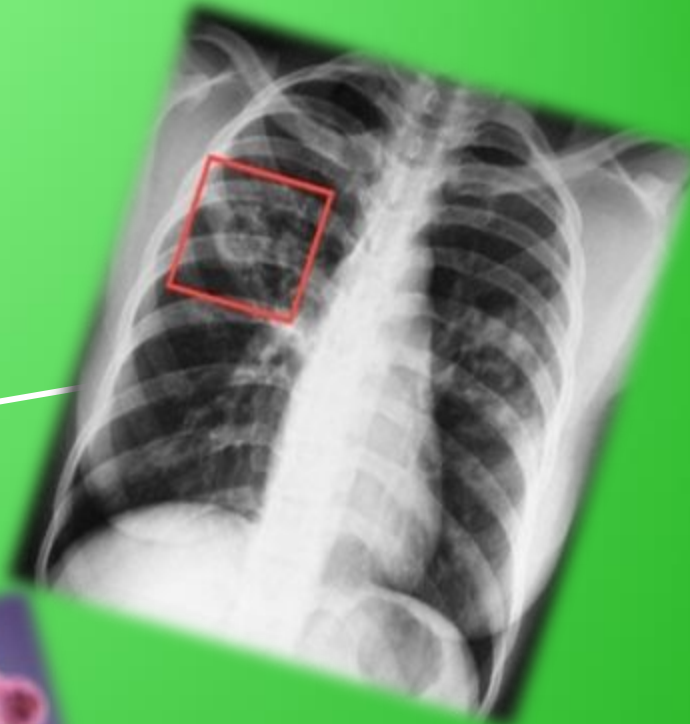
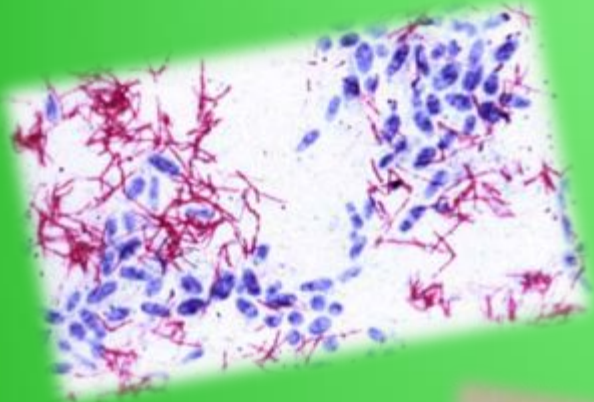


Современная лабораторная диагностика туберкулеза

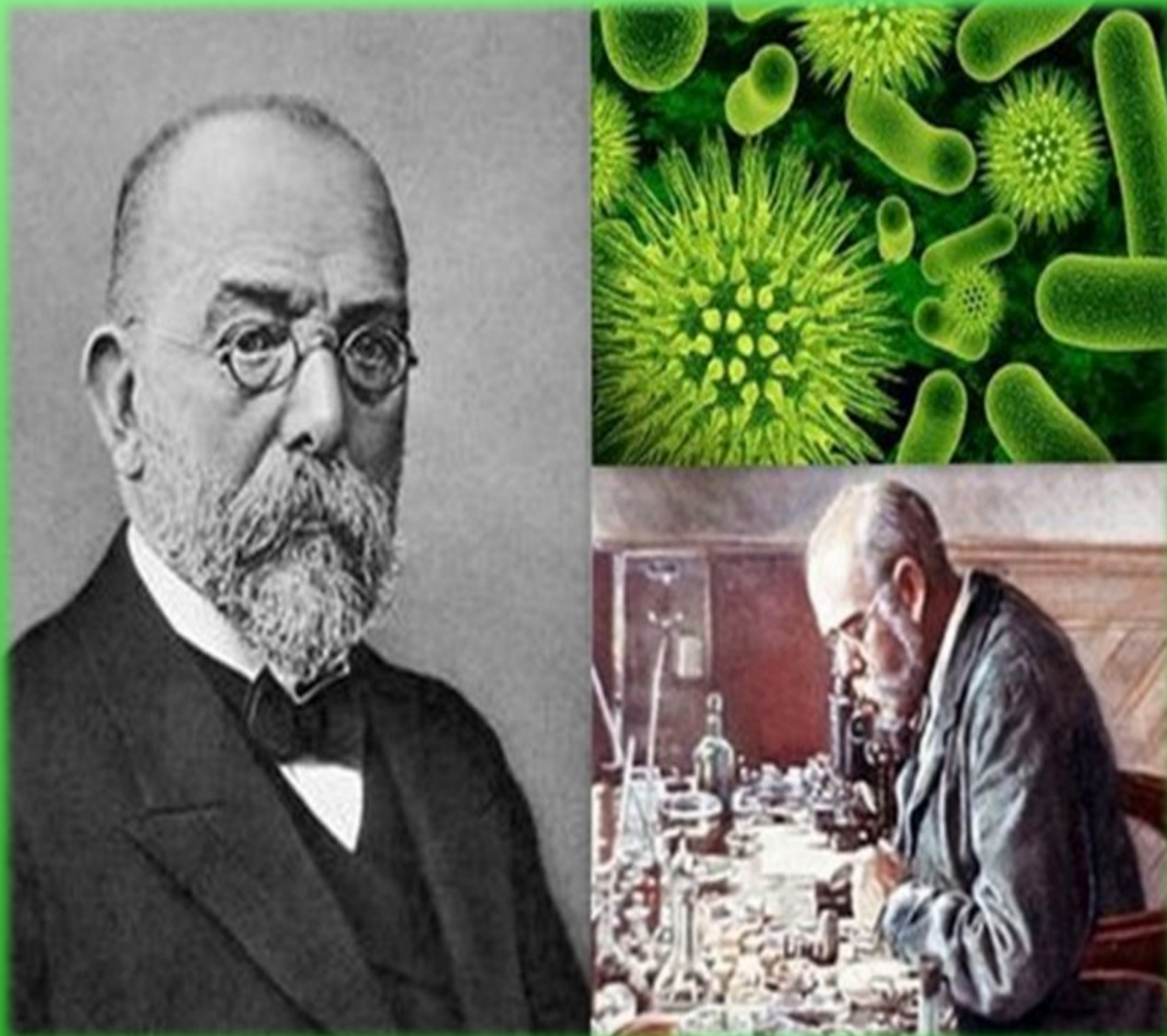
Опережая время



Роберт Кох

Открытие 1882 года

Во времена Коха от туберкулеза умирал каждый 7 человек. Успех открытию принес 271-ый по счету окрашенный ученым препарат пораженной инфекцией ткани.



В настоящее время известно, что туберкулез вызывают 7 видов микроорганизмов, объединенных в микобактерии туберкулезного комплекса
(*Mycobacterium tuberculosis* complex),
которые эволюционировали от общего предка
15 – 20 тысяч лет назад.

