

Лабораторная диагностика туберкулезной инфекции в стационаре



Ибраева Жанар Жумагуловна
старший врач службы микробиологических исследований
КДЛ РГП «БМЦ УДП РК»
врач высшей категории
г. Астана, Республика Казахстан

Туберкулез относится к одной из распространенных инфекционных заболеваний в мире.

Согласно отчета ВОЗ за 2016г., ежегодно в мире заболевают туберкулезом около 8,5 миллионов человек, 1,3 миллиона человек умирают от этого заболевания.

По итогам 2016 года в Казахстане отмечается стабильная эпидемиологическая ситуация по туберкулезу.

Согласно отчета Всемирного Экономического Форума о Глобальной конкурентоспособности на 2015-2016 годы по фактору "Распространенность туберкулеза" (Tuberculosis incidence) Казахстан в 2016 году занял 92 место, поднявшись на 9 позиций по сравнению с 2015 годом.

Показатели в 2016 году снизились по заболеваемости на 9,9%, смертности на 17,1% против 2015 года.

Приказ №19 от 22 августа 2014 года «Инструкция по организации и осуществлению профилактических мероприятий по туберкулезу»

На медицинских работников лечебных организаций возлагается:

1 раннее выявление туберкулеза методом микроскопии мазка мокроты среди лиц с клиническими признаками заболевания и методом флюорографии среди населения с высоким риском заболевания туберкулезом (группа «риска»).

2 при отсутствии мокроты исследуются промывные воды желудка, бронхов или индуцированная мокрота, полученная после ингаляции 5% раствором хлористого натрия, утром натощак в течение 3-х дней.2

3 при подозрении на внелегочный туберкулез специалистами проводятся бактериоскопическое исследование пунктатов, аспиратов, биоптатов на МБТ.

Показания к лабораторному исследованию:

микроскопическое исследование мокроты проводится лицам при наличии **кашля**, продолжающегося **более двух недель** (кашель является главным симптомом у больных легочной (заразной) формой туберкулеза) и одного или нескольких нижеперечисленных клинических симптомов:



Потеря аппетита



Потеря веса



Потливость по ночам



Длительный кашель
больше
трех недель



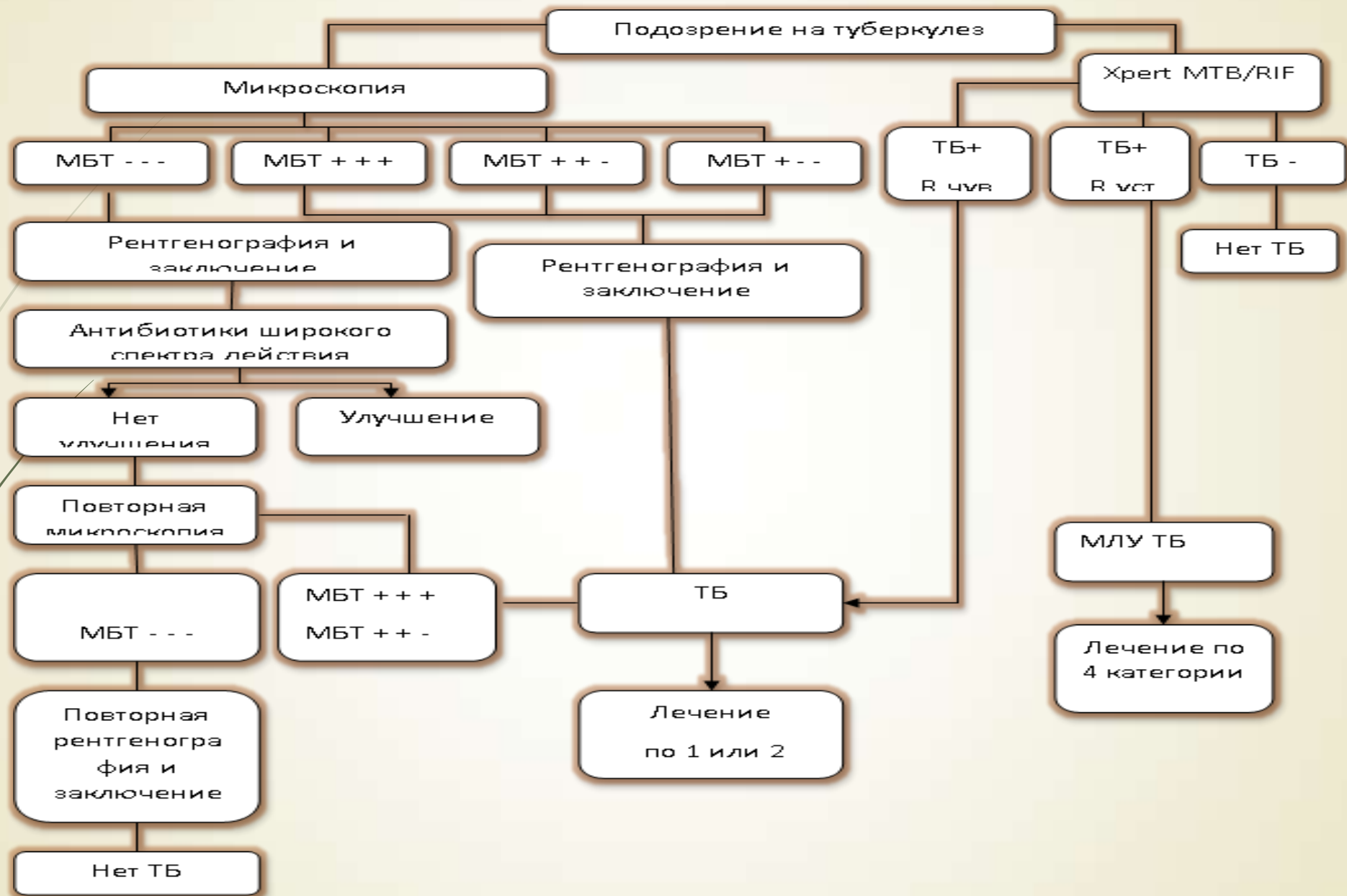
Температура в течении
некоторого времени



Утомляемость, слабость,
отдых

В случаях, когда у больного имеются вышеупомянутые симптомы, медицинский работник проводит диагностический алгоритм обследования больного на туберкулез в соответствии с приложением 2 к настоящей Инструкции.

Диагностический алгоритм обследования больного на туберкулез



Генно-молекулярная технология Xpert MTB/RIF



Xpert MTB/RIF – полностью автоматизированная система, проводящая реакцию полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени, в ходе которой происходит одновременная детекция ДНК МТВ комплекса и мутации гена в кодоне *rpoB*, ассоциированного с резистентностью к рифампицину в течение 2 часов.

Материалы, подлежащие исследованию: мокрота, бронхоальвеолярный смыв, спинномозговая жидкость, пунктаты лимфатических узлов или другие ткани.

Выдача результатов:

- 1 МБТ не обнаружен (отрицательный результат);
- 2 МБТ обнаружен, Rif resistance не обнаружен (положительный результат, рифампицин чувствительный);
- 3 МБТ обнаружен, Rif resistance обнаружен (положительный результат, рифампицин устойчивый);
- 4 МБТ обнаружен, Rif resistance не определен (положительный результат, устойчивость к рифампицину определить не удалось, это свидетельство того, что генетического материала микробной клетки было недостаточно).

Обзор процедуры

1
Смешать



2
Добавить



3
Вставить



4
Выявить



Сбор мокроты и доставка в лабораторию для исследования



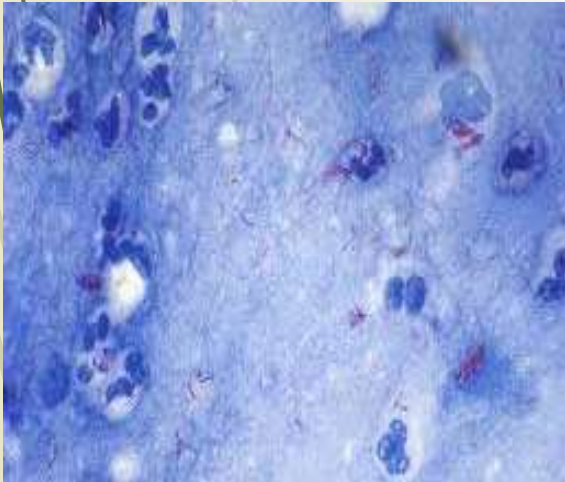
Для обнаружения бактериоскопическим методом МБТ в препарате необходимо, чтобы в 1 мл мокроты содержалось не менее 100 000 микробных тел.

При меньшем числе микобактерий исследование может дать ложноотрицательный результат.

В лаборатории приготовление мазков по Циль-Нильсену проводится в соответствии с утвержденными стандартами.

