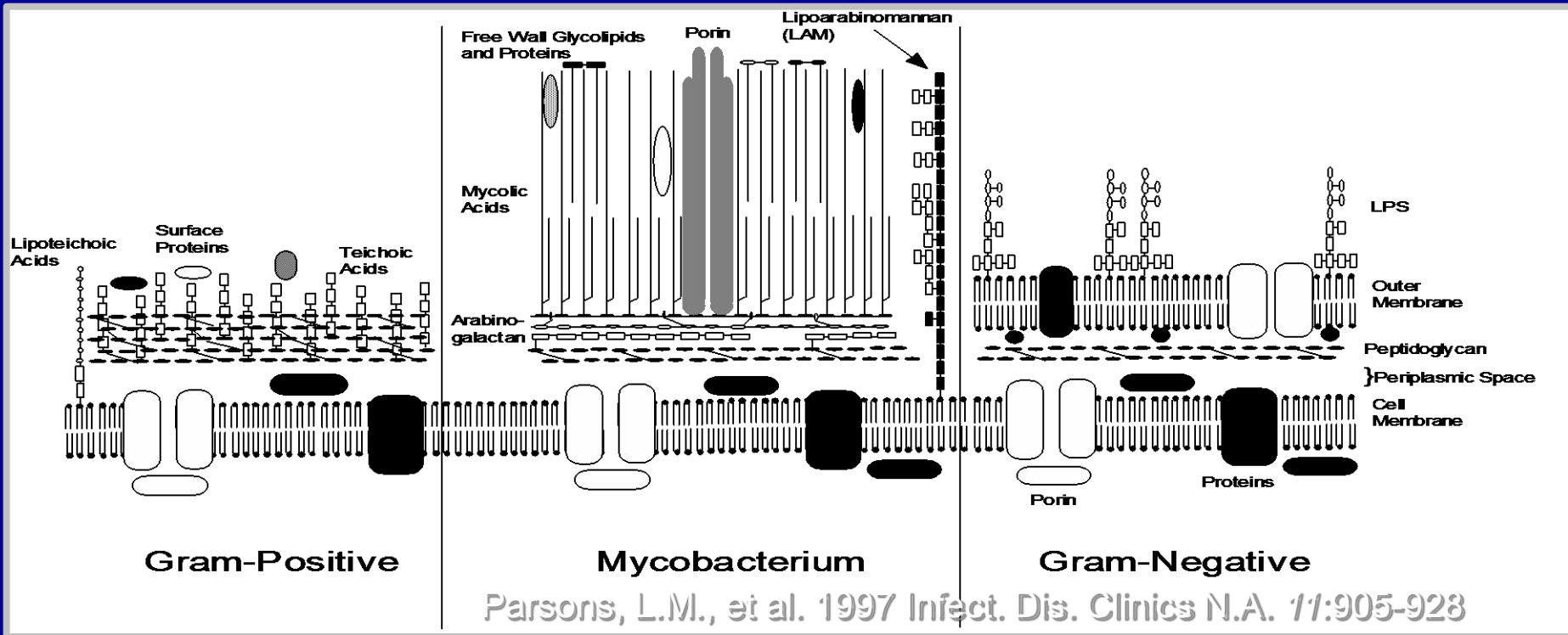
Достоинства метода ПЦР

- Прямое определение наличия возбудителей
- Быстрота проведения анализа
- ПЦР можно проводить с любым диагностическим материалом
- Высокая специфичность
- Высокая чувствительность

Классическая ПЦР состоит из трех этапов:

- 1) Выделение ДНК**
- 2) Амплификация (собственно ПЦР)**
- 3) Детекция результатов**

Выделение ДНК *M.tuberculosis*



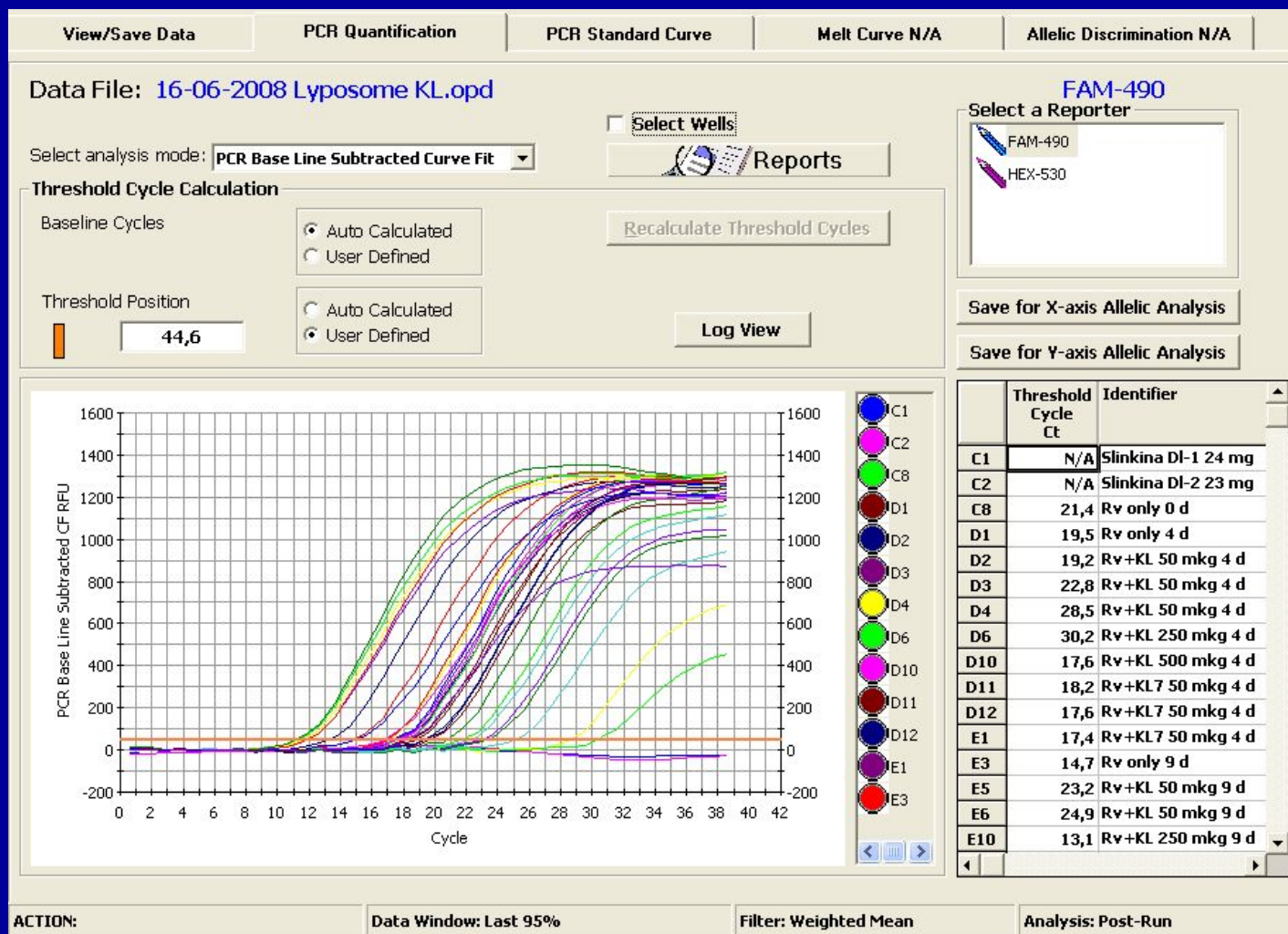
Задача этапа выделения ДНК:

Как можно лучше разрушить микобактериальные клетки и получить как можно больше ДНК без примесей и ингибиторов

Способы выделения ДНК

- **Одношаговые**
- **Достоинства:** быстрота, низкая вероятность контаминации.
- **Недостатки:** низкая эффективность выделения ДНК, загрязненность раствора ДНК (может привести к ложноотрицательным результатам)
- **Многошаговые**
- **Достоинства:** высокая эффективность выделения ДНК из клеток, высокая чистота раствора ДНК
- **Недостатки:** требуется больше времени на выделение, повышается риск контаминации (может привести к ложноположительным результатам)

Результаты ПЦР в режиме реального времени, полученные на амплификаторе с оптическим модулем ICycler IQ-4 (BIO-RAD)



КОНТАМИНАЦИЯ

Перенос инфекционного материала или ДНК из пробирки в пробирку во время проведения анализа.

Меры борьбы:

- 1. Использование одноразового пластика.
- 2. Постановка контролей на каждом этапе исследования.
- 3. Обязательная каждодневная влажная уборка поверхностей ламинаров, приборов, штативов и дозаторов со специальными деконтаминационными реагентами.

Организация ПЦР-лаборатории (основные требования к помещениям)

Правильная организация ПЦР-лаборатории – один из важных факторов, предотвращающих контаминацию.

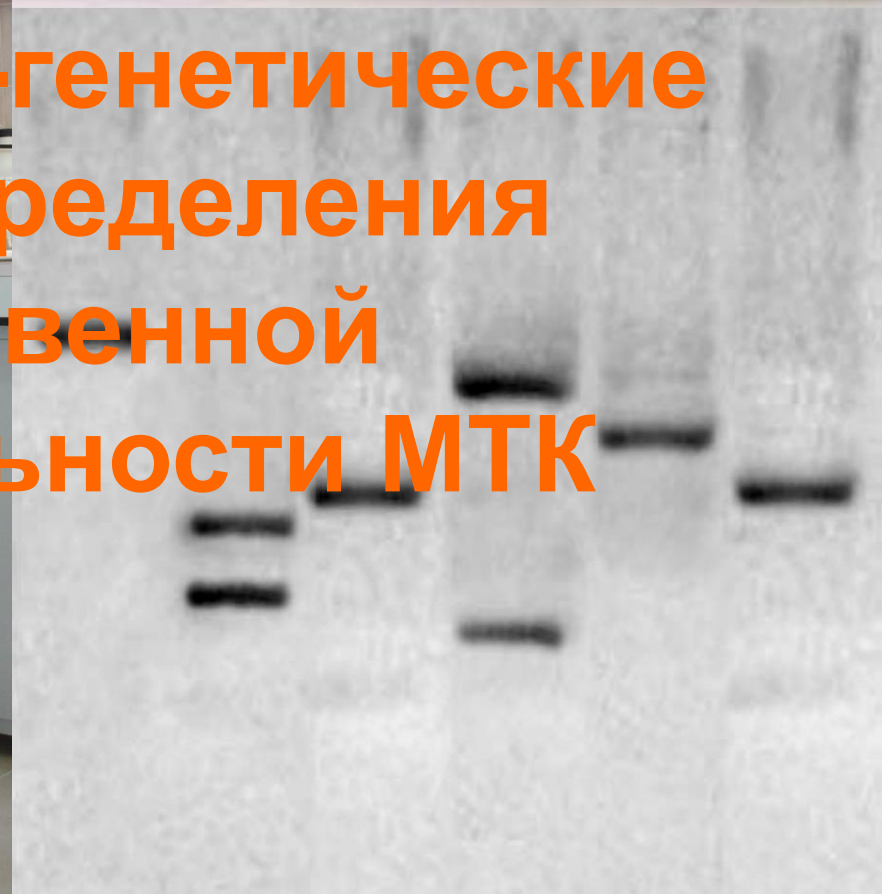
- 1. Комната для выделения ДНК из диагностического материала, оборудованная ламинарным боксом II класса биологической безопасности, центрифугами, вортексами, термоблоками, дозаторами и пр.
- 2. Комната для приготовления реакционной смеси для ПЦР, оборудованная ламинарным боксом I класса биобезопасности, термоблоками, центрифугами, вортексами, дозаторами.
- 3. Комната для внесения выделенной ДНК в реакционную смесь.
- 4. Комната для проведения амплификации, оборудованная термоциклерами
- 5. Электрофорезная.
- 6. Чистые шлюзы

Внедрение ПЦР позволило:

- **значительно сократить сроки подтверждения диагноза туберкулеза**
- **контролировать эффективность химиотерапии у больных туберкулезом легких с отрицательными результатами бактериоскопии и посева**



**Молекулярно-генетические
методы определения
лекарственной
чувствительности МТК**



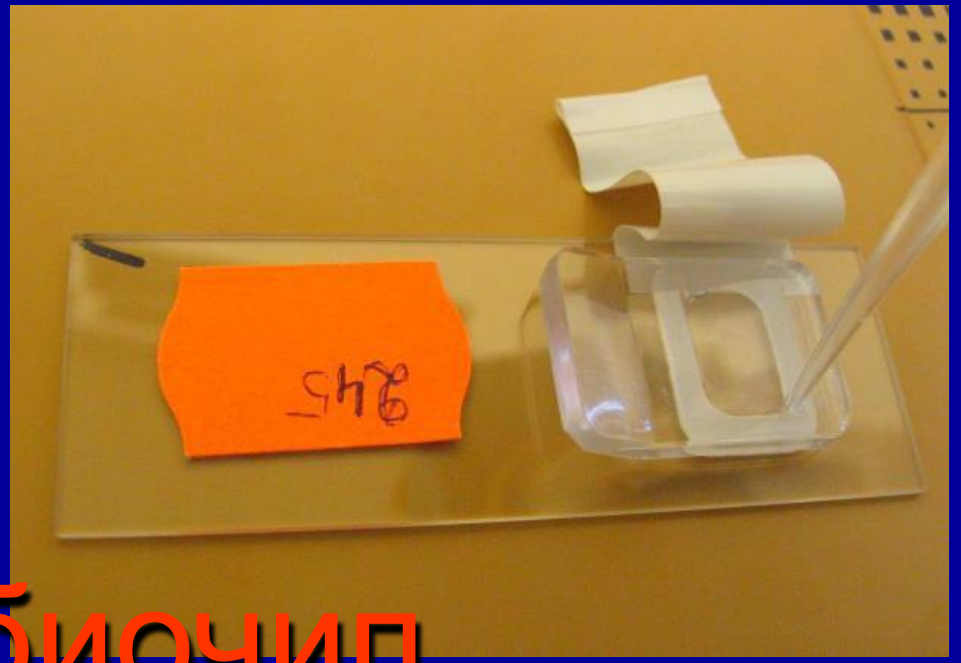
20 10 2009

Молекулярно-генетические методы определения лекарственной устойчивости основаны на выявлении мутаций в геноме микобактерий

Препарат	Гены
Изониазид (H)	<i>katG</i> <i>inhA</i> , <i>ahpC</i> <i>kasA</i>
Рифампицин (R)	<i>rpoB</i>
Этамбутол (E)	<i>embCAB</i>
Пиразинамид (Z)	<i>pncA</i>
Стрептомицин (S)	<i>rpsL</i> , <i>rrs</i>

Препарат	Гены
Протионамид (Pto)	<i>inhA</i>
Парааминосалици- ловая кислота (PAS)	<i>thyA</i>
Фторхинолоны (Fq)	<i>gyrA</i> <i>gyrB</i>
Циклосерин (Cs)	<i>traA</i>
Канамицин (K)	<i>rrs</i>
Капреомицин (Cm) Виомицин (Vi)	<i>tlyA</i>

Препараты	Гены	Продукты генов	Частота встречаемости среди устойчивых штаммов МБТ, %
Рифампицин	<i>rpoB</i>	β -субъединица РНК-полимеразы	Более 95
Изониазид	<i>katG</i>	Каталаза-пероксидаза (KatG)	60-70
	<i>inhA</i>	Еноилкислая фосфатредуктаза (InhA)	Менее 10
	<i>oxyR-ahpC</i>	Алкилгидроксиперокси редуктаза (AhpC)	Около 20
	<i>acrM-kasA</i>	Комплекс ацилнесущего белка AcrM и β -кетоацилкислой фосфатсинтетазы (KasA)	единичные
Пиразинамид	<i>pncA</i>	Пиразинамидаза (PncA)	70-95
Этамбутол	Область <i>embCAB</i>	Арабинозилтрансфераза (EmbCAB)	Около 70
Стрептомицин	<i>rpsL</i>	Рибосомальный белок S12	60
	<i>rrs</i>	16S рибосомальная РНК	Менее 10
Фторхинолоны	<i>gyrA</i>	α -субъединица ДНК-гиразы	Более 90
	<i>nor</i>	Efflux протеин	

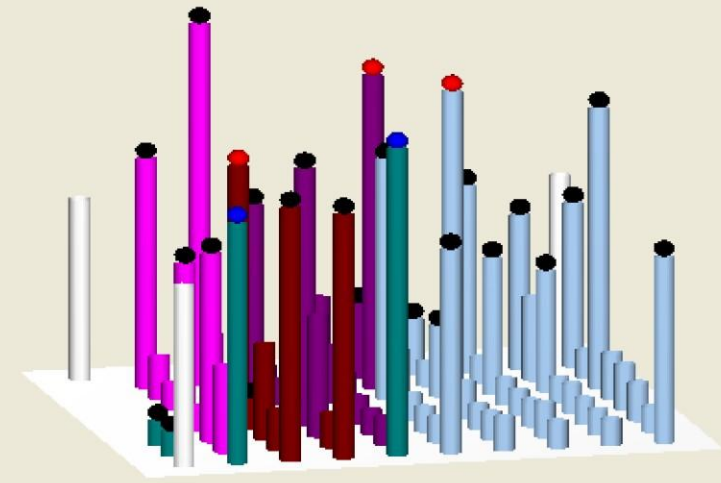
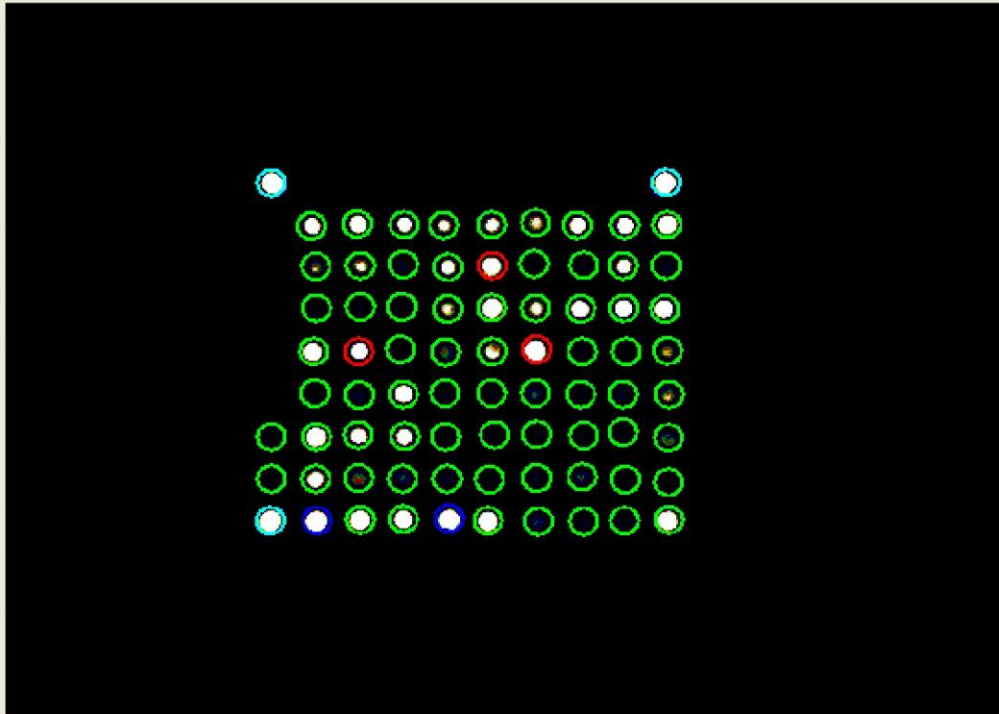


ТБ-биочип



Приборы для изучения мутаций в геноме *M.tuberculosis* на биочипах





Or4eT (MDR TB Chip)

06Hap)I>I<eHa .QHK MIIK06aKTepiiiL.1 ry6epKYile3Horo KOMnileKca (cparMeHT 156110). 06HapY>J<eHa Myra4111fl 8 reHe ppoB, np11180Afl afl K

ycroL-1411180CTIII K P111cpaMn111411Hy.

T 111n Myra4111111 (Ser531->Leu)

06Hap)I>I<eHa MyTa4111fl 8 reHe inhA, npiii80As:l afl K ycTOL.1411180CTIII K

!!130HIIIa3111AY·

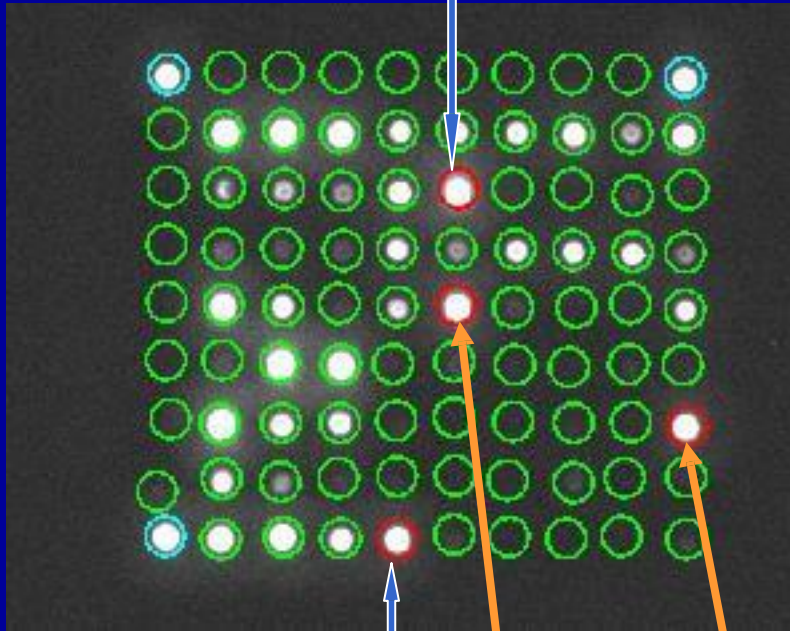
V. 111n MyTa4111111 (inhA_T15)

06Hap)I>I<eHa MyTa4111fl 8 reHe katG, npiii80Afl afl K ycroL.1411180CTIII K

!!130HIIIa3111AY.

n Myra4111111 (Ser315->Thr(1))

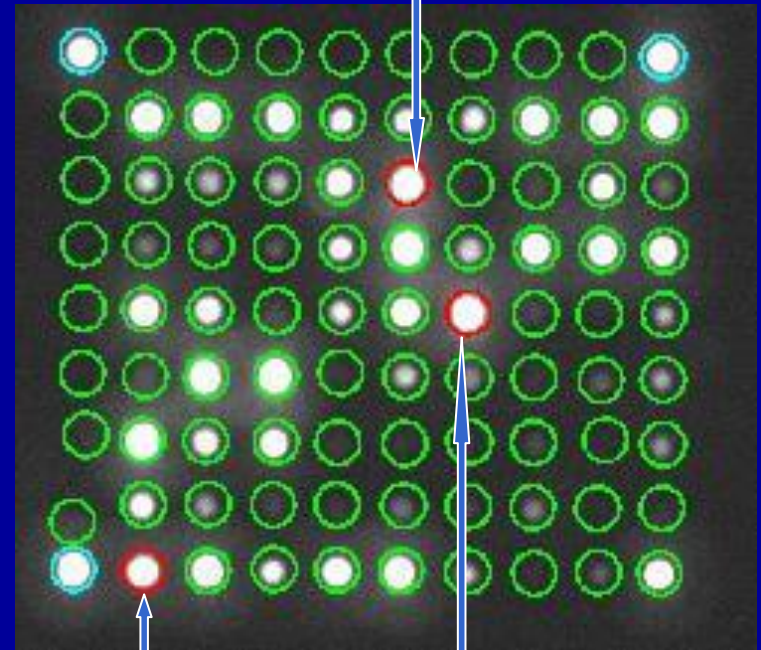
Мутации в гене *katG*: Ser315->Thr(1)



IS6110 обнаружена

Мутации в гене *groB*: Leu511>Pro Asp516>Gly

Мутации в гене *katG*: Ser315->Thr(1)



IS6110 обнаружена

Мутации в гене *groB*:

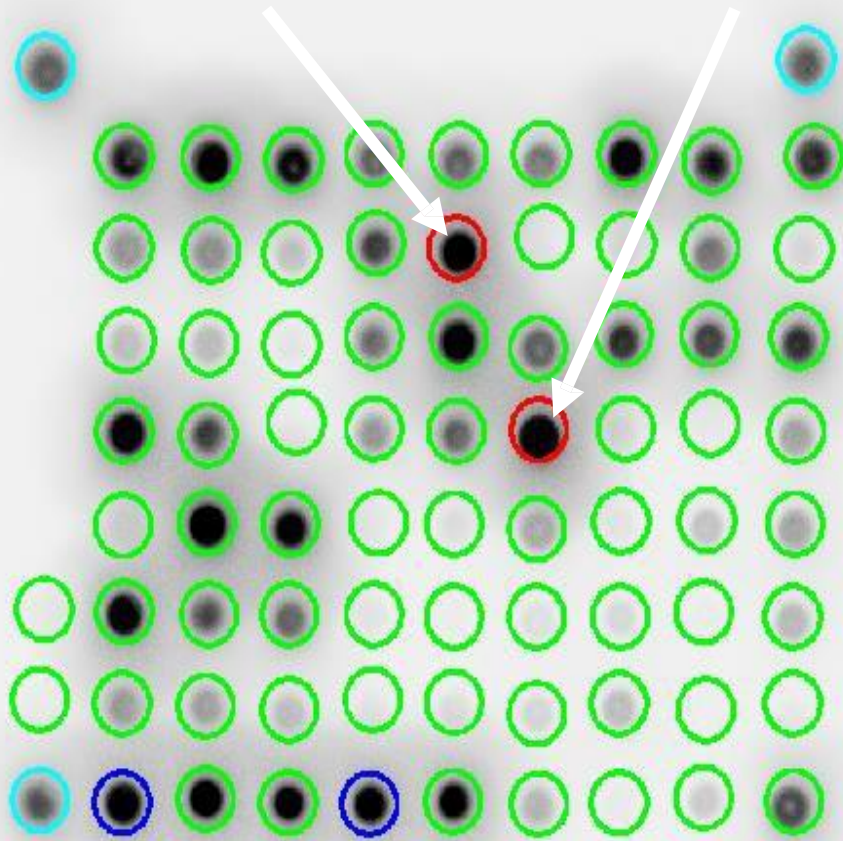
ser531->leu

• преШЛУ штаммы *M.tuberculosis* –

штаммы,
к рифампицину, изониазиду и фторхинолонам
одновременно устойчивые

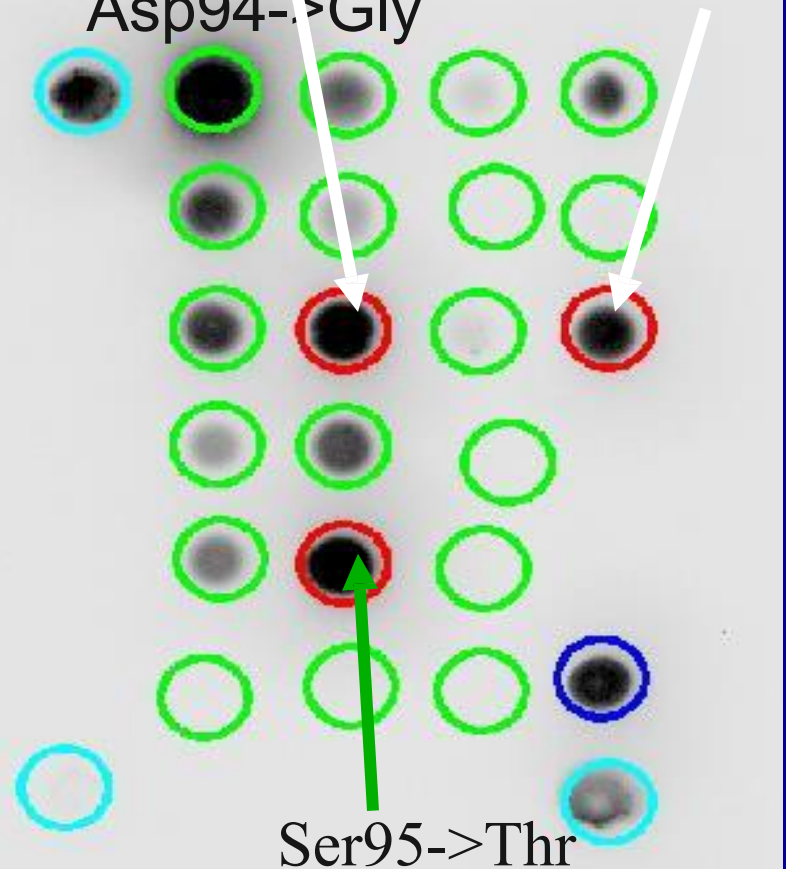
Устойчивость к R и H Устойчивость к Fq

Ser315->Thr Ser531->Leu



Asp94->Gly

Ala90->Val



Выявление МЛУ штаммов *M.tuberculosis*

GenoType[®] MTBDRplus

- Устойчивость к рифампицину и изониазиду

Время получения результата - 1-2 дня

Культура с

- плотной среды
- жидкой среды

Непосредственно из БК+ мокроты

Пример протокола результатов

2010 01 25

HAIN
 LIFESCIENCE

GenoType[®] MTBDRplus 96
 VER 1.0

01 /
 25 /
 2010
dd mm yyyy

1
h
R M P
INH
S

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	1	S ^m	C										
2	1	h ⁻	t. T. q. L										
3	1	h ⁻	(A-T-R)										
4	1	h ⁻	t<4.1<. -										
5	1	h ⁻	C-r' te-e.										
6	1	h ⁻	6" f u-										
7	1	h ⁻	tr.										
8	1	h ⁻	h. fA-&										
9	1	h ⁻	tf...c(.										
10	1	h ⁻	tf-cl.										
11	1	h ⁻	Jr.										
12	1	h ⁻	/ A"										
13	1	h ⁻	fk x.										
14	1	h ⁻	" ...										
15	1	h ⁻	Ucvc										
16	1	h ⁻	4u.										
17	1	h ⁻	φvφk!-I										
18	1	h ⁻	G										
19	1	h ⁻	to/(.:										
20	1	h ⁻	1.-u / -										
21	1	h ⁻	L. A&										
22	1	h ⁻	/AM.										
23	1	h ⁻	1'. vi.:-G										
24	1	h ⁻	ft.										

LOT

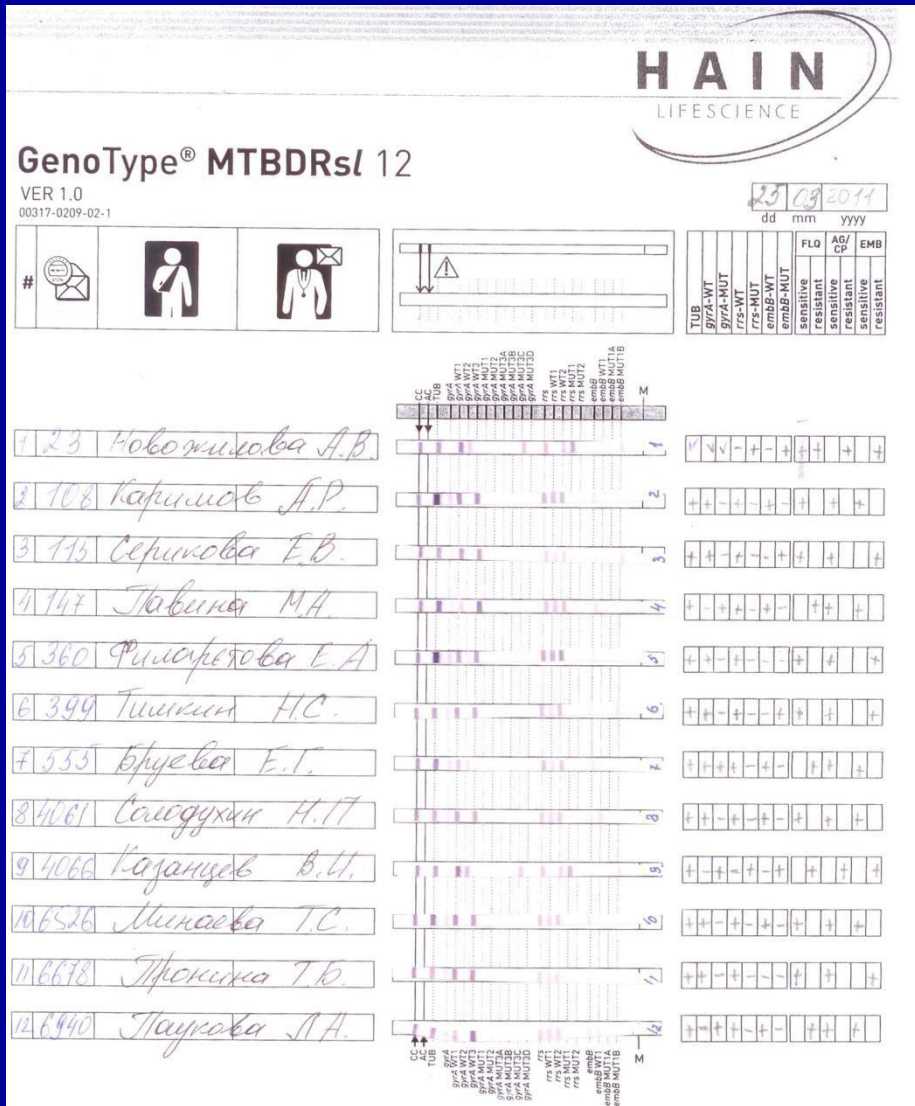
HYB _____ min

STR _____ min

SUB _____ min

Технология ДНК-стрипов

Набор GenoType® MTBDRsl



- фторхинолоны (*gyrA*)
- аминогликозиды/
циклические
пептиды
(*rrs*)
- этамбутол (*emb306*)

Картриджная технология GeneXpert MTB/RIF (Cepheid, Inc.) позволяет одновременно

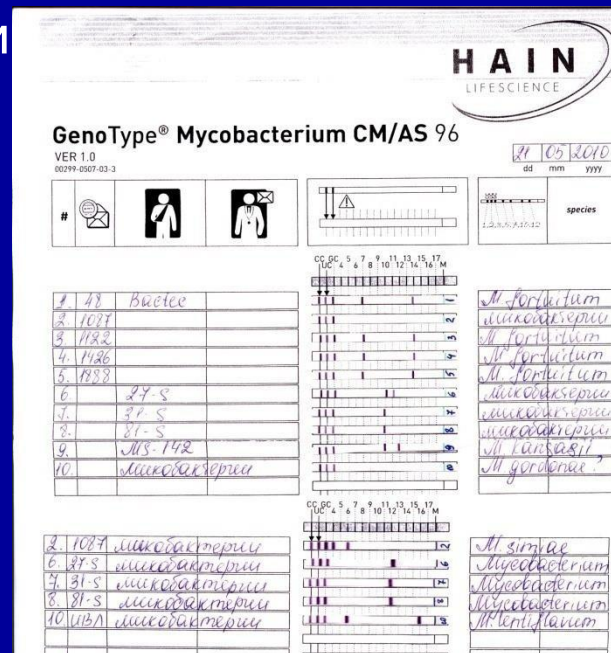
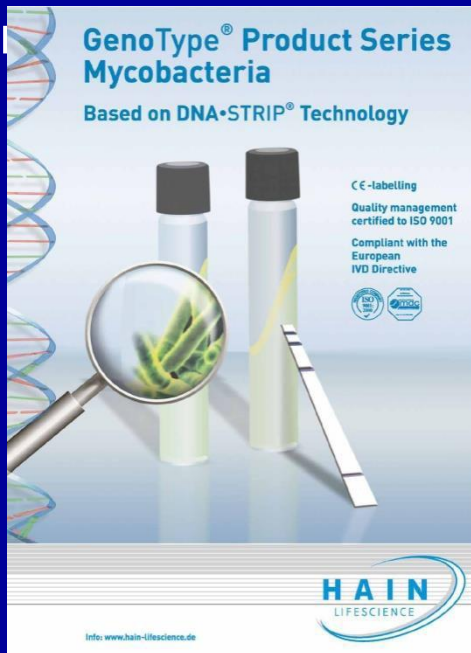
- выявлять возбудителя
- определять принадлежность к МТК
- определять чувствительность к рифампицину
- в течение 2-х часов



Идентификация НТМ до вида

- ДНК-стриповая технология (Hain Lifescience)
 - **GenoType® Mycobacterium CM**
 - *M. avium ssp.*, *M. chelonae*, *M. abscessus*, *M. fortuitum*, *M. goodnae*, *M. intracellulare*, *M. scrofulaceum*, *M. interjectum*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. peregrinum*, *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. xenopi* и *M. tuberculosis complex* и
 - **GenoType® Mycobacterium AS**
 - *M. simiae*, *M. mucogenicum*, *M. goodii*, *M. celatum*, *M. smegmatis*, *M. genavense*, *M. lentiflavum*, *M. heckeshornense*, *M. szulgai*, *M. intermedium*, *M. phlei*, *M. haemophilum*, *M. kansasii*, *M. ulcerans*, *M. gastris*, *M. asiaticum* и *M. shimoidei*.

Получены результаты



Были выделены НТМ

- *M. fortuitum*
- *M. chelonae*
- *M. kansasii*
 - *M. M. avium*
- *M. gordonae*
 - *M. M. xenopi*
- *M. intracellulare*
 - *M. lentiflavum*
 - *M. simiae*
 - *M. abscessus*
 - *M. smegmatis*
- *M. heckeshornense*

**Идентификация до вида
микобактерий быстрыми
молекулярными методами позволяет
дифференцировать микобактериоз и
МЛУ/ШЛУ ТБ**

Развитие технологий, направленных на снижение трудозатрат

- В ФГБУ «ЦНИИТ» РАМН внедрена автоматическая станция фирмы TECAN (Швейцария) и совместно с фирмой СИНТОЛ разработана программа для выделения ДНК из мокроты больных туберкулезом и внесения ее в амплификационную смесь для дальнейшего проведения ПЦР на выявление ДНК МБТ и определения устойчивости к RIF и H





ОБРАЗЦЫ



Обработка NALC-NaOH,
получение осадка

Нативный материал

Микроскопия

Посев на
плотные или
жидкие
среды

Обработка инактивирующим реагентом А
(в ШББ 2 кл биобезопасности)

Выделение ДНК в роботизированной системе
Tecan Freedom Evo и внесение ДНК в ПЦР-смесь
(набор для выделения М-Сорб-Туб-Автомат и
амплификации Амплитуб-РВ, «Синтол»)

Амплификация в термоциклере с
оптическим модулем, получение
результатов выявления ДНК
МБТ

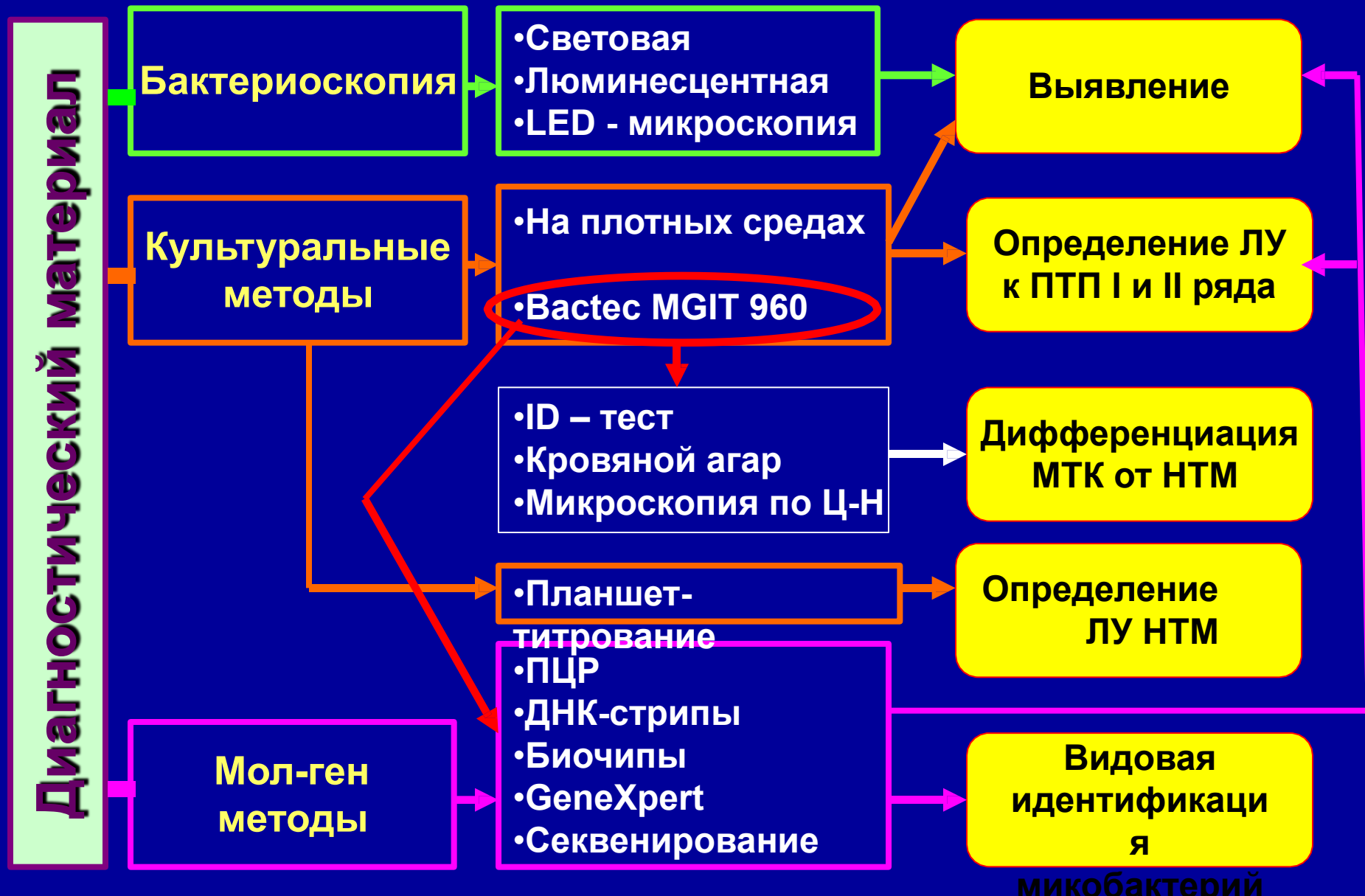
Внесение ДНК МБТ в ПЦР-смесь для
определения мутаций в системе
Tecan Freedom Evo (набор Амплитуб-
МЛУ-РВ,
«Синтол» и амплификация

Анализ и выдача результатов врачам

Трудозатраты –
1,5 часа

Использование молекулярно-генетических методов позволяет в течение 2-3 дней определять устойчивость МБТ к R и H и назначать стартовый режим химиотерапии

Современные технологии микробиологической диагностики туберкулеза



Указанная стратегия микробиологической диагностики туберкулеза позволяет при поступлении больного в стационар более короткие сроки определять лекарственную устойчивость микобактерий, выявлять нетуберкулезные микобактерии и назначать адекватный режим химиотерапии в интенсивную фазу лечения, что

- сокращает сроки абациллирования**
- повышает эффективность лечения**
- предотвращает распространение лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий**

Ворол
аеаа

А.В., Ларионова Е.Е., Тена .В, ераоусоаа .Н.,
Смираоаа Т r, ПИРееас е •
.Н.



Благодарю за внимание