***M. tuberculosis, M. africanum* – выделены от людей**

***M. microti* - от мелких млекопитающих (грызунов)**

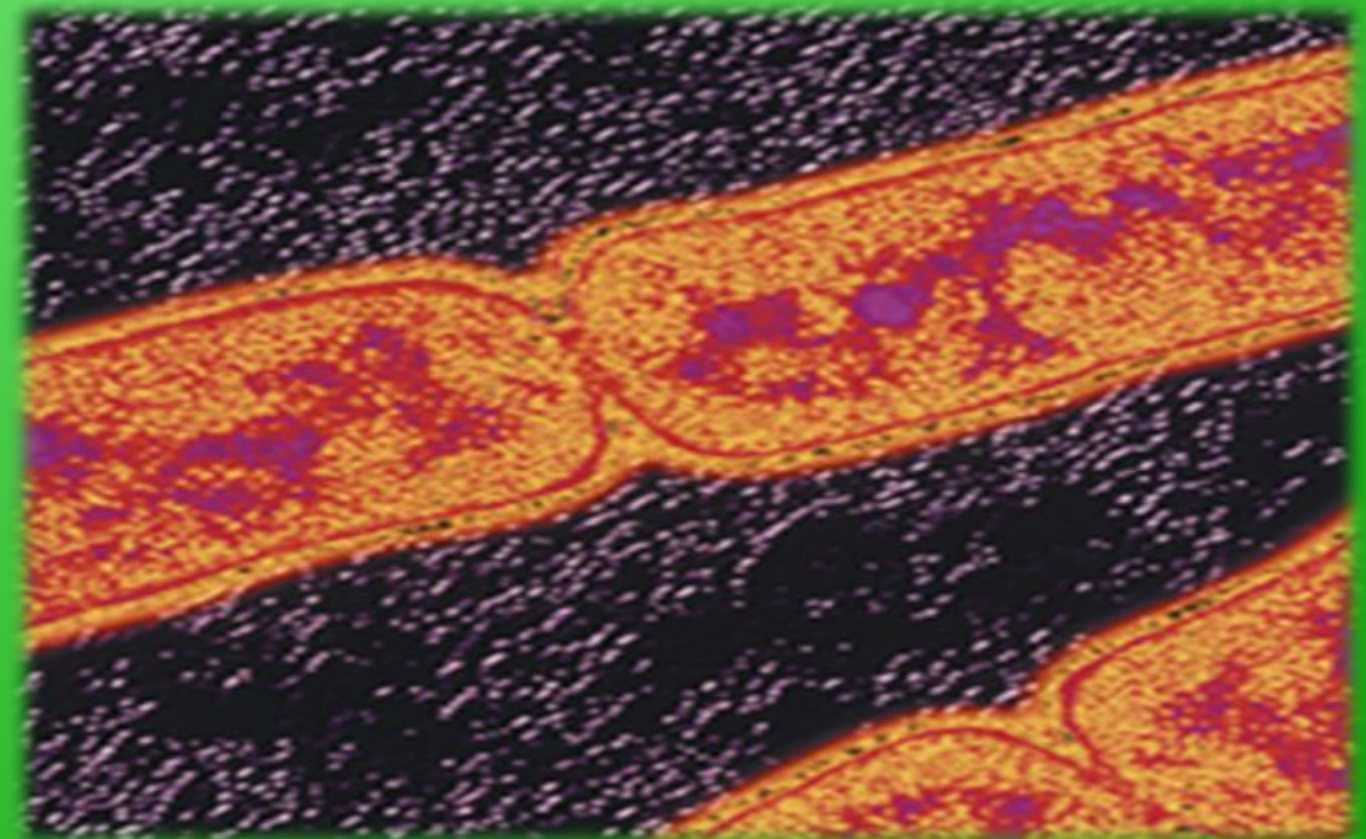
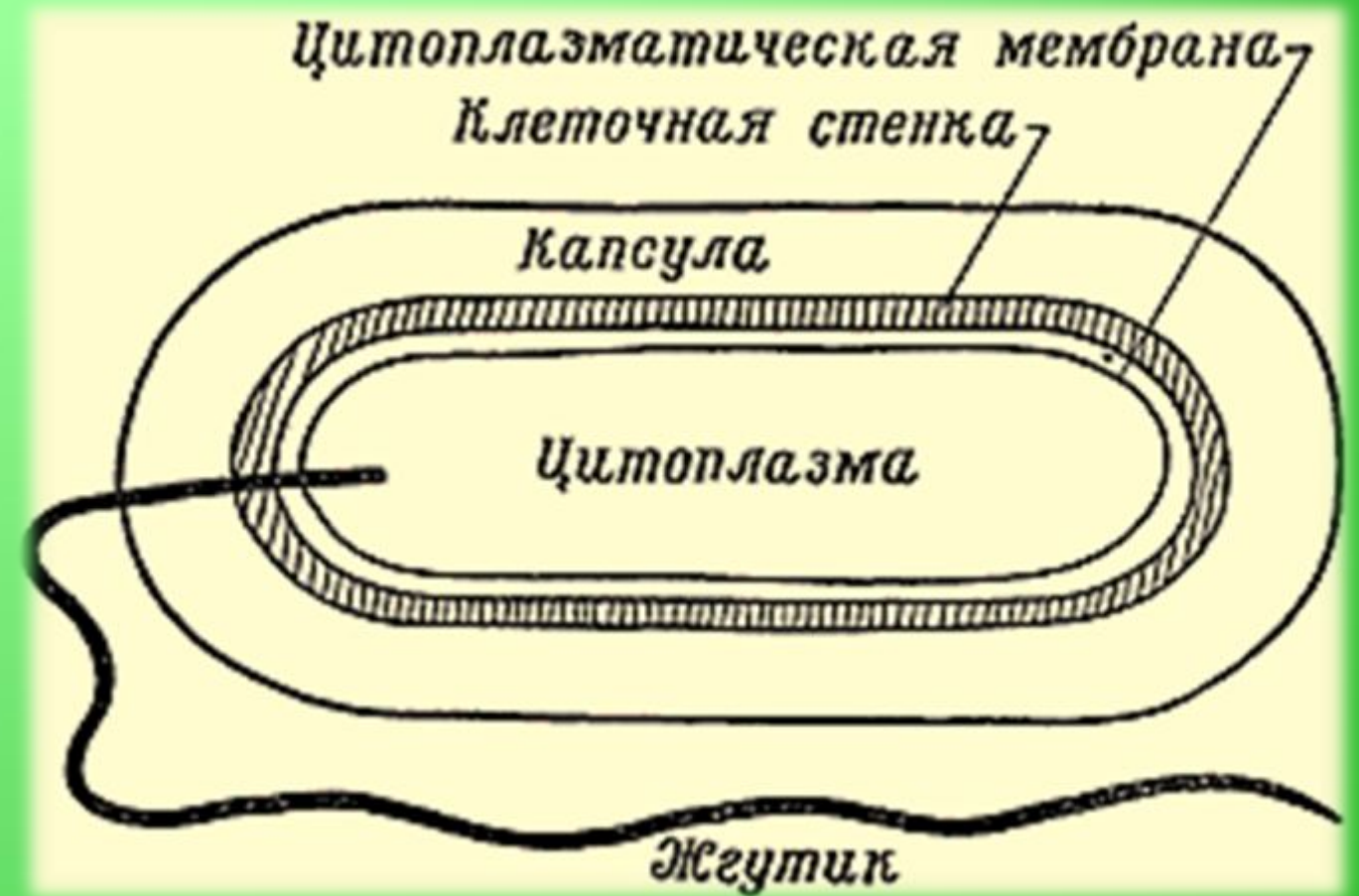
***M. pinipedii* - от морских млекопитающих**

***M. caprae, M. bovis*- от диких и сельскохозяйственных животных, фермеров**

***M. canettii* - выделен от людей в Африке.**

Эти виды микобактерий отличаются друг от друга по патогенности, географическому распространению, некоторым физиологическим свойствам, таким как морфология колоний, чувствительность к антимикробным препаратам, эпидемиология и спектр хозяев.

МБТК являются неподвижными, палочковидными бактериями с низкой скоростью роста и со специфическим строением клеточной стенки.





**Победить возбудителя
трудно. Пациентам
приходится принимать
много
антибактериальных
препаратов курсом от
полугода до двух лет.**

Мокрота — секрет трахей и бронхов с примесью слюны, характерный при легочных формах туберкулеза и ряде других болезней, отделяется при отхаркивании.



Показанием к исследованию мокроты лабораторными методами являются признаки туберкулёза:

- ◆ гипертермия;
- ◆ длительный продуктивный кашель;
- ◆ изменения на флюорографии.

Что нужно знать при сборе мокроты?

Чтобы правильно сдать анализ мокроты, необходимо:

- ◆ Сдавать натощак, желательно рано утром часов в восемь.
- ◆ Зубы перед сбором мокроты не чистить.
- ◆ Тщательно прополоскать рот тёплой и заранее прокипячённой водой.
- ◆ Собирать следует в специально заготовленную стерильную ёмкость.

Емкость для сбора мокроты должна отвечать следующим требованиям :

- ◆ иметь широкое горло с диаметром более 3 см;
- ◆ обладать высокой прозрачностью и прочностью;
- ◆ быть с крышкой, которая плотно и легко закрывается;
- ◆ из материала, позволяющего без труда нанести данные о пациенте;
- ◆ стерильной и одноразовой.



Правила сбора мокроты на туберкулёз:

- ◆ Для этой процедуры требуется отдельная комната (кашлевая кабина).
- ◆ В помещении должна быть предусмотрена хорошая вентиляция.
- ◆ Необходимое количество мокроты 3 или 5 мл.
- ◆ При сборе важно избегать касания ртом или руками краёв стерильной ёмкости. Это может исказить результаты исследования.

При сборе мокроты на туберкулёз представляет трудность именно откашливание отделяемого.

Существует несколько способов:

- ◆ Первое что необходимо сделать просто попробовать покашлять.

Для создания продуктивного кашля можно сделать 2-3 глубоких вдоха.

При успешном отхождении мокроты следует собрать её в чистый контейнер.

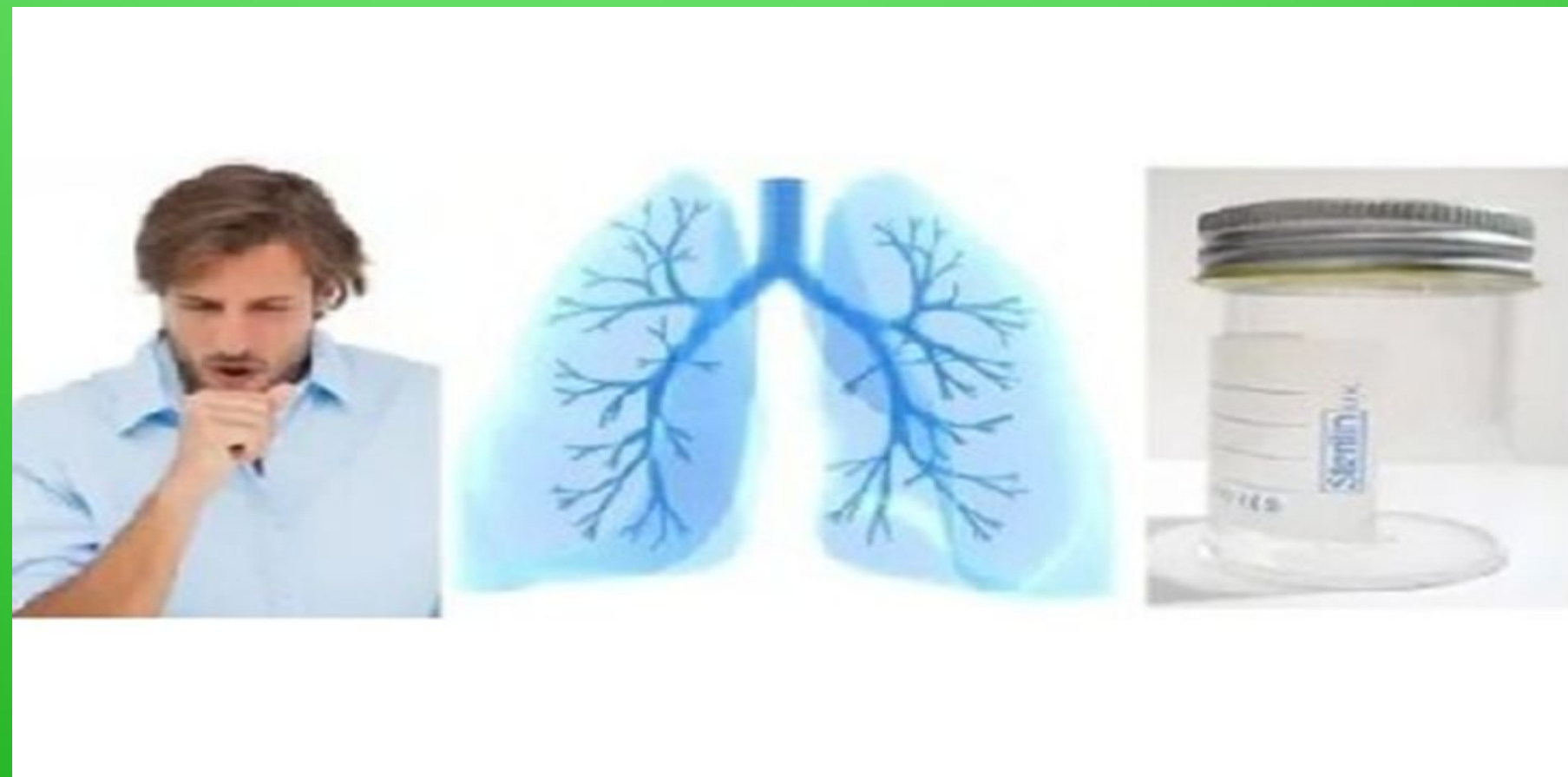


Если таким способом не получилось собрать материал, то можно попробовать постучать несколько раз в грудь.

Это поможет спровоцировать кашель.

Также следует сделать два глубоких вдоха. Затем на несколько секунд задержать дыхание, после чего медленно выдохнуть. Далее вдохнуть в третий раз и резко выдохнуть воздух.

При отсутствии эффекта можно провести обычные дыхательные упражнения. В последнюю очередь сделать ингаляцию. В домашних условиях подышать можно над тёплой водой. В неё добавляют 1 столовую ложку соли или пищевой соды.





Мокроту для исследования на туберкулез необходимо доставить сразу же после ее забора. В крайнем случае, она хранится не более семи дней в холодильнике при температуре $+3^{\circ}\text{C}$.

При транспортировке все контейнеры плотно упаковывают в специальные биксы, фиксируя их в вертикальном положении.

Должна быть защита от УФ лучей.

А так же прилагается направление.

Современные методы диагностики



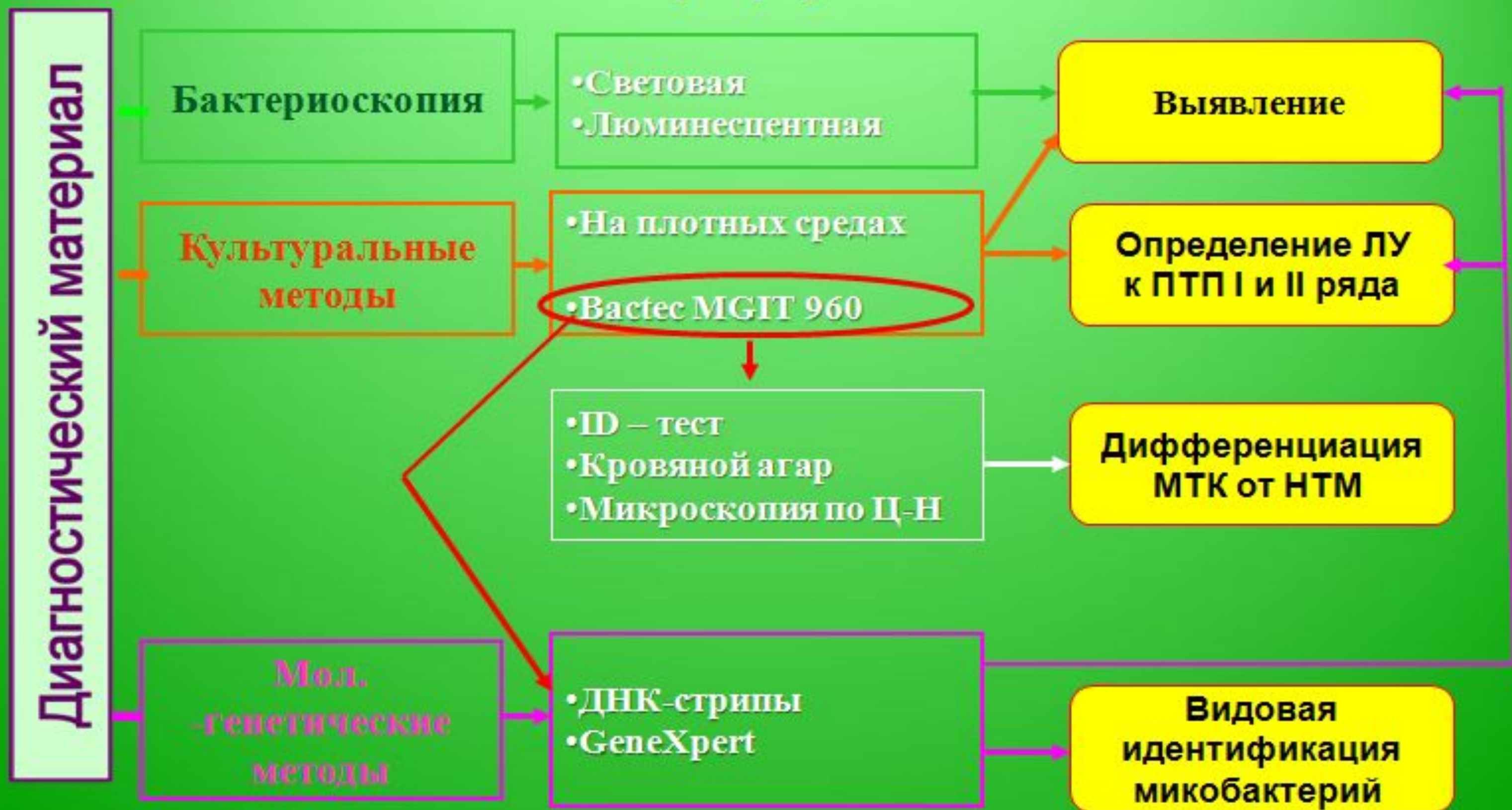
Основные задачи лаборатории



Быстрая
идентификация
МБТК от
НТМБ



Современные технологии микробиологической диагностики туберкулеза



БАКТЕРИОСКОПИЯ В ДИАГНОСТИКЕ

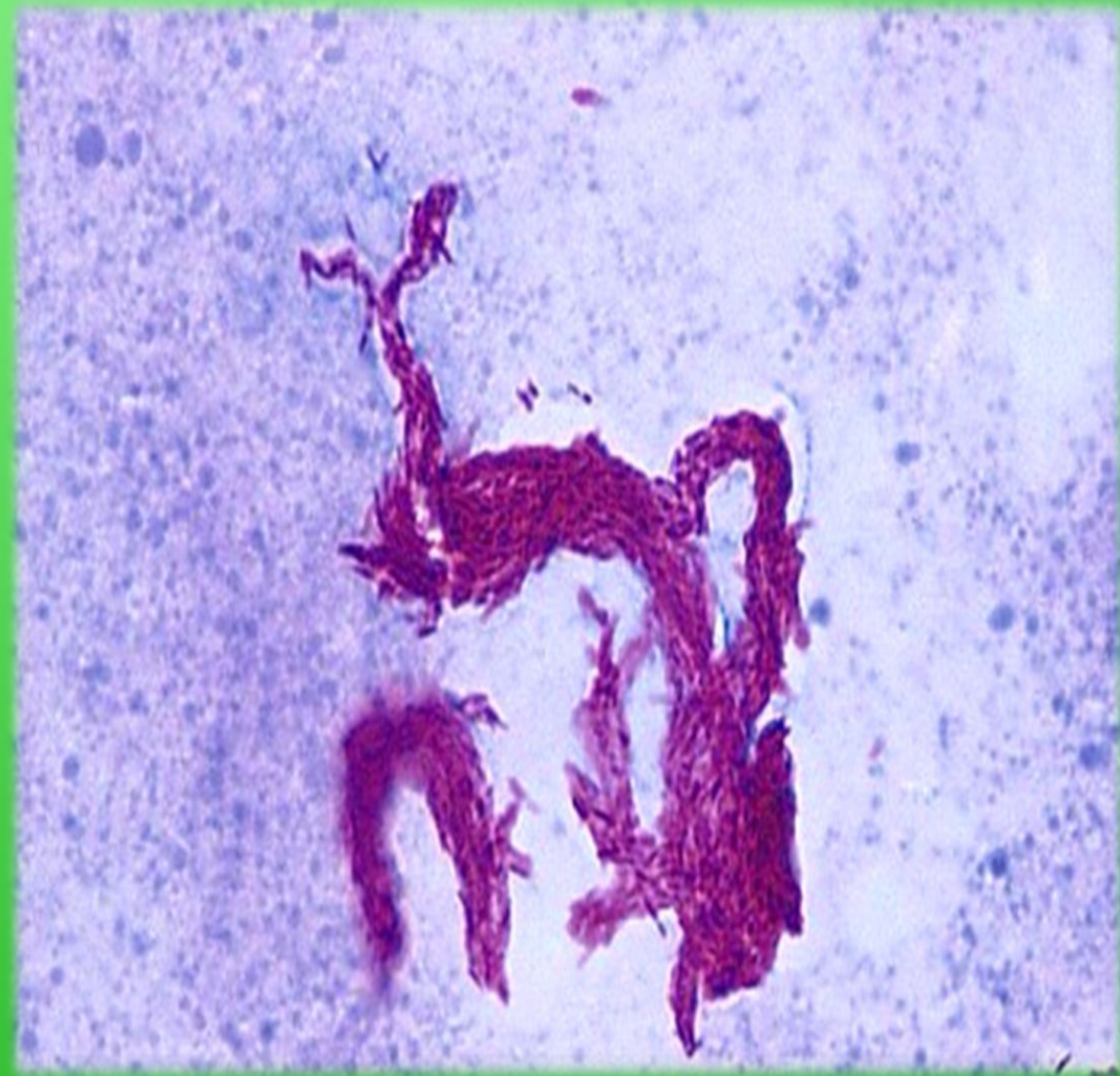
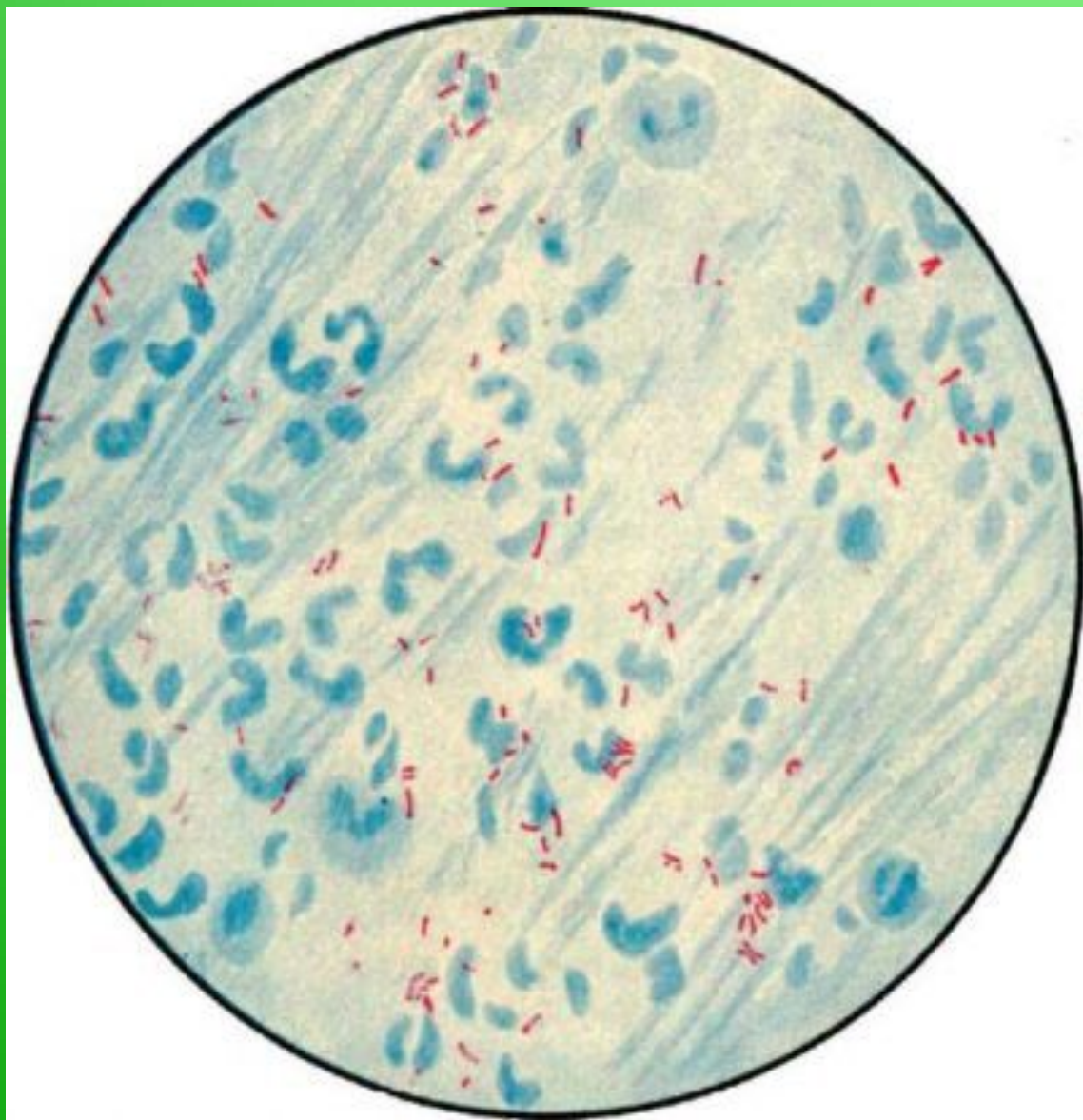
Световой метод:

на сегодняшний день, относится к ведущему методу диагностики туберкулеза. Он помогает визуально определить микобактерии, и сделать выводы о том – есть он в образцах или нет.

Методика доступная и простая, экономичная и может применяться в любой клинике.

- ◆ Мазок окрашивается специальными красителями;
- ◆ Просматриваются на предметном стекле под микроскопом, используя иммерсионную систему.
- ◆ В приготовленном мазке микобактерии, устойчивые к кислоте, приобретают красное окрашивание.
- ◆ Результаты определяются на протяжении часа.

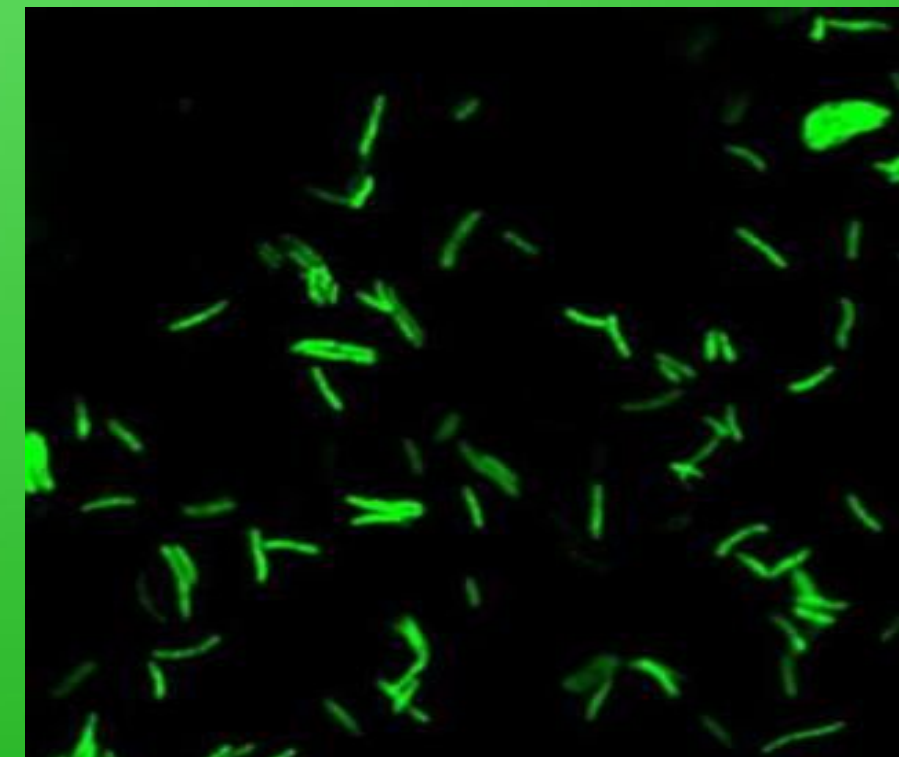
Туберкулезные микобактерии имеют вид тонких, слегка изогнутых палочек различной длины с утолщениями на концах или посередине, располагаются группами и поодиночке.



Люминесцентный метод:

Для этого исследования мокрота готовится так же, как для обычной микроскопии, но используется особый микроскоп, который выявляет свечение микобактерий желтым цветом, когда весь фон при этом окрашен в синий цвет.

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



Культуральные методы

Посев мокроты на туберкулёз проводится путём нанесения материала на специальные питательные среды.

Для 100% выявления возбудителей необходимо всего 20 жизнеспособных КУМ. Растут бактерии в течение нескольких месяцев.

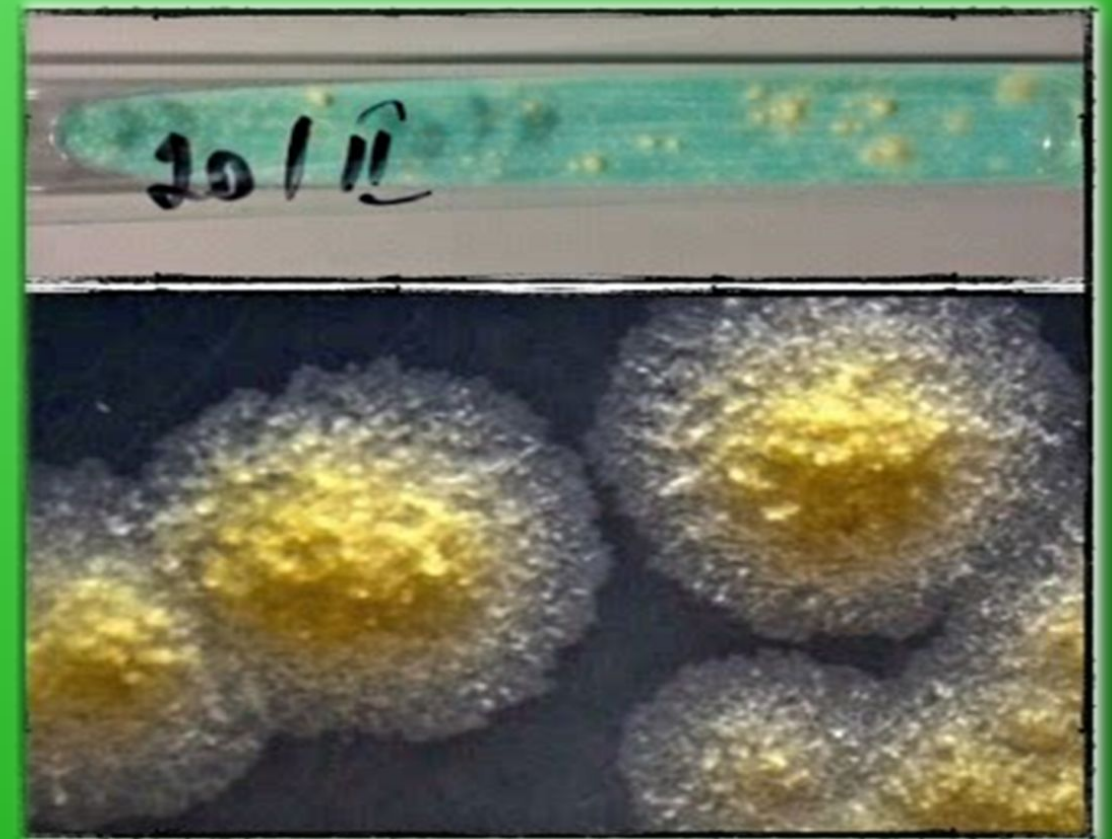
Среднее время бактериологического обследования, по классической методике, составляет 50 – 55 дней.



На питательной среде растут в виде колоний, которые отличаются своей шероховатостью и грубоватостью на поверхности. С помощью этого метода судят о наличии бактериовыделения.

Результат определяют по 3 баллам:

- ◆ «+» говорит о скудной картине;
- ◆ «++» свидетельствует об умеренном выделении;
- ◆ «+++» обильное.
- ◆ Последнее представляет собой наибольшую опасность как для самого человека, так и окружающих его людей.



**Ускоренные методы
выявления
возбудителя**

**Культуральн
ые**

**Молекулярно-
генетические**

**Культивирование на жидких
питательных средах
с автоматической регистрацией
роста культуры**

**Выявление ДНК возбудителя
в диагностическом материале**

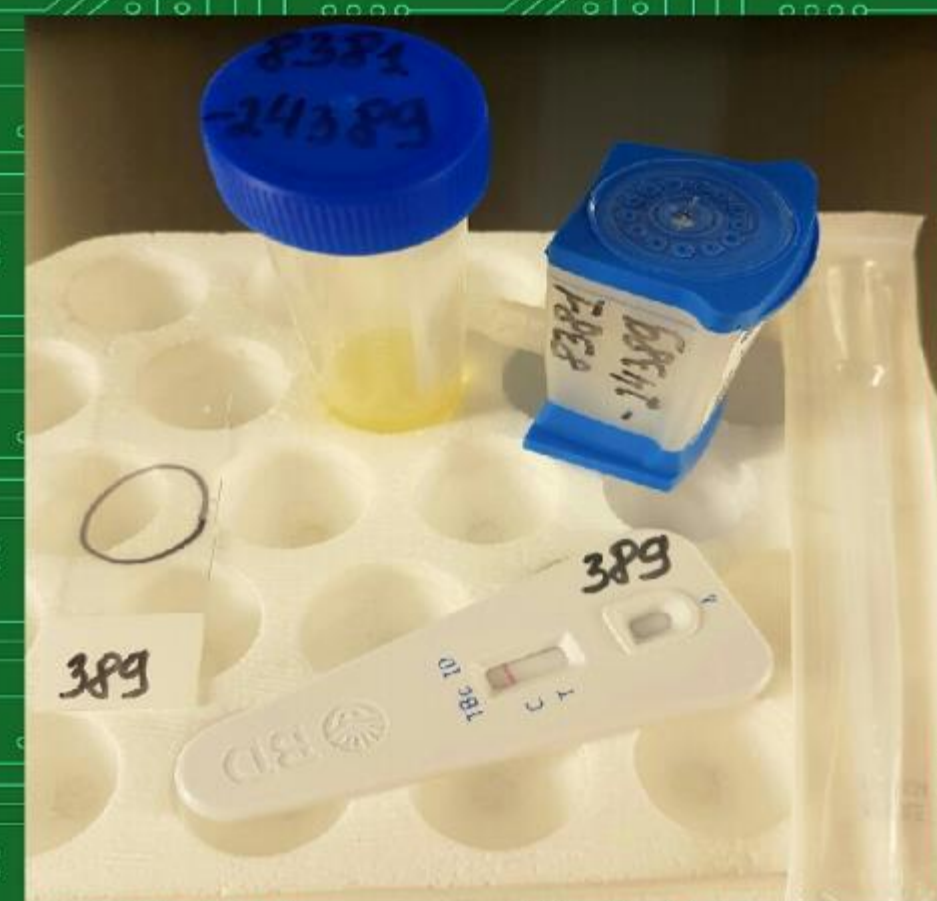
ВАСТЕС MGIT 960 7-14 дней

ПЦР 1-2 дня

Автоматизированная система
 BD BASTEC™ MGIT™ 960
 предназначена для выявления
 микобактерий и определения
 лекарственной чувствительности
 МБТ к препаратам 1-го и 2-го ряда



24389	акрихин	эристра	концентрация взвешивания	1:4 НА 111
24402	Rif-чув.	полочник	++	
24408	Rif-чув.	полочник	++	



24360	Rif-чув.	полочник	++	
24389	акрихин	эристра	концентрация взвешивания	1:4 НА 111
24402	Rif-чув.	полочник	++	



В основе методики лежит изобретение индикаторной пробирки **MGIT** - **Mycobacteria Growth Indicator Tube**.

В дно встроен флуоресцентный кислородный датчик. 1 раз в час флуоресцентный сенсор считывает результаты тестирования.

Получение достоверных результатов на 4 – 14 день.

Производительность от 2500 до 8000 тестов в год.

Отрицательные:

незначительное или
полное отсутствие
свечения

O₂ много



Положительные:

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

O₂ мало

Определение лекарственной чувствительности

**Определение ЛЧ МБТ в системе
ВАСТЕС MGIT**

**к 5 ПТП 1-го ряда: к изониазиду,
рифампицину, этамбутолу,
стрептомицину, пиразинамиду;
к 8 ПТП 2-го ряда: к амикацину,
капреомицину, офлоксацину,
левофлоксацину, этионамиду,
канамицину, ПАСКу, рифабутину.**

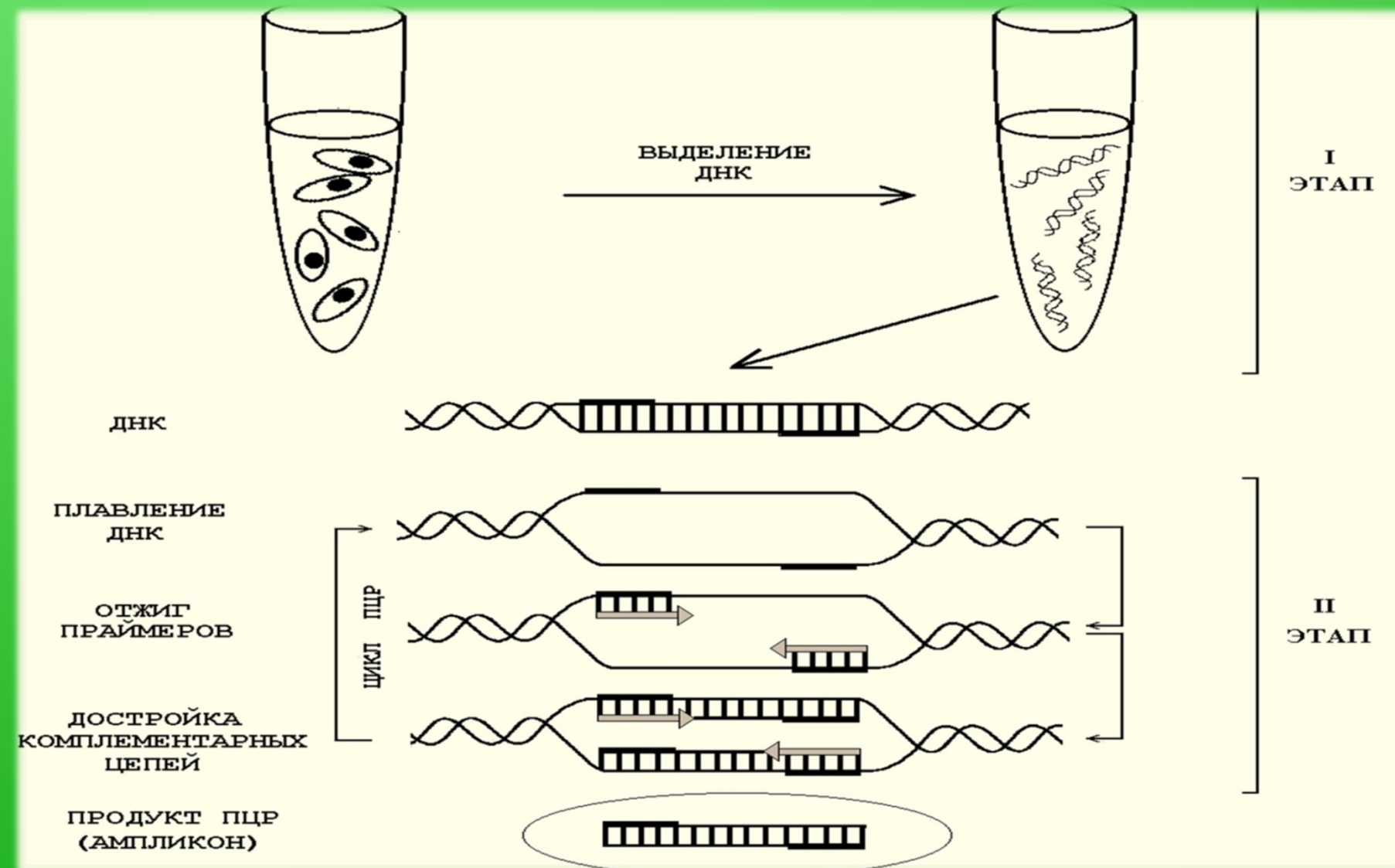
**Определение ЛЧ МБТ методом
абсолютных концентраций на
среде Левенштейна-Йенсена**

**к 4 ПТП 1-го ряда: к изониазиду,
рифампицину, этамбутолу,
стрептомицину;
к 7 ПТП 2-го ряда: к канамицину,
офлоксацину, этионамиду,
капреомицину, циклосерину,
ПАСКу, амикацину.**

Молекулярно-генетические методы :

ПЦР (полимеразная цепная реакция) на туберкулёз – это точный анализ, способный выявить палочку Коха за несколько часов.

Диагностика основана на методах генной инженерии. В лаборатории выделяют клетку ДНК, при помощи генно-молекулярных тестов определяют тип возбудителей.



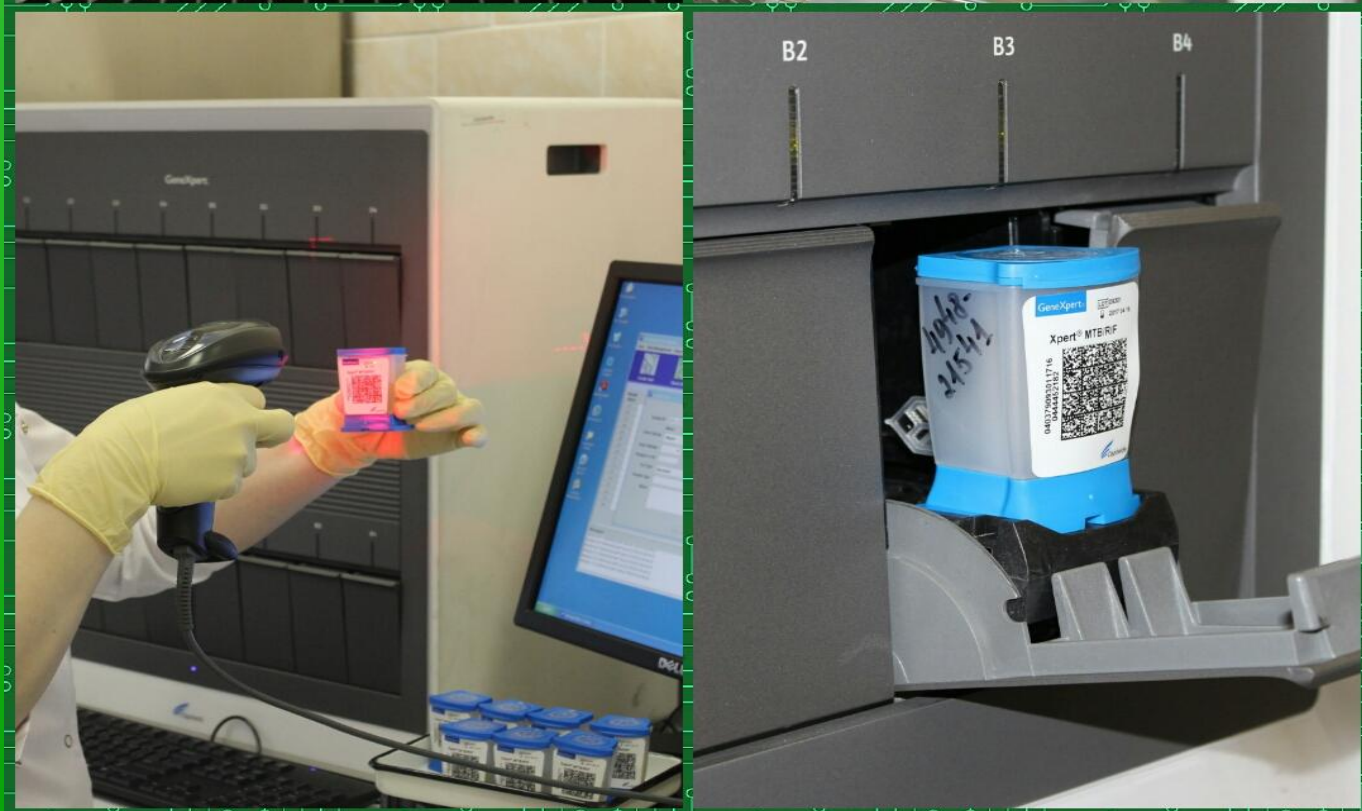
Картриджная технология GeneXpert MTB/RIF

Использование этой системы позволяет непосредственно из нативной мокроты в очень короткие сроки (в течение 2,5 часов) одновременно проводить выявление ДНК МБТ и с высокой достоверностью определять устойчивость МБТ к рифампицину.

После регистрации анализа фтизиатр может назначить больному режим
лечения.

Это очень важно для дальнейшего хода выздоровления.

Струйная система GeneXpert Dx – ПЦР в режиме реального времени



Assay Version		Assay Type
G4	5	In Vitro Diagnostic
MTB NOT DETECTED		
Result		
EndPt	Analyte Result	Probe Check Result
-2.0	NEG	PASS

Assay Version		Assay Type
G4	5	In Vitro Diagnostic
MTB DETECTED LOW; Rif Resistance DETECTED		
Result		
EndPt	Analyte Result	Probe Check Result
144.0	POS	PASS

Assay Version		Assay Type
G4	5	In Vitro Diagnostic
MTB DETECTED HIGH; Rif Resistance NOT DETECTED		
Result		
EndPt	Analyte Result	Probe Check Result

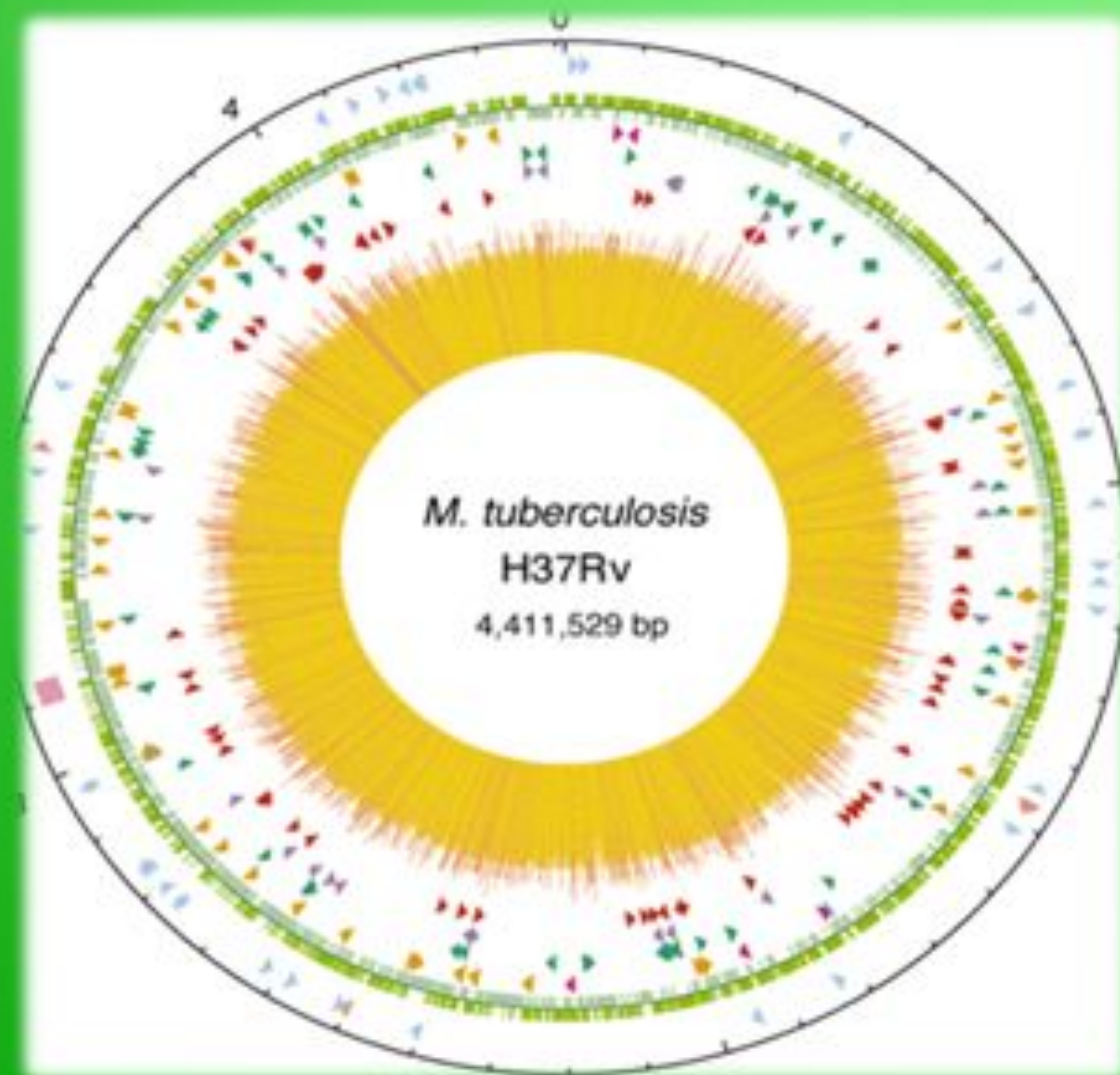
Задачи молекулярно-генетических методов исследования для фтизиатрии

- выявление и идентификация микобактерий туберкулеза**
- определение лекарственной чувствительности штаммов**
- типирование штаммов**

Внедрение ПЦР позволило:

- значительно сократить сроки (до одного дня) подтверждения диагноза туберкулеза**
- контролировать эффективность химиотерапии у больных туберкулезом легких с отрицательными результатами бактериоскопии и посева.**

Молекулярно-генетические методы диагностики туберкулеза



Геном *M.tuberculosis*

По рекомендации ВОЗ, молекулярные тесты не заменяют классическую микробиологию (плотные и жидкие среды), а используются как скрининговые тесты для быстрого выявления контагиозных больных и больных с МЛУ.

Длительность исследования
1-3 дня



24 марта

Всемирный день борьбы с туберкулезом