



Межрегиональная конференция фтизиатров,  
посвященная 50-летию кафедры фтизиопульмонологии  
Пермской государственной медицинской академии  
имени академика Е.А.Вагнера

# ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА В РФ

Д.В.Вахрушева

Уральский НИИ фтизиопульмонологии,  
Екатеринбург

# ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ОРГАНИЗАЦИИ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТБ

- Организация лабораторной диагностики должна быть строго ориентирована на потребности и возможности применяемых лечебных технологий  
данные о лекарственной чувствительности возбудителя должны быть доступны клиницистам до назначения режима химиотерапии;
- Она должна обеспечивать **доступность обследования для всего населения, вне зависимости от географических особенностей мест проживания или социального статуса пациента;**
- Она должна обеспечивать **высокое качество, экономическую эффективность и безопасность лабораторных исследований.**



ФЕДЕРАЛЬНЫЕ КЛИНИЧЕСКИЕ  
РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ДИАГНОСТИКЕ И  
ЛЕЧЕНИЮ ТУБЕРКУЛЕЗА ОРГАНОВ  
ДЫХАНИЯ (РОФ, 2014 г.)

**ОБЯЗАТЕЛЬНЫЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ  
МИНИМУМ:**

Микробиологические методы, включающие:

- исследование диагностического материала методами микроскопии, ПЦР, посева на жидкие и/или плотные питательные среды;
- идентификация культур, выросших на питательных средах;
- определение лекарственной чувствительности МБТ к противотуберкулезным препаратам классическими микробиологическими и молекулярно-генетическими методами



# ТЕХНОЛОГИИ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА

## ЗАДАЧИ

Подтверждение/  
исключение наличия  
возбудителя

Идентификация  
возбудителя

Исследование  
лекарственной  
чувствительности

## МЕТОДЫ

Микроскопия,  
культуральные  
методы,  
молекулярно-  
генетические  
методы

Культуральные  
методы,  
молекулярно-  
генетические  
методы, иммуно-  
хроматография

Культуральные  
методы,  
молекулярно-  
генетические  
методы

# ТЕХНОЛОГИИ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА

## ЗАДАЧИ

Подтверждение/  
исключение  
наличия  
возбудителя

## МЕТОДЫ

Микроскопия (LED),  
культуральные  
методы,  
МГМ



# ТЕХНОЛОГИИ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА

## ЗАДАЧИ

Идентификация  
возбудителя

## МЕТОДЫ

Культуральные  
методы, МГМ,  
иммуно-  
хроматография



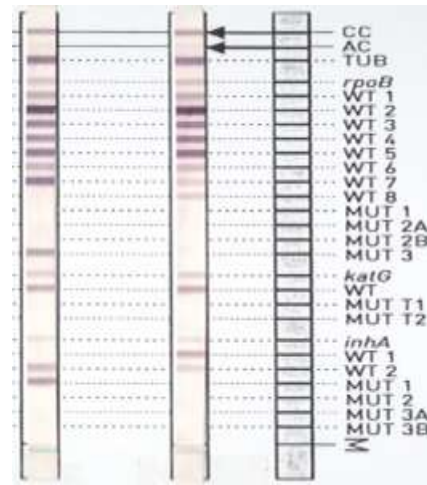
# ТЕХНОЛОГИИ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА

## ЗАДАЧИ

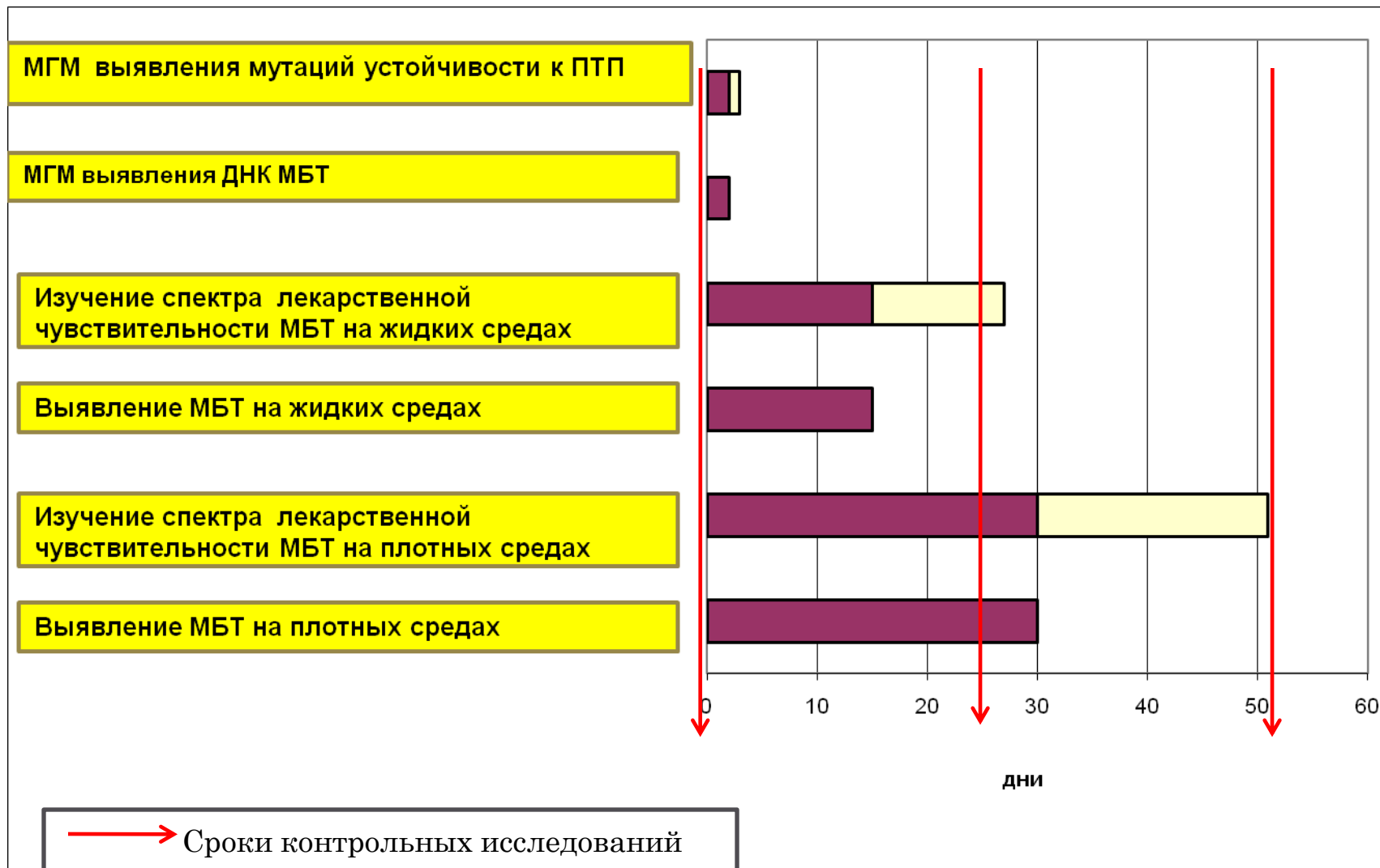
## Исследование лекарственной чувствительности

## МЕТОДЫ

Культуральные  
методы,  
молекулярно-  
генетические  
методы



# ВРЕМЯ ПОЛУЧЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ИССЛЕДОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ





# МГМ: Стадии анализа на ТБ-Биочипах

1



3



2



4



# МГМ: СТРИПОВАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА И МИКОБАКТЕРИОЗОВ (HAIN LIFESCIENCE)

## ● Дифференциация видов комплекса *M.tuberculosis*:

*M.africanum*, *M.bovis* BCG, *M.bovis* ssp *bovis*,  
*M.bovis* ssp. *caprae*, *M.microti*,  
*M.tuberculosis*, *M.canetti*

(GenoType® MTBC )

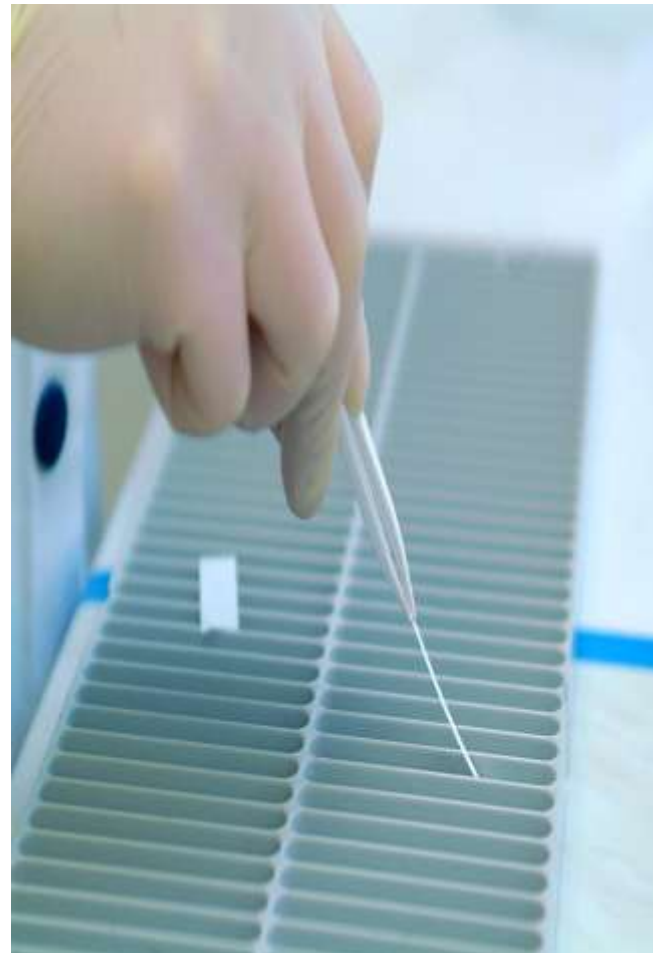
Использование образцов плотных сред, жидких культур.

## ● Определение устойчивости комплекса *M.tuberculosis* к лекарственным препаратам:

➤ GenoType® MTBDR*plus* -  
рифампицин и изониазид.

➤ GenoType® MTBDR*s*/ -  
фторхинолоны, аминогликозиды/цикли-ческие пептиды и этамбутол.

Использование образцов плотных сред, жидких культур, деконтаминированной мокроты.



# МГМ: картриджная технология (Xpert MTB)

Ручная работа  
заканчивается



Образец автоматически  
фильтруется и отмывается.  
Происходит  
концентрирование  
бактерий и отмывка  
ингибиторов

Ультразвуковой  
лизис  
микроорганизмов,  
осевших на фильтре

Молекулы ДНК  
смешиваются с  
ПЦР-реагентами

Nested real-time  
амплификация и  
детекция во встроенной  
реакционной пробирке

**Результат через 1 час 45**

**мин**

Через 15  
минут  
перенос 2 мл  
жидкости

Разжижение и  
деконтаминация  
мокроты (1:1 SR)

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

Техноло- гия	Обнаруже- ние МБТ по IS6110	Мутации устойчивос- ти к ПТП 1 ряда	Мутации устойчивос- ти к ПТП 2 ряда	Идентифи- -кация НТМБ	Пропускная способность, образцов за смену	Сроки получения результата- тов
Биочипо- вая	+	+(I,R)	+(Fq)	-	40	3 дня
Стриповая	+	+(I,R,E)	+(K,Cap, Fq)	+	48	1 день
Картридж- ная	+	+ R	-	-	2-8	2 часа
ПЦР- РТ	+	+(I,R)	-	-	24	2 дня

# АЛГОРИТМЫ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТБ

**Дизайн алгоритма зависит от задач, стоящих перед конкретным учреждением, от специфики больных, обследуемых в нем:**

Пример № 1. Отделение дифференциальной диагностики. Задачи этиологического исследования:

1. Выявить/исключить наличие возбудителя (ей) туберкулеза в диагностическом материале.
2. Идентифицировать возбудителя (ей) инфекции.
3. Оценить степень эпидемиологической опасности больного.
4. В течение первой недели госпитализации предоставить данные для маршрутизации пациента в профильное отделение и назначения режима химиотерапии.

Пример № 2. Отделение лечения больных коинфекцией ВИЧ+ТБ. Задачи этиологического исследования:

1. Установить ВИЧ-статус.
2. Выявить/исключить наличие возбудителя (ей) туберкулеза в диагностическом материале.
3. Идентифицировать возбудителя (ей) инфекции.
4. Установить наличие/отсутствие МЛУ возбудителя.

# Алгоритм этиологической диагностики к примеру №1:

Дифференциально-диагностическое отделение.

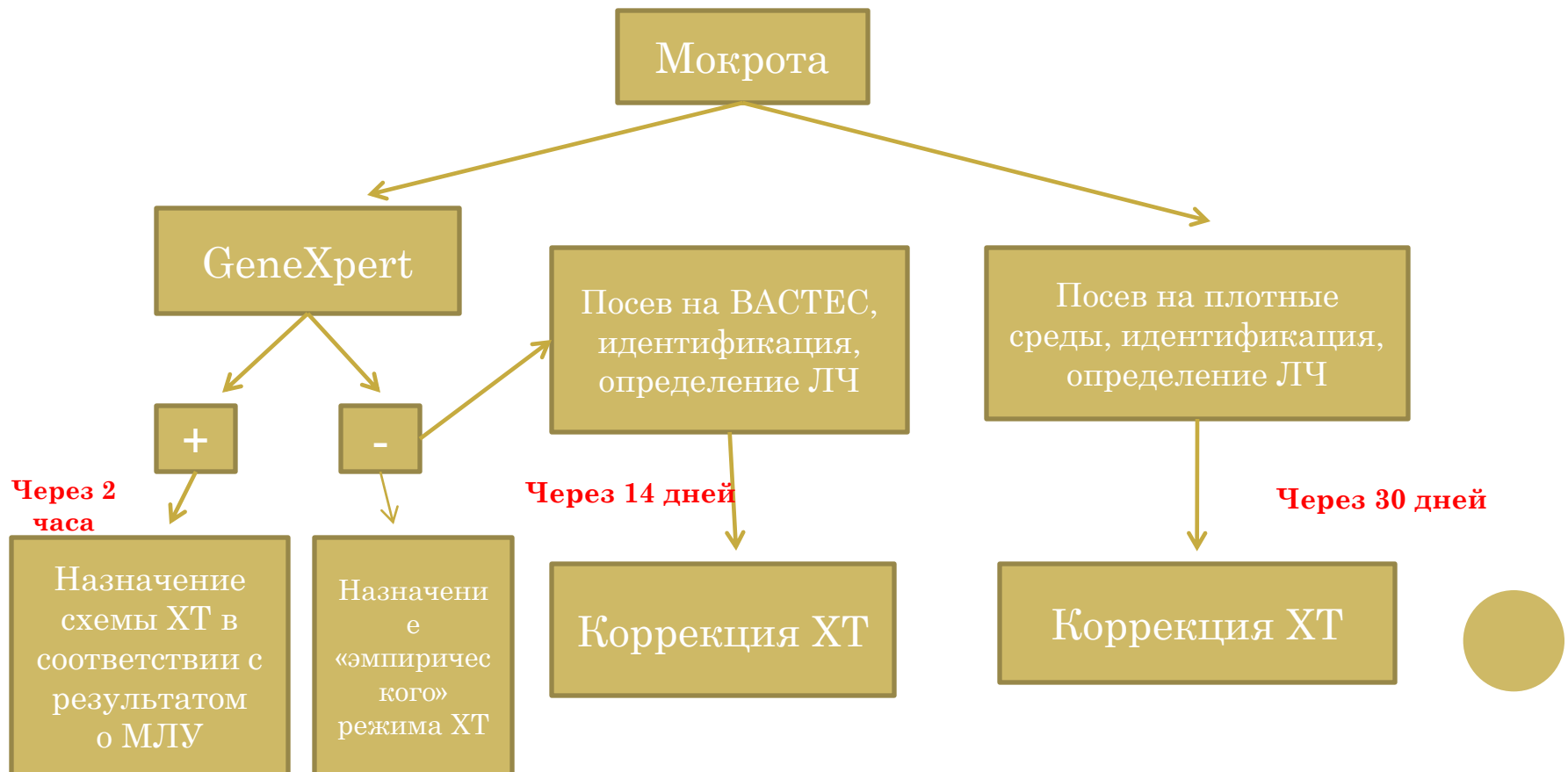
Основная цель на первом этапе- определить этиологию, оценить степень эпидемиологической опасности, маршрутизировать пациента в соответствующее отделение



# АЛГОРИТМ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ К ПРИМЕРУ

## №2: ОТДЕЛЕНИЕ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ КОИНФЕКЦИЕЙ ВИЧ+ТБ.

ОСНОВНАЯ ЦЕЛЬ ОБСЛЕДОВАНИЯ НА ПЕРВОМ ЭТАПЕ: УСТАНОВИТЬ ВИЧ-СТАТУС, НАЛИЧИЕ/ОТСУТСТВИЕ ТБ, НАЛИЧИЕ/ОТСУТСТВИЕ МЛУ



## Алгоритм этиологических исследований для контроля химиотерапии

Контроль химиотерапии у больных туберкулезом легких, выделявших культуру МБТ без МЛУ и у пациентов без бактериовыделения

Исследование 2-х образцов одного из видов качественного диагностического материала, 1 раз в месяц в интенсивной фазе химиотерапии; ТЛЧ – 1 раз в 2 месяца

Контроль химиотерапии у больных туберкулезом легких, выделяющих культуру МБТ с МЛУ

Исследование 2-х образцов одного из видов качественного диагностического материала проводится 2 раза в 2 месяца; ТЛЧ 1 раз в 4 месяца

**Мокрота; ПVB при БС; ПVB**

•Мазок;  
•Посев на плотные питательные среды;

Определение ЛЧ осуществляется методом абсолютных концентраций

Результат доступен в среднем на 48-е сутки

\*Примечание: Существует возможность исследования ЛЧ ускоренными методами через 2 месяца от начала лечения (при продлении интенсивной фазы химиотерапии) при отсутствии положительной клинико-рентгенологической динамики



# ЭТАПЫ СОЗДАНИЯ АЛГОРИТМА ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

- Изучить маршрутизацию и схему обследования разных категорий пациентов в учреждении (диагностические, контроль лечения, с МЛУ/ШЛУ МБТ и т.д.)
- **Совместно с клиницистами** создать алгоритм этиологических исследований для каждой категории пациентов, обеспечивающий выполнение современных требований к качеству исследований
- Оценить целесообразность и возможность (как кадровую, так и материальную) качественного выполнения всего спектра и количества необходимых для пациентов исследований в данной лаборатории
- При отсутствии целесообразности и/или возможности выполнения каких-либо видов исследований в необходимом объеме в своей лаборатории, поставить перед руководством учреждения вопрос о заключении договоров на проведение этих исследований в другой лаборатории, которая предоставит гарантии их качественного выполнения

# ЛАБОРАТОРИИ РАЗНЫХ УРОВНЕЙ


Тип медучреждения, к которому относится лаборатория	Цель обследования в соответствии с новой концепцией	Рекомендуемый метод
<b>ОЛС</b> (начальный уровень лабораторной сети)	Этиологическое подтверждение диагноза «туберкулез» у пациентов с подозрением на это заболевание	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Люм.(светодиодная) м/с, при количестве ежедневных исследований более 20.</li> <li>2. МГМ выявления МБТ в диагностическом материале</li> </ol>
<b>Районные, межрайонные ПТД</b> (бак.лаборатории первого уровня)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Этиологическое подтверждение диагноза «туберкулез» у пациентов с подозрением на это заболевание;</li> <li>2. Определение инфекционной опасности больного;</li> <li>3. Выявление МЛУ;</li> <li>4. Контроль ХТ.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Люм.(светодиодная) м/с;</li> <li>2. МГМ выявления МБТ в диагностическом материале ;</li> <li>3. МГМ выявление устойчивости хотя бы к рифампицину.</li> </ol>
<b>Региональные/меж-региональ-ные ПТД, МЛУ центры</b> (бак.лаборатории второго уровня)	<p>В дополнение к перечисленному для районных/межрайонных ПТД:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Выявление МЛУ/ШЛУ ТБ;</li> <li>2. Определение спектра ЛЧ МБТ;</li> <li>3. Уточнение диагноза для КУБ-МГМ- или КУБ+МГМ- пациентов;</li> <li>4. Контроль нозокомиальной инфекции;</li> <li>5. Участие в исследованиях распространенности ЛУ</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Микроскопия (люминесцентная);</li> <li>2. МГМ выявления МБТ в диагностическом материале;</li> <li>3. Посев на жидкие ПС;</li> <li>4. МГМ/биохимическая идентификация выделенных культур (МБТ туберкулезного комплекса/НТМБ, <i>M.tuberculosis/M.bovis/M.bovis-BCG</i>);</li> <li>5. МГМ исследования ЛЧ к ПТП I и II ряда ;</li> <li>6. На жидких средах: исследования ЛЧ к ПТП I и II ряда.</li> </ol>

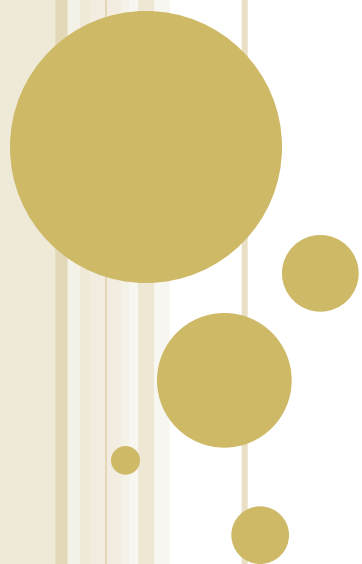
# ЛАБОРАТОРИИ РАЗНЫХ УРОВНЕЙ

## (продолжение)

Тип медучреждения, к которому относится лаборатория	Цель обследования в соответствии с новой концепцией	Рекомендуемый метод
<b>Межрегиональные центры, НИИ фтизиопуль- монологии/ туберкулеза (бак.лаборатории третьего уровня)</b>	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Дифференциальная диагностика;</li><li>2. Определение ЛЧ к ПТП I и II ряда ;</li><li>3. Контроль ХТ .</li></ol>	<p>Дополнительно к методам, применяемым в региональных/межрегиональных ПТД, МЛУ центрах</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Определение вида и спектра ЛЧ НТМБ;</li><li>2. Проведение генотипирования изолятов МБТ.</li></ol>

# ТРЕБОВАНИЯ К ЛАБОРАТОРИЯМ

- Соответствие действующим СанПиН – по количеству и качеству помещений, приточно-вытяжная вентиляция с механическим побуждением, включая зоны с отрицательным давлением
  - Обеспечение бесперебойного энергоснабжения, защиты оборудования от скачков напряжения и/или силы тока
  - Регулярное плановое инженерное обслуживание оборудования
  - Достаточное количество персонала, обученного работе с используемым в лаборатории оборудованием и обеспечивающего функционирование системы обеспечения качества
  - Стабильно функционирующая Система обеспечения качества
- 



*Благодарю за внимание*