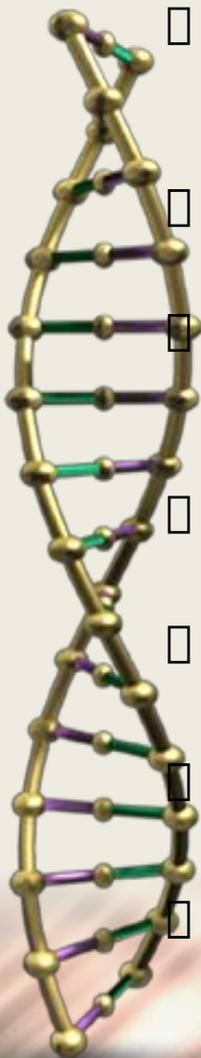


Лабораторная диагностика туберкулёзной инфекции

Заведующая бактериологической
лабораторией ГБУЗ «Самарский областной
клинический противотуберкулёзный
диспансер имени Н.В. Постникова»

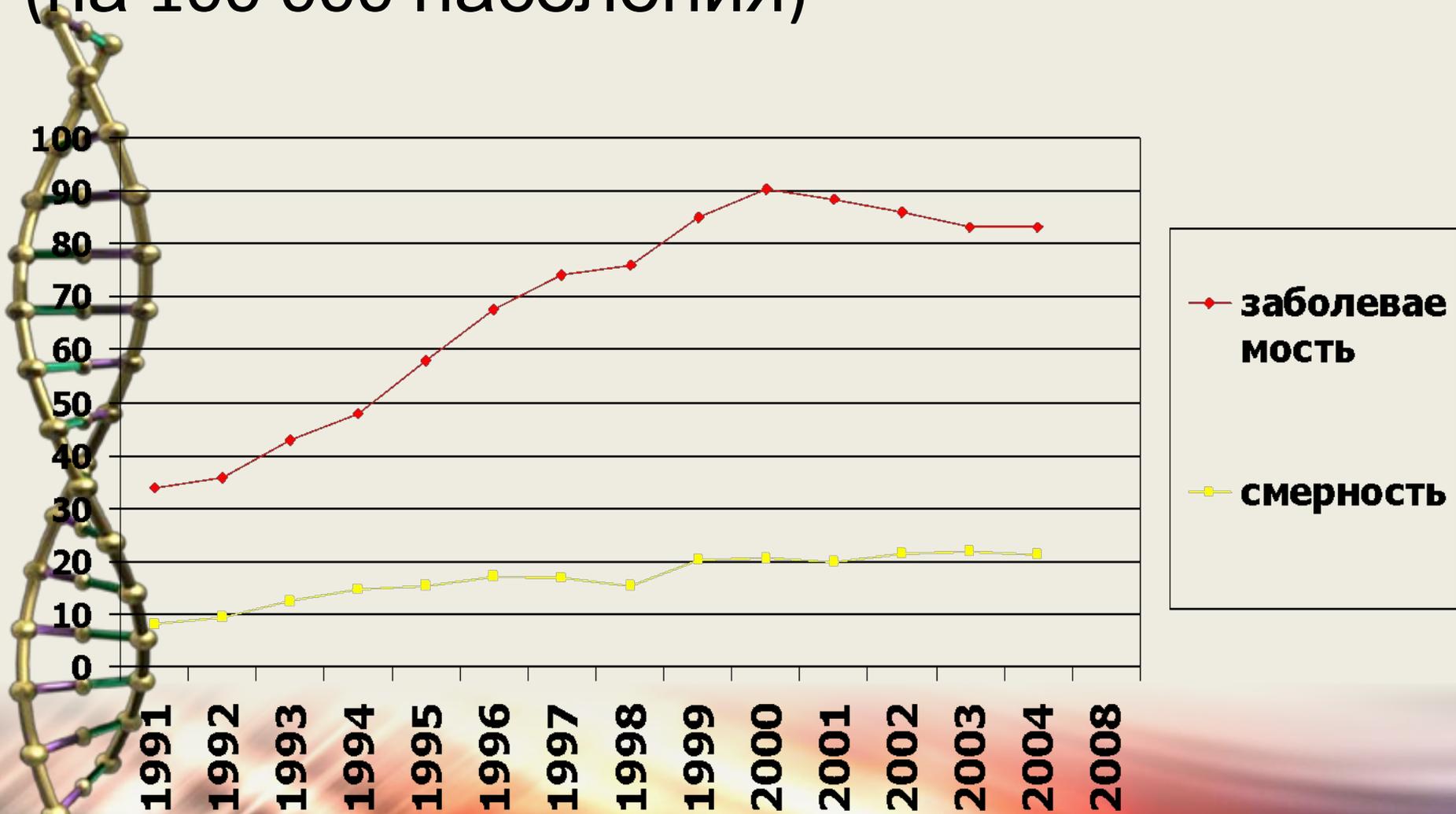


Эпидемиология туберкулеза

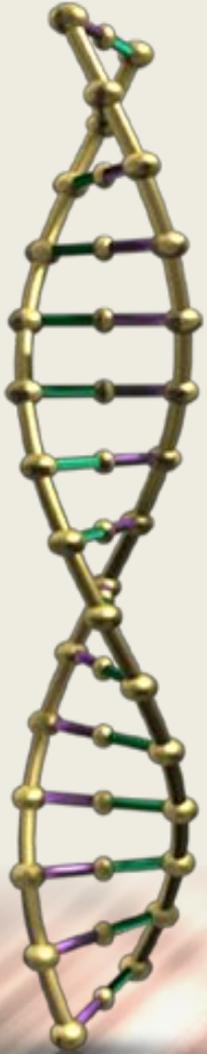


- Ежегодно регистрируется более восьми миллионов свежих случаев и почти три миллиона смертей от данного заболевания;
- От туберкулеза ежегодно в мире умирает больше людей, чем от любой другой излечимой инфекционной болезни;
- В странах третьего мира СПИД, малярия и туберкулез являются самыми частыми инфекционными заболеваниями со смертельным исходом;
- Около двух миллиардов людей – треть населения планеты – инфицированы туберкулезом;
- Незаконченное лечение, является одной из причин возникновения лекарственной устойчивости туберкулеза;
- В 2000 году от туберкулеза умерло около 3-х миллионов людей;
- Каждые 4 секунды кто-то заболевает туберкулезом, и каждые 10 секунд, кто-то умирает от туберкулеза.

Заболеваемость и смертность от туберкулеза на территории РФ (на 100 000 населения)



Стратегия борьбы с туберкулезом



Глобальными целями борьбы с туберкулезом являются:

- снижение заболеваемости, смертности и распространения инфекции,
- предупреждение развития ЛУ МБТ.

Стратегия DOTS

(Directly Observed Treatment,

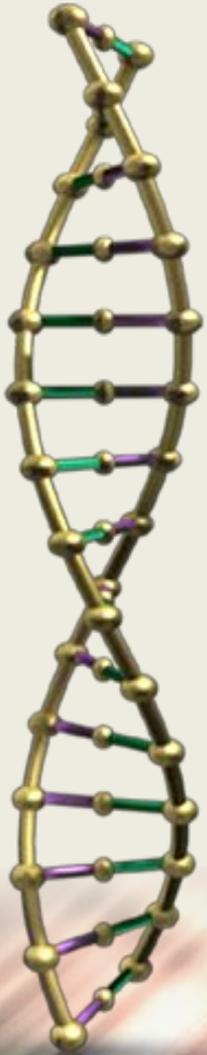
Short-course)

курс ускоренной амбулаторной терапии

- Постоянная поддержка программы борьбы с туберкулезом со стороны правительства.
- Выявление больных туберкулезом среди лиц, обратившихся в медицинское учреждение с симптомами, подозрительными в отношении туберкулезной инфекции, с использованием рентгенографии и микроскопического исследования мокроты.
- Применение стандартных режимов химиотерапии больных с контролируемым приемом препаратов.
- Регулярное, непрерывное обеспечение всеми необходимыми противотуберкулезными препаратами.
- Стандартная система регистрации и отчетности для проведения оценки результатов как лечения больного, так и работы программы борьбы с туберкулезом в целом.



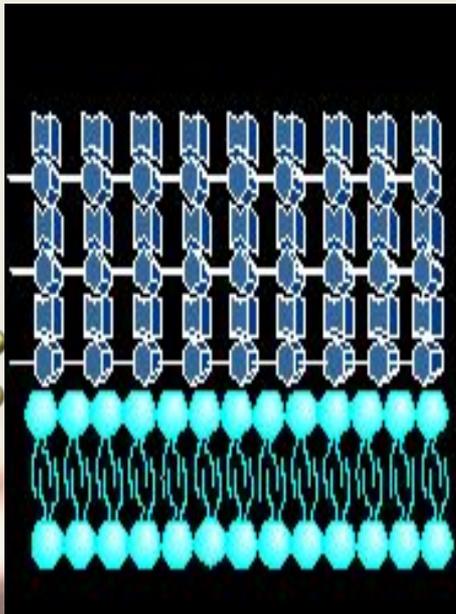
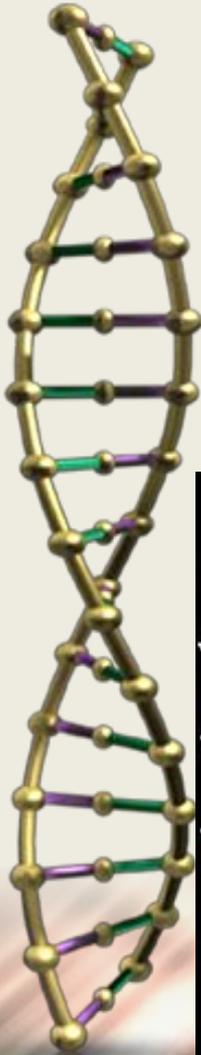
Комплексы микобактерий



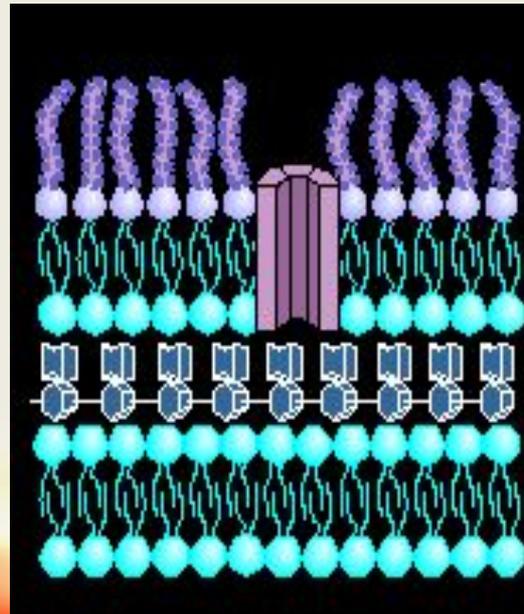
1. комплекс ***M. tuberculosis*** – микобактерии туберкулезного комплекса – это комплекс микобактерий, вызывающих туберкулез
 - *M. tuberculosis*,
 - *M. bovis*,
 - *M. Bovis BCG*,
 - *M. africanum*,
 - *M. microti*,
 - *M. Canetti*.
2. комплекс ***M. avium*** (*M. avium*, *M. intracellulare*)
3. комплекс ***M. fortuitum***
4. комплекс ***M. terrae***

Характеристика возбудителя туберкулеза

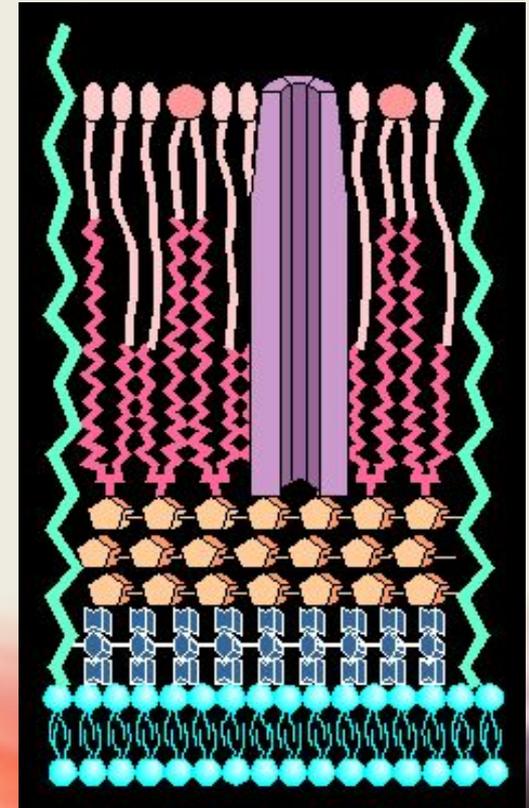
Липидный бислой клеточной мембраны большинства Грам (+) микроорганизмов покрыт пористым пептидогликановым слоем, который не вполне защищает от антимикробных агентов



Грамм (-) бактерии имеют две мембраны. Внешняя мембрана функционирует как эффективный барьер проницаемости, так как состоит из липополисахаридов (ЛПС) и транспортных каналов.

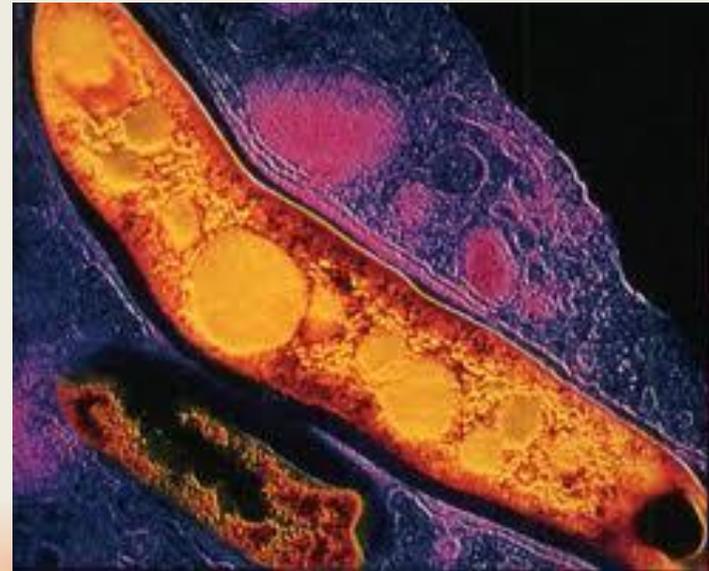
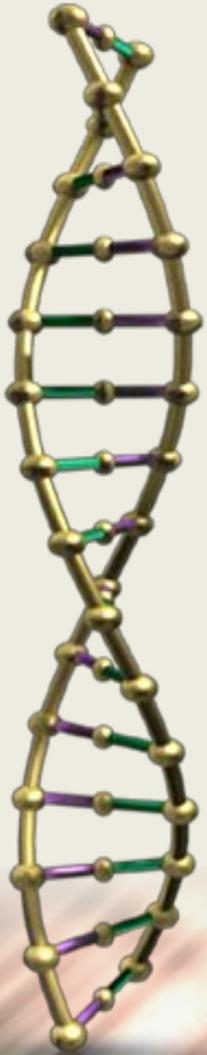


Микобактерии продуцируют многослойную толстую клеточную оболочку, богатую миколовыми кислотами и исключительно эффективно выполняющую барьерные функции.

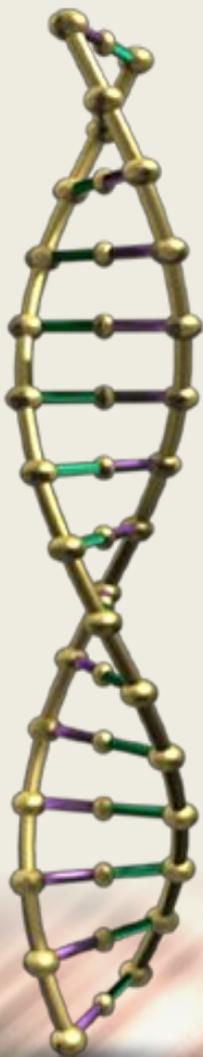


Клинические формы туберкулеза

- Туберкулез легких;
- Внелегочный туберкулез.



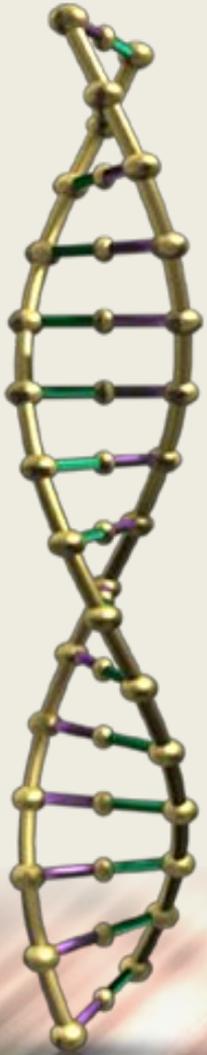
Виды диагностического материала



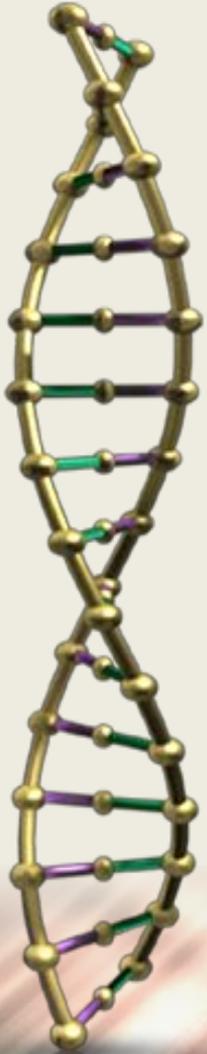
- Мокрота
- Моча
- Сперма
- Пунктат яичек
- Секрет предстательной железы
- Менструальная кровь
- Секрет шейного канала матки
- Операционный материал, биоптат, соскобы с эндометрия
- Пунктат натечных абсцессов
- Гной из свища, натечных абсцессов
- Синовиальная жидкость

Лабораторные методы диагностики туберкулеза

- Микробиологические;
- Биохимические;
- Иммунологические;
- Серологические.

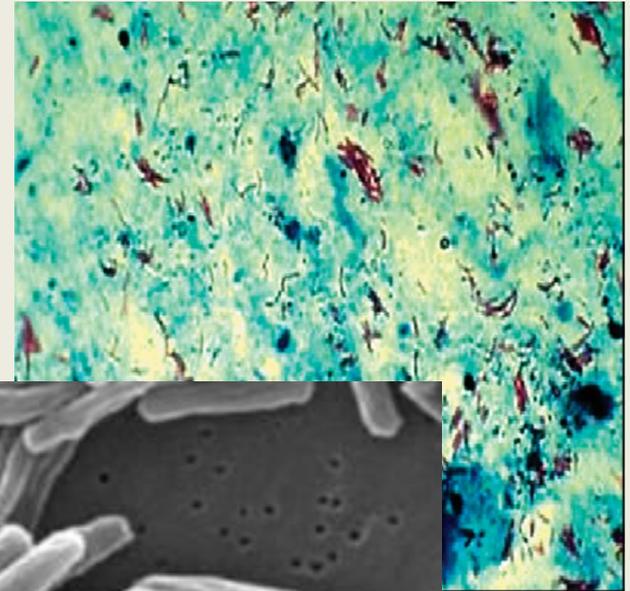
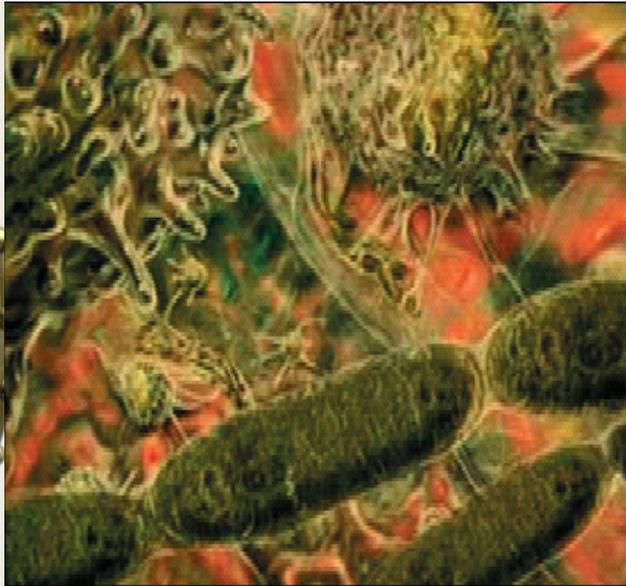


Микробиологические методы

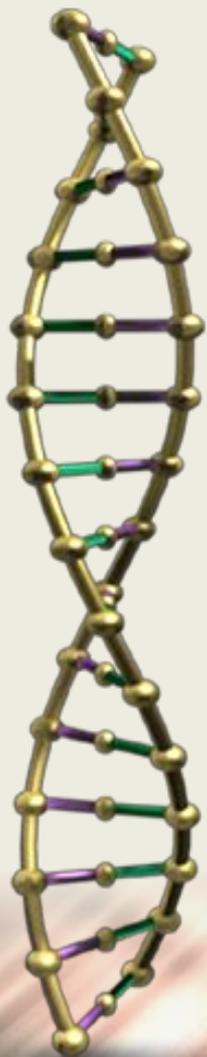


- Микроскопический
- Посев на плотные и жидкие питательные среды
- Молекулярно – генетические методы (ПЦР, HAIN MTBDRplus, HAIN CM - исследование)

Микроскопический метод



Микроскопический метод

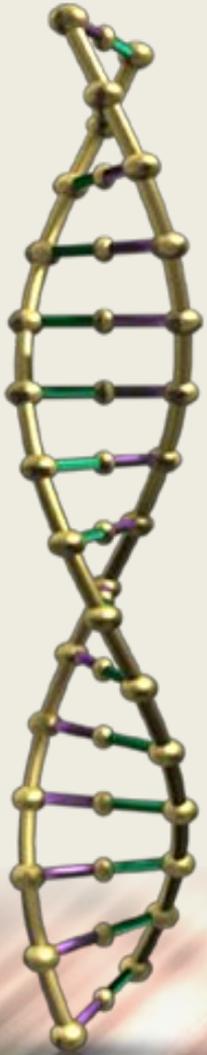


Диагностика туберкулеза легких бактериоскопическим методом проста, достаточно эффективна, экономически выгодна, так как не требует особого оборудования и химических реактивов.

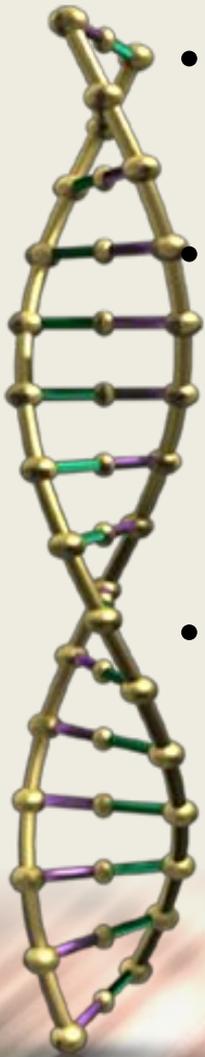
Преимуществом бактериоскопического метода исследования является также быстрота получения результата.

Данный метод позволяет в короткие сроки выявить наиболее эпидемиологически опасных больных

Культуральные методы исследования



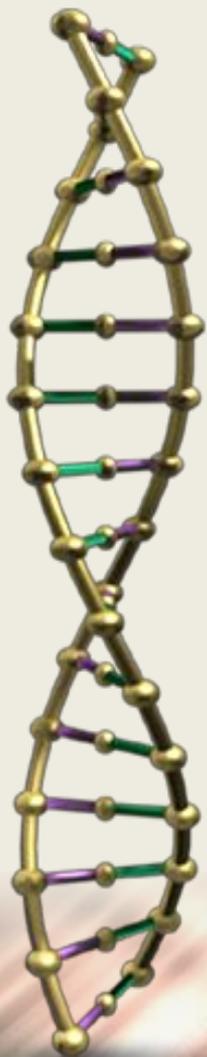
Культуральные методы исследования



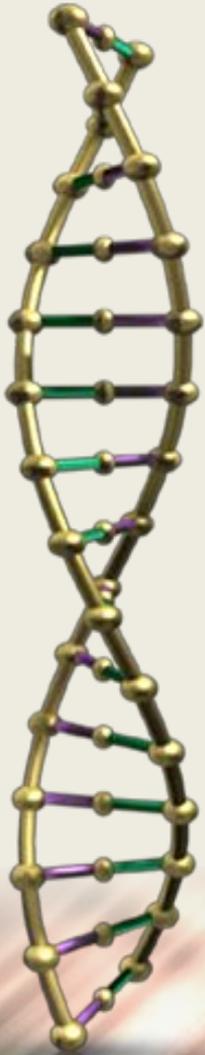
- Культуральный метод, так же как и метод микроскопии, относится к прямым диагностическим методам.
- Его специфичность превышает специфичность микроскопических методов, а чувствительность значительно выше: он позволяет выявить МБТ при наличии в 1 мл исследуемого диагностического материала нескольких десятков жизнеспособных особей.
- Кроме того, очень важным *преимуществом* метода культурального исследования перед методом микроскопии является то, что он позволяет выделить культуру возбудителя, которая может быть подробно исследована с определением ее видовой принадлежности, спектра лекарственной устойчивости, вирулентности, молекулярно-генетических характеристик и других свойств.

Молекулярно – генетические методы

- Высокая чувствительность и специфичность;
- Быстрота получения результата;
- Идентификация возбудителя;
- Определение лекарственной чувствительности;

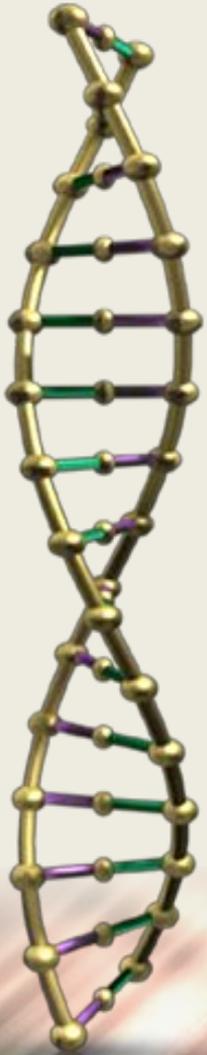


Биохимические методы исследования



- Определение туберкулостеариновой кислоты
- Определение активности аденозиндезаминазы – АДА (КФ 3.5.4.4.)
- Определение активности трансаминазы (КФ 2.1.4.1.) в моче
- Определение гаптоглобина, малонового диальдегида, церулоплазмина, С-реактивного белка, гистамина и серотонина
- Уропротеинограмма
- Определение гистамино – пексического индекса
- Определение пролилгидроксилазы или коллагеназы
- Гиалуронидазы и кислых катепсинов в суставной жидкости
- Определение гамма - глутамилтранспептидазы

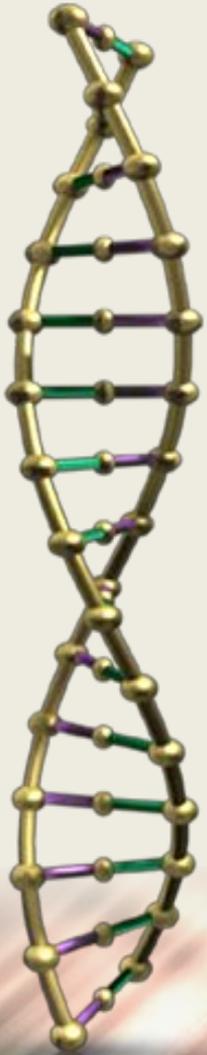
Иммунологические методы исследования



- Е-РОК – спонтанное розеткообразование с эритроцитами барана (способ оценки Т-клеток)
- Реакция бласттрансформации Т- лимфоцитов
- Реакция торможения миграции лимфоцитов



Серологические методы исследования

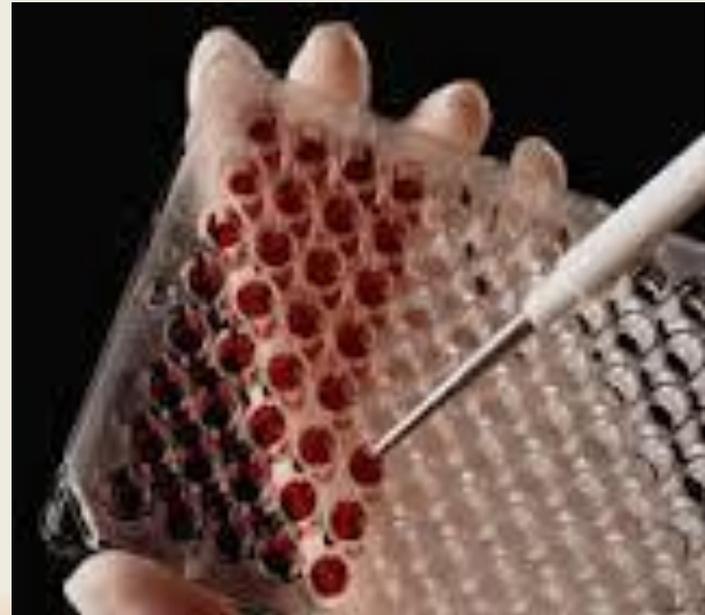


- Реакция непрямой гемагглютинации
- Реакция прямой гемагглютинации
- Реакция пассивного гемолиза
- Реакция потребления комплемента
- ИФА (суммарное определение антител Ig A, M, G) и иммунохроматографический метод
- Квантифероновый тест
- Лизосомно – катионный тест

ИФА диагностика



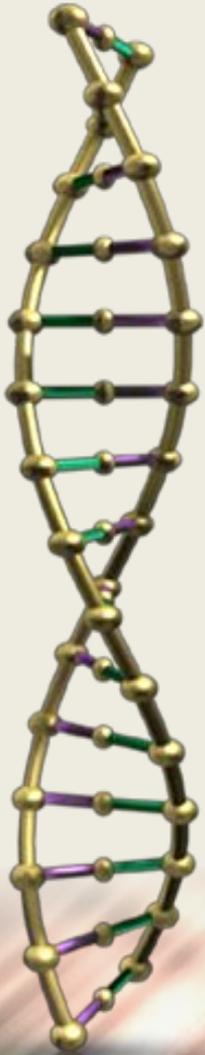
- время анализа 1,5–2 ч;
- наличие положительного и отрицательного контролей;
- возможность использования инструментального и визуального учета
- при визуальном учёте минимальное приборное обеспечение (флаконы, пипетки).
- низкая стоимость анализа;
- удобен и выгоден для проведения массовых анализов.



ПРИНЦИПЫ БЕЗОПАСНОЙ РАБОТЫ В БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

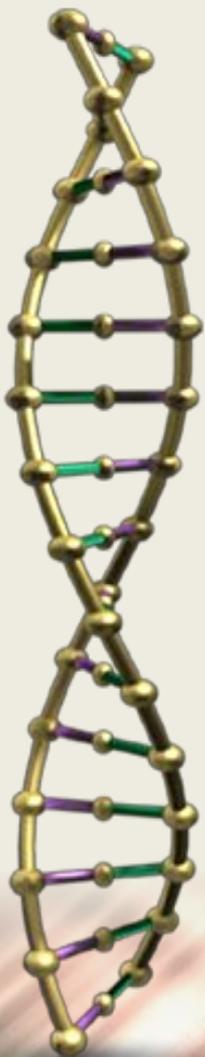


Основные требования к устройству помещения



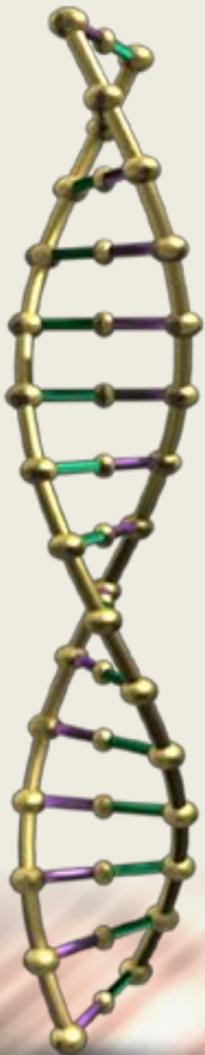
- Для выполнения микробиологических исследований по диагностике и контролю химиотерапии туберкулеза лаборатория должна располагать полным набором помещений, имеющих соответствующее назначение и требуемый метраж и обеспечивающих соблюдение норм санитарно-гигиенического режима.
- Желательно, чтобы общая площадь лаборатории составляла не менее 300 кв.м.
- Лаборатория должна быть разделена на инфицированную («заразную») зону, где происходит движение и обработка поступающего в лабораторию диагностического (потенциально заразного) материала и неинфицированную («чистую») зону с отдельным входом в каждую. Между «заразной» и «чистой» зонами должен быть тамбур, где сотрудники могли бы вымыть руки и переодеться.

Обеспечение биологической безопасности

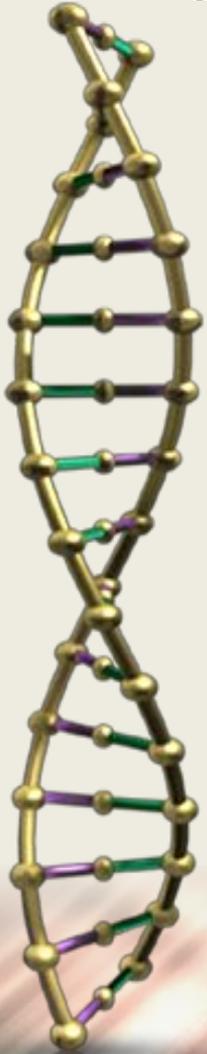


- 1. Меры по обеспечению биологической безопасности**
 - наличие химических вытяжных шкафов, подключенных к вытяжной локальной вентиляции,
 - если лаборатория оснащена специальным защитным шкафом с ламинарным потоком воздуха, подготовку материала и приготовление мазков для микроскопического исследования на кислотоустойчивые микобактерии рекомендуется проводить в ламинарном шкафу биологической безопасности,
- 2. Средства индивидуальной защиты**
 - защитная маска, перчатки, халат, шапочка

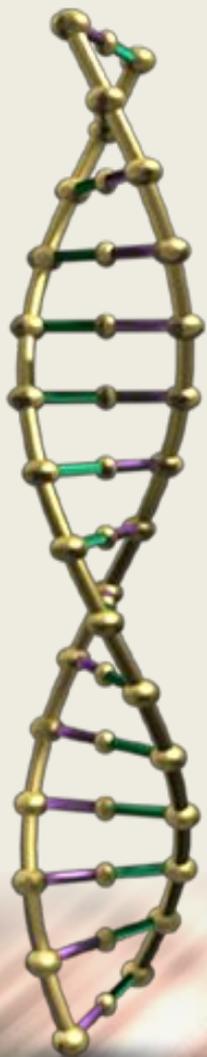
Марлевые повязки, а также защитные персональные маски типа матерчатых или бумажных хирургических не задерживают наиболее опасные аэрозольные частицы размером менее 5 мкм



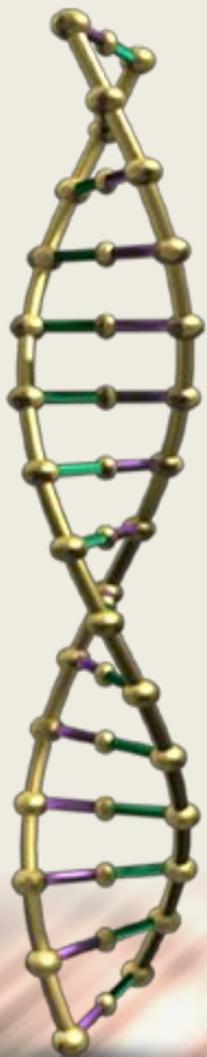
Для индивидуальной защиты при высоком риске заражения необходимо использовать НЕРА-маски, изготовленные из нетканого материала, задерживающего 99,98% эрозольных частиц размером менее 5 мкм.



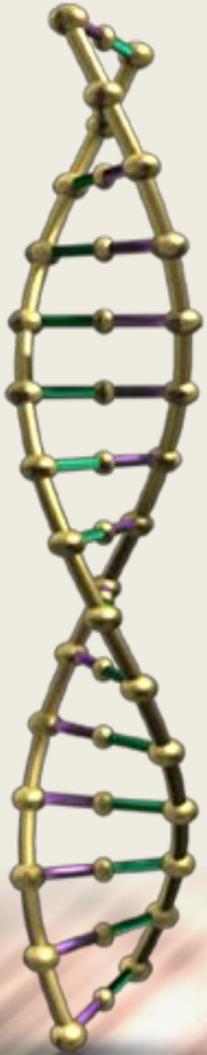
Шкафы биологической безопасности



Защитная одежда для сотрудников



Пути распространения инфекции



1. Воздушно-капельный (аэрозольный) путь заражения.

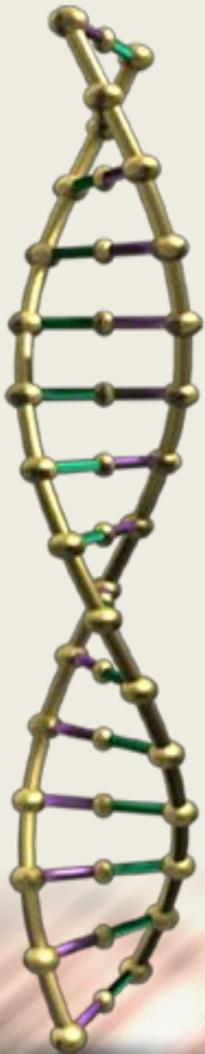
В целях безопасности необходимо:

- минимизировать образование и рассеивание аэрозоля;
- оградить лабораторных работников от вдыхания аэрозольных частиц.

2. Аэрозоль образуется в процессе следующих манипуляций.

- Сбор мокроты от кашляющих больных.
- Подготовка препаратов, нанесение мазков.
- Работа с бактериологической петлей.
- Переливание инфицированных жидкостей.

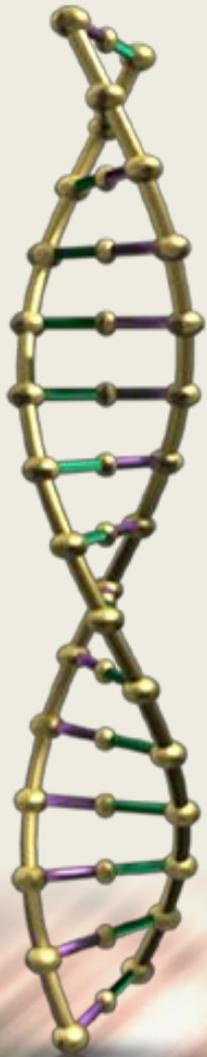
Пути распространения инфекции



2. Риск алиментарного заражения в лаборатории.
3. Контактное заражение.



**БИОЛОГИЧЕСКАЯ
ОПАСНОСТЬ**



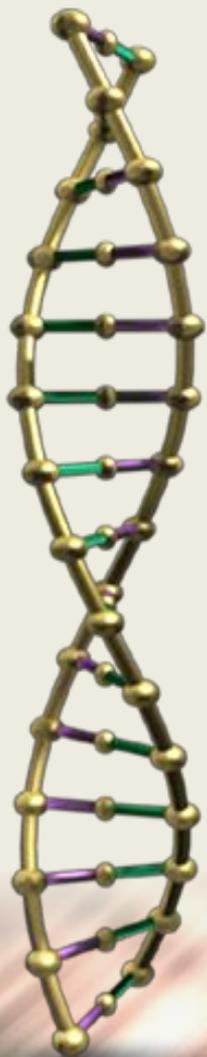
ОРГАНИЗАЦИЯ СБОРА, ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ МОКРОТЫ

Контейнеры для сбора микроты

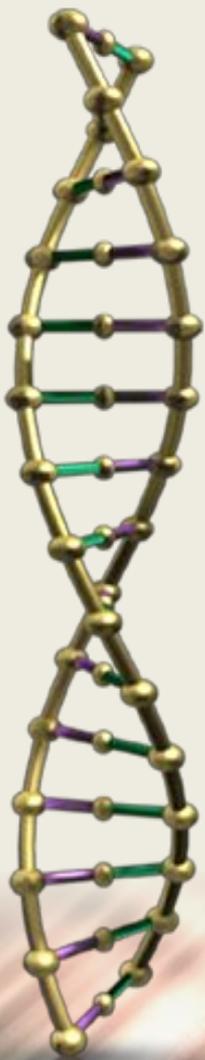


Процедура сбора мокроты

- В кашлевой комнате
- В кашлевой кабине



Хранение и транспортировка мокроты

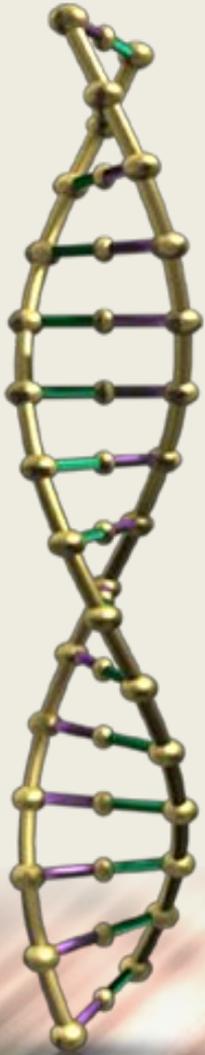


- *Срок хранения материала в нативном виде при комнатной температуре не должен превышать 24 часа.*
- Срок хранения материала в холодильнике без добавления консервирующих средств не должен превышать 72 часа.
- При транспортировке для каждого бикса с контейнерами для сбора мокроты оформляется сопроводительный список, в который из регистрационного журнала медицинского учреждения переносятся данные о пациентах.

Сопроводительный лист составляется в 2 экземплярах:

- один заполненный экземпляр остается в лаборатории; другой – с подписью сотрудника, принявшего материал для исследования, возвращается в учреждение, направившее материал в лабораторию.

Стерилизация и дезинфекция



• Хлорамин (активированный хлорамин) 360	5 (2)	
• Хлорная известь 60	10–20	
• Перекись водорода	3	180
• Гипохлорит	1–5	15–30
• Активированный глутаровый альдегид 15–60	2	
• Этиловый спирт	70	15–60
• Йодофор	3–5	15–30
• Автоклавирование, 126 °С	–	60
• Метод кипячения	–	60
• Метод кипячения с гидрокарбонатом натрия 45	2	



**НИКАКОЕ ДОРОГОСТОЯЩЕЕ
ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ЗАМЕНИТ
СОБЛЮДЕНИЯ ПРАВИЛ
ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ**

**Благодарю
за
внимание!**