Микобактерии туберкулеза — тонкие, прямые или слегка изогнутые палочки длиной 1 -10 (чаще 1-4) мкм, шириной 0,2-0,6 мкм, гомогенные или зернистые с незначительно закругленными концами.

Микобактерии характеризуются выраженным полиморфизмом.



Градация результатов микроскопического исследования

Результат исследования	Количество полей зрения (п/з), для просмотра	Форма записи результата	Интерпретация результата исследования
КУБ не обнаружены в 300 п/з	300	отр	Отрицательный
1-9 КУБ в 100 п/з	100	Точное количество КУБ в 100 п/з	Положительный
10-99 КУБ в 100 п/з	100	1+	Положительный
1-10 КУБ в 1 п/з	50	2+	Положительный
Более 10 КУБ в 1 п/з	20	3+	Положительный



Внелегочный туберкулез – это определение заболеваний, которые объединяют в себе целую группу болезней, которые поражают самые разные органы человека.



Он довольно опасный, поскольку в 70% случаев диагностирование происходит на последних стадиях развития.



Для исследования может быть использован разнообразный патологический материал:

- аспират, содержимое бронхов и другие материалы, получаемые при бронхоскопическом исследовании
- промывные воды бронхов и желудка
- экссудаты
- гной, отделяемое ран
- спинномозговая жидкость
- моча
- операционный материал

Требования к сбору материала :

у 10 — 15 % больных туберкулезным менингитом в СМЖ обнаруживаются КУБ

- пробирку со СМЖ ставят в вертикальное положение на 8 — 10 ч в прохладном месте
- при туберкулезе образуется фибринная пленка, содержащая форменные элементы и микобактерии

Экссудаты, аспираты, пунктаты, отделяемое ран и другие материалы берут с соблюдением правил асептики, в стерильную посуду

Особого внимания требует сбор мочи

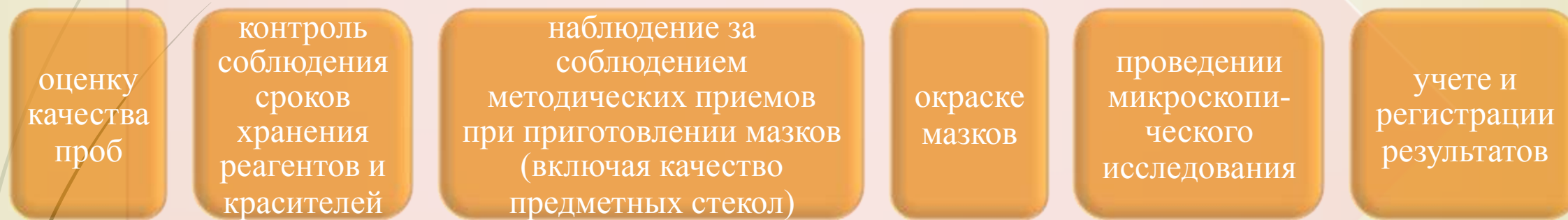
- для исследования используют среднюю порцию утренней мочи
- после тщательного туалета наружных половых органов растворами антисептиков

Промывные воды желудка берут натошак после нейтрализации кислой реакции желудочного содержимого и исследоваться немедленно, чтобы исключить повреждающее воздействие на возбудителя желудочных ферментов.

Контроль качества микроскопического выявления кислотоустойчивых микобактерий:

I. Внутрिलाбораторный контроль качества (ВЛКК)

1. ВЛКК выполняемых исследований – систематическое наблюдение за проводимой в лаборатории работой и оценка ее эффективности.
2. Контроль качества проводится на всех этапах микроскопического исследования и включает:



3. Ежедневно используются два неокрашенных контрольных мазка, один из которых заведомо является положительным, а второй - отрицательным. Просмотр начинают с контрольных мазков, затем просматривают клинические мазки.
4. Качество исследований обеспечивается всеми сотрудниками лаборатории.

Контроль качества микроскопического выявления кислотоустойчивых микобактерий:

II. Внешний контроль качества микроскопических исследований (ВОК)

Все мазки с выявленными КУБ отправляются на
дополнительный контроль в бак.лабораторию
ГКЖП «Противотуберкулезный диспансер г. Астаны»,
100% подтверждение всех направленных мазков





Диагностический
поиск



Лабораторное
подтверждение



Диагноз

ВЫПИСКА из медицинской карты стационарного больного К.. 1985 г.р.

Клинический диагноз: Нетуберкулезный микобактериоз правого легкого, *Mycobacterium Kansaii*, кавитарная форма, тяжелое течение.

Осложнения 1. Острая респираторная недостаточность;

Сопутствующие заболевания: 1 Синдром Шерешевского- Тернера.; 2 АИТ. Первичный гипотиреоз средней степени тяжести в стадии декомпенсации.; 3 Вторичная антибиотикоассоциированная энтеропатия. Дисбиоз кишечника, средней степени тяжести.; 4 Хроническая железодефицитная анемия легкой степени тяжести.; 5 Остеопороз без патологического перелома.;

Жалобы: при поступлении на выраженную общую слабость, мышечную слабость, одышку смешанного характера при незначительной физической нагрузке, частый стул кашицеобразной и жидкой консистенции (до 4-6 раз в сутки).

Р-графия ОГК проведена с учетом наличия респираторных симптомов, где выявлена инфильтрация с признаками деструкции

КТ грудного сегмента, в S2 справа определяется деструктивная полость, неправильно-продолговатой формы, с неравномерно толстыми стенками и периферическим уплотнением. Контуры периферического уплотнения относительно четкие, неровные, с структуре множественные мелкие полости. Вокруг основной полости прослеживаются отдельностоящие единичные мелкие полости, с аналогичной периферической картиной. В S6 с обеих сторон небольшие участки субплеврального уплотнения, с периферическим фиброзом, единичными мелкими полостями.

Лабораторные методы исследования

- Мокрота на МБТ методом бактериоскопии трехкратно и методом ПЦР-**результаты отрицательные**

с целью исключения специфического генеза изменений

с диагностической целью

- ФБС , при исследовании промывных вод бронхов методом бактериоскопии
- **результат - КУБ2+**

- получено подтверждение наличия КУБ в мазках, и рекомендовано исследовать материал молекулярно-генетическими методами

стеклопрепараты отправлены в ГККП «Противотуберкулезный диспансер г. Астаны»

материал (ПВБ) доставлен в бак. лабораторию ГККП «Противотуберкулезный диспансер г. Астаны», где сделан:

- посев в 1 пробирку с плотной средой Левенштейна-Йенсена
- 1 пробирку с жидкой средой на автоматизированной системе Bactec MGIT-960
- одновременно проводились молекулярно-генетические исследования Geno Type MTBDR plus (Хайн-тест) и Xpert MTB/RIF

Результаты исследования, проведенных в лаборатории ГККП «Противотуберкулезный диспансер г. Астаны»:

1

- 1.Генно-молекулярная технология Xpert MTB/RIF – МБТ не обнаружен (отрицательный результат)

2

- Молекулярно-генетические исследования Geno Type MTBDR plus- Хайн тест (наиболее часто используемый на сегодня метод GenoType ® MTBDR *plus*, позволяющий в течение 2-х дней выявлять мутации в генах МБТ, ответственных за устойчивость к рифампицину и изониазиду) – туберкулезный комплекс не обнаружен (отрицательный результат).

3

- На плотной среде Левенштейна-Йенсена на 10-е сутки рост колоний S формы, под воздействием света образовался желтый пигмент
- (МБТ растут не ранее 3-4 недель, R формы, не образуют пигмент), - микроскопический обнаружены КУБ.



4

- Автоматизированная система Bactec MGIT-960- обнаружен рост микобактерии в жидкой среде
- а) Скорость роста – быстрый, МБТ растут медленно и требуют больше времени для перехода на положительный рост по сравнению с нетуберкулезными микобактериями
- б) характер роста –однообразная замутненность среды, МБТ принимают грануловидную форму
- в) в мазке, сделанном из положительного бульона MGIT обнаружены разрозненные небольшие сгустки и нити, и единичные клетки, МБТ образуют ярко выраженные сгустки и змеевидные нити (корд-фактор)
- г) проведен идентификационный тест с ID (иммунохроматографический экспресс тест для качественного определения АГ МБТ)- отрицательный

5

- Положительный результат GenoType ® Mycobacterium AS, используют для дифференциаций редко встречающихся видов микобактерий- **Mycobacterium Kansaii**.

Выводы

1. Для исключения активного туберкулёза легких стандартной диагностической процедурой является микроскопическое исследование трех проб мокроты (окраска по Цилю-Нильсену)

2. Проводить полный комплекс диагностических исследований для выявления туберкулёза

3. В случаях, когда микробиологическая лаборатория не может идентифицировать МБТ, образцы необходимо отправлять в лабораторию, где применяются более быстрые и надежные методы идентификации.



Благодарю за внимание!