Северный государственный медицинский университет

Реферат

на тему:

Пути оптимизации лабораторной диагностики туберкулеза

Кафедра семейной медицины

Зав. каф.: профессор В.В. Попов

Зав. курсом клинической лабораторной диагностики:

профессор Н.А. Воровьева

Выполнила: врач-интерн

МУЗ «Городская больница№1»

г.Северодвинска

Н.Ю. Шульгина

Архангельск 2009

Содержание

Введение 3

Этиология 6

Клинико-лабораторная диагностика туберкулеза 6

Пути оптимизации лабораторной диагностики туберкулеза 21

Заключение 39

Список использованной литературы 40

Введение

Туберкулез — это заболевание инфекционно-аллергического генеза, вызывается микобак-териями, характеризуется поражением различных органов и тканей, появлением в пораженных органах (легких, лимфатических узлах, коже, костях, почках, кишечнике и др.) мелких бугорков со склонностью к так называемому «творожистому» некрозу.

Туберкулез сегодня — это болезнь, от которой ежегодно погибает около 3 млн. человек. Туберкулез является одной из самых актуальных проблем здравоохранения в мире. Способы ранней и достоверной диагностики туберкулеза чрезвычайно важны для выбора правильного лечения и предупреждения распространения заболевания.

Современная эпидемическая ситуация по туберкулезу в России имеет следующие особенности:

поздняя диагностика туберкулеза, обусловленная недостаточным охватом населения регулярным диспансерным и флюорографическим обследованием;

изменение типичной клинической картины заболевания;

изменения биологических свойств возбудителя туберкулеза, требующие нетрадиционных подходов для его обнаружения и идентификации.

В таких условиях классическая диагностика туберкулеза легких в ряде случаев становится затрудненной. Еще более проблематичной является диагностика внелегочного туберкулеза, при проведении которой на фоне широчайшего полиморфизма клинических проявлений приходится сталкиваться со следующими трудностями:

малая частота обнаружения возбудителя в исследуемом материале;

неэффективность использования рентгенологических и гистологических методов на начальных стадиях заболевания;

наличие локализаций и форм туберкулеза, при которых проведение бактериологических, рентгенологических и гистологических исследований не эффективно (собственно туберкулез глаз, туберкулезно-аллергические поражения глаз, туберкулезно-аллергические синовиты).

При диагностике туберкулеза врачи зачастую встречаются со значительными трудностями, так как заболевание начинается без специфических клинических и лабораторных признаков. Опытному фтизиатру легче разобраться с клиникой туберкулеза, однако впервые такие больные обращаются к участковому врачу. Заподозрив туберкулез, участковый врач направляет больного в учреждения фтизиатрической службы. Тем не менее и в амбулатории, и в стационаре терапевтам, инфекционистам, хирургам, офтальмологам, гинекологам и врачам других специальностей в ряде случаев приходится заниматься дифференциальной диагностикой, чтобы исключить туберкулез или передать больного для углубленного обследования фтизиатрам.

У больных ВИЧ-инфекцией туберкулезные поражения выявляются в 500 раз чаще, чем у всего населения, однако клинические и рентгенологические характеристики туберкулеза на фоне ВИЧ-инфекции часто атипичны.

Наиболее важными в диагностике туберкулеза являются рентгенологические методы. Вместе с тем в распознавании этого сложного вида инфекционной патологии помогают клиницистам и методы лабораторно-иммунологического обследования. В первую очередь это относится к бактериологическим методам этиологической диагностики — бактериоскопия и посев материала на элективные среды. Применение этих методов в виде скрининга в группе лиц, страдающих кашлем с выделением мокроты, но считающих себя здоровыми, позволяет выявлять от 0,25 до 7,6 больных туберкулезом из1000 обследованных. Ввиду методического несовершенства и высокой стоимости еще не введены в широкую практику молекулярно-генетические методы выявления возбудителя туберкулеза — полимеразной цепной реакции и ДНК-зондов. Вместе с тем названные методы весьма информативны.

Этиология

Туберкулез у человека вызывается в основном (92% случаев) микобактериями туберкулеза (Mycobacterium tuberculosis) и реже — микобактериями бычьего типа (Mycobacterium bovis). Резервуаром Mycobacterium tuberculosis является человек, Mycobacterium bovis — животные. Возможна передача микобактерии бычьего типа от человека человеку.

Микобактерии туберкулеза имеют форму тонких прямых или слегка изогнутых неспоро-образующих палочек. Тела палочек гомогенные или зернистые с невыпукло закругленными концами длиной 1 —10 мкм, шириной 0,2—0,6 мкм. Микобактерии туберкулеза являются облигатными аэробами, факультативными внутриклеточными паразитами. Размножаются сравнительно медленно — одно деление за 12—20 ч. На плотных питательных средах (in vitro) рост микобактерии наблюдается в виде морщинистого или суховатого чешуйчатого налета.

Значительным изменениям подвержены как морфологические и тинкториальные, так и антигенные, вирулентные и другие свойства микобактерии туберкулеза. Благодаря такой изменчивости возбудитель выживает в организме человека и длительно, иногда на протяжении всей жизни, персистирует в нем.

Клинико-лабораторная диагностика туберкулеза

Все методы лабораторной диагностики туберкулеза можно разделить на специфические (этиологические) и неспецифические.

Специфические методы лабораторной диагностики туберкулеза

В свою очередь специфические методы по видам исследований можно разделить на несколько групп. Бактериологические и молекулярно-генетические методы являются основным инструментом в лабораторной диагностике туберкулеза, они позволяют определять в организме больного присутствие возбудителя туберкулеза. Если бактериовыделение не удается выявить, а клинически исключить туберкулез не представляется возможным, могут быть использованы цитогистологические методы, с помощью которых можно обнаружить специфические туберкулезные изменения (элементы гранулемы).

С помощью иммунологических методов можно оценить реакцию иммунной системы на микобактериальные антигены и определить уровень специфических антимикобактериальных антител, что в комплексе с результатами других исследований является важной диагностической информацией. Например, при обследовании детей наиболее информативными являются иммунологические методы (реакция Пирке, проба Манту, определение специфических антимикобактериальных антител методом ИФА).

Специфические методы лабораторной диагностики туберкулеза делятся на 4 группы:

1.Бактериологические методы:

бактериоскопия

Стандартной методикой является окраска препарата по Цилю—Нильсену карболфукси-ном с последующей микроскопией при 1000-кратном увеличении. Эта методика должна выполняться в условиях клинических лабораторий, начиная с уровня поликлиник, и входит в поликлинический и клинический минимум обследования пациента, страдающего кашлем с мокротой (3-кратное микроскопическое исследование мокроты на микобактерий туберкулеза). Бактериоскопия мокроты должна проводиться и больным хроническими заболеваниями органов дыхания и мочевыводящей системы, а также работникам неблагополучных по туберкулезу животноводческих хозяйств.

При обнаружении в мазке в одном поле зрения 5 и более микобактерий вероятность получения положительного результата посева материала на питательные среды значительно возрастает.

Метод люминесцентной микроскопии основан на способности липидов микобактерий туберкулеза связывать флюоресцентные красители, которые светятся под воздействием коротких синих и ультрафиолетовых лучей.

Микроскопия при неиммерсионном 100-кратном увеличении позволяет видеть микобактерий в препарате, окрашенном флюоресцентным красителем аурамином-родамином.

При помощи метода люминесцентной микроскопии дополнительно, по сравнению с возможностями обычной бактериоскопии, можно выявить микобактерий туберкулеза в 17% случаев исследования нативных мазков и в 8% случаев исследования мазков из флотационных колец.

Большая контрастность микроскопической картины дает возможность проводить исследования при малых увеличениях, что, значительно расширяя поле зрения, позволяет выявить единичные микобактерии и, таким образом, делает метод особенно ценным при исследовании олигобациллярного материала.

Метод микроскопического исследования кислотоустойчивых мазков с окраской аурамином О или по Цилю — Нильсену позволяет быстро получить результаты, но обладает низкой чувствительностью и специфичностью. Частота выявления микобактерии у больных туберкулезом при микроскопии мокроты составляет, по данным разных авторов, от 48 до 87%, а плевральной жидкости — до 2%. При этом сравнение данных микроскопических исследований с данными культуральных исследований показывает, что доля ложноположительных результатов составляет до 6%. При исследованиях материала из очагов внелегочной локализации чувствительность и специфичность метода микроскопии еще ниже.

―посев на питательные среды

Данные культуральных исследований более информативны, чем бактериоскопических методов, но получить ответ о наличии возбудителя туберкулеза можно лишь через несколько недель.

Посев мокроты на классические элективные среды (Левенштайна — Йенсена и др.) входит в перечень методов, выполняемых бактериологическими лабораториями. Рост первых колоний отмечают через 4—8 нед. Использование современных высокоселективных сред позволяет получать культуры в течение 1—2 нед, однако идентификация требует дополнительного времени. При идентификации микобактерии весьма информативен метод определения термостабильности каталазы микобактерии, так как указанным свойством обладают только Mycobacterium tuberculosis и Mycobacterium bovis .

Кроме мокроты материалом как для мазка, так и для посева является аспират желудочного содержимого, взятый натощак рано утром. Однако частота находок составляет 4—5%. В мокроте у этих же больных выявление микобактерии в 6—10 раз чаще.

Современные бактериологические методы выявления микобактерии туберкулеза в исследуемом материале, к сожалению, характеризуются невысокой чувствительностью.

Метод хроматографии миколовых кислот является дополнением к культуральным исследованиям.

биологический метод

До появления молекулярно-генетических методов биологический метод считался наиболее чувствительным. Однако, в случаях, когда в исследуемом материале содержатся микобактерии, высоко устойчивые к препаратам изоникотиновой кислоты, не всегда удается получить развитие генерализованного туберкулеза, так как такие микобактерии иногда оказываются невирулентными или маловирулентными для морских свинок.

Современные культуральные и молекулярно-генетические методы считаются достаточно информативными, поэтому биологические пробы с заражением морских свинок являются неперспективными.

2.Молекулярно-генетические методы.

Применение молекулярно-генетических методов для определения микобактерии в клинических образцах позволяет в короткие сроки осуществлять диагностику туберкулеза. Быстрота определения имеет особое значение в случаях идентификации штаммов микобактерии, отличающихся замедленным ростом. Молекулярно-генетические методы имеют неоспоримое превосходство над культуральными в случаях, когда в образце содержатся нежизнеспособные и/или некультивируемые микобактерии.

Применение системы с использованием ДНК-зондов позволяет в 2—4 раза, по сравнению с культуральным методом, сократить время, необходимое для выявления микобактерии туберкулеза. Но наиболее перспективным для применения в практических лабораториях оказался метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), позволяющий проводить идентификацию микобактерии туберкулеза в клинических образцах в течение 48 ч.

Аналитическая чувствительность метода составляет от 1 пкг до 5 фг микобактериальной ДНК в образце, что эквивалентно выявлению единичных (1—10) клеток.

Оценка различных систем амплификации показала, что чувствительность метода составляет от 80 до 97%. С помощью метода прямой амплификации рРНК микобактерий туберкулеза выявляют в 96,3% клинических и в 97,7% культуральных образцов. Совместное использование в ПЦР-анализе двух или трех систем амплификации позволяет повысить чувствительность определения до 98%. При исследовании 3 образцов от пациента чувствительность метода может достигать 100%.

Метод ПЦР позволяет проводить избирательную амплификацию фрагментов нуклеиновых кислот, строго специфичных только для бактерий Mycobacterium tuberculosis, поэтому специфичность ПЦР-анализа микобактерий туберкулеза может составлять до 100%.

Основное преимущество метода ПЦР для диагностики туберкулеза по сравнению с культуральным методом — быстрота получения результата.

На эффективность ПЦР-анализа существенным образом влияет метод подготовки клинического материала. В ПЦР-диагностике туберкулеза для исследований используют практически любые биологические жидкости и биоптаты тканей. При невозможности получения удовлетворительных образцов мокроты у пациентов с подозрением на туберкулез легких методом ПЦР удается обнаружить микобактерий туберкулеза в смывах из ротовой полости.

Особенно ярко преимущества ПЦР проявляются в случаях нелегочных форм инфекции, когда туберкулезную этиологию процесса удается установить при помощи ПЦР в два раза чаще, чем культуральным методом. ПЦР используют для установления диагноза у больных с подозрением на туберкулезный менингит, что позволяет своевременно начать этиотропную терапию. Для анализа используют цереброспинальную жидкость.

Цитогистологические методы

Главная задача цитогистологических методов в лабораторной диагностике туберкулеза это обнаружение специфических туберкулезных изменений (элементов гранулемы). В зависимости от локализации специфического процесса по возможности производится пункция пораженного органа или ткани с последующим цитогистологическим исследованием полученного материала.

исследование мокроты и бронхоскопического материала;

исследования пунктатов лимфатических узлов

исследование соскобов стенки свища при поражениях различной локализации.4. Иммунологические методы:

туберкулинодиагностика;

Туберкулинодиагностика используется при первичной диагностике туберкулеза и оценке активности процесса, представляет собой определение реакции организма на внутрикожное введение туберкулина. Основным методом диагностики туберкулеза у детей является массовая туберкулинодиагностика, что обеспечивает выявление преимущественно ограниченных форм туберкулеза. Среди всех, впервые взятых на учет, ежегодно не менее 77% больных детей выявляется с помощью туберкулиновых проб. Применение туберкулиновых проб у взрослых в качестве скрининга нецелесообразно, т. к. до 80% взрослого населения инфицировано микобактериями туберкулеза.

Туберкулин — препарат, приготовленный из культуры микобактерий туберкулеза (протеиновая фракция) и обладающий их антигенными свойствами. В инфицированном организме при нормальной (или повышенной) иммунологической реактивности в ответ на введение антигенов микобактерий туберкулеза развивается реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

Виды туберкулина

Альттуберкулин Коха (АТК), или старый туберкулин Коха, представляет собой автоклави-рованный фильтрат 6—9-недельной культуры Mycobacterium tuberculosis.

На смену АТК пришли очищенные стандартные препараты туберкулина Зейберта — РРD-3 (Purified Protein Derivative — очищенный белковый дериват) и М.А.Линниковой — РРD-Л. Названные препараты освобождены от белковых составляющих питательной среды, что увеличивает специфичность реакции организма на туберкулин. На практике применяют стандартные растворы РРD-Л, содержащие 2 ТЕ (для массовых обследований).

Метод туберкулинодиагностики

Принятым методом проведения туберкулинодиагностики для массового обследования населения и в практике противотуберкулезных учреждений в России является внутрикожная проба Манту.

Результат внутрикожной туберкулиновой пробы оценивается как отрицательный (анергическая реакция), либо как положительный, который в свою очередь оценивается как

нормергическая или гиперергическая реакция.

Отрицательная реакция (туберкулиновая анергия), как правило, свидетельствует об отсутствии иммунитета к микобактериям туберкулеза, она наблюдается у людей, не контактировавших с Mycobacterium tuberculosis, и у больных с тяжелой прогрессирующей формой туберкулеза, иммунитет которых не сформировался или подавлен в условиях ослабленного, истощенного организма на фоне злокачественных новообразований, приема иммунодепрессантов, инфекционных и других заболеваний и состояний, приводящих к иммунодефициту. Вирусные гепатиты, корь, коклюш, скарлатина, малярия, саркоидоз, мик-седема, белковое голодание, прием цитостатиков и глюкокортикоидов вызывают у больных туберкулезом снижение или полное отсутствие реактивности к туберкулину. В ряде случаев в результате успешно проводимой терапии туберкулеза и сопутствующего заболевания или отмены иммунодепрессантов реактивность у таких больных восстанавливается.

Необходимо иметь ввиду, что отрицательная кожная проба Манту не всегда отражает отсутствие иммунитета, так как при этом могут быть выявлены диагностически значимый титр антимикобактериальных антител и/или положительные клеточные реакции. Наличие ложноотрицательных результатов туберкулиновой внутрикожной пробы связано с нарушениями правил и порядка выполнения исследования. Определить ложность отрицательного результата можно только при проверке срока годности препарата туберкулина (истекший) или знаний медицинского персонала о технике выполнения пробы. В случае выявления ложноотрицательного результата речь не может идти о туберкулиновой анергии. Туберкулинодиагностику следует провести повторно с соблюдением всех правил метода.

Антигенные характеристики туберкулина разных серий и от разных производителей могут быть несхожими настолько, что реактивность к ним у одного и того же больного может существенно различаться. Данное обстоятельство необходимо иметь в виду при сравнении результатов туберкулиновой пробы, полученных в разных учреждениях. Вместе с тем указанное антигенное различие туберкулиновых препаратов может быть полезно при проверке отрицательной реакции пробы Манту (туберкулиновой анергии). Применив препараты нескольких серий, можно выявить реактивность на один из них, хотя такой результат потребует проверки на специфичность методом повторения пробы в короткие сроки.

Положительная нормергическая реакция наблюдается либо вследствие иммунизации вакциной БЦЖ, либо в результате естественного инфицирования М. tuberculosis с последующим формированием иммунитета, предупреждающим развитие туберкулезного процесса.

Гиперергическая реакция, как правило, свидетельствует о заболевании туберкулезом. Перекрестная реакция на туберкулин вследствие гиперсенсибилизации организма непатогенными микобактериями окружающей среды редко наблюдается в северных широтах.

Результаты пробы Манту имеют особую диагностическую значимость при оценке реакции в динамике, поэтому туберкулинодиагностика детям и подросткам должна проводиться ежегодно. Переход отрицательной туберкулиновой пробы в положительную или увеличение размера папулы по сравнению с предыдущим результатом на 6 мм и более называется виражом туберкулиновой чувствительности. При этом конверсия отрицательной реакции в положительную свидетельствует о факте инфицирования человека М. tuberculosis и формировании у него нестерильного клеточного иммунитета; вираж в виде указанного увеличения диаметра папулы — о реактивации туберкулезного процесса.

Проверку специфичности положительной реакции туберкулиновой пробы рекомендуется проводить повторением пробы в короткие сроки — через 1—2 нед после первой. Специфическая реакция организма на туберкулин, в отличие от неспецифической, сопровождается бустерным эффектом, выражающимся нарастанием реактивных проявлений.

методы определения специфических антител к микобактериям туберкулеза (анти-МБТ);

Методы определения специфических антител к микобактериям тубекулеза (анти-МБТ) в литературе иногда называются серологическими методами, однако, это не является правильным термином, так как при лабораторной диагностике туберкулеза антитела могут выявляться не только в сыворотке крови (serum), но и в тканях пораженных органов. Термин «противотуберкулезные антитела» также не совсем корректен, как, например, выражение «противогепатитные антитела» (то есть не может быть антител против болезни, они существуют против патогенов). Методами ИФА, РСК, РНГА определяют иммуноглобулины класса IgG, специфичные к антигенам микобактерии туберкулеза. Самым современным способом определения специфических антимикобактериальных антител является иммуноферментный анализ (ИФА), отличающийся от прежних методик большей стандартизацией реагентов и условий проведения исследования. Усилиями Санкт-Петербургского НИИ фтизиатрии (СПбНИИФ) и Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии (СПбНИИЭМ) им. Пастера была разработана стандартная иммуноферментная тест-система для обнаружения антител к возбудителю туберкулеза.

Выявление специфических анти-МБТ антител методом ИФА не может быть эффективно использовано при скрининге туберкулеза, как, например, при скрининге ВИЧ-инфекции выявление антител к ВИЧ, в силу его недостаточной чувствительности и специфичности. Число лож-ноположительных результатов, получаемых при использовании отечественных и зарубежных тест-систем, составляет от 5 до 10%. При этом у больных туберкулезом положительные результаты исследования регистрируются только в 45— 70%. Однако в случаях, когда проведение бактериологических, рентгенологических и гистологических исследований не дает желаемого эффекта, информативны методы иммунологической диагностики туберкулеза, направленные на выявление изменений иммунного статуса больного, типичных для специфического процесса.

Обнаружение в периферической крови специфических антимикобактериальных антител (в диагностических титрах), независимо от выраженности специфического клеточного ответа, является одним из характерных, диагностически значимых признаков туберкулеза. Вместе с тем, необходимо иметь в виду, что отсутствие в крови специфических антимикобактериальных антител не является основанием для исключения диагноза туберкулеза, особенно в случаях специфического процесса внелегочной локализации.

По данным СПбНИИФ, в результате комплексного определения специфических антимикобактериальных антител удается выявить серопозитивность у 80—98% наиболее тяжелых больных туберкулезом легких, позвоночника, почек, у 40—60% больных туберкулезом женских гениталий, глаз, периферических лимфоузлов, туберкулезно-аллергическими синовитами.

В патологических очагах в органах и тканях местный иммунный ответ наиболее выражен, поэтому целесообразным является поиск антимикобактериальных антител (иногда с применением провокационных туберкулиновых проб) в биологических жидкостях или экстрактах тканей из анатомических зон поражения или максимально приближенных к ним участков.

При поражениях глаз и в случаях, когда работа с указанными биологическими жидкостями оказывается нецелесообразной или невозможной, существенную помощь в иммунодиагностике туберкулеза оказывает углубленное изучение клеточных реакций, характеризующих специфическую сенсибилизацию В- и Т-лимфоцитов, особенно на фоне пробы Коха.

― комплексная иммунодиагностика туберкулеза.

Специалистами СПбНИИФ и СПбНИИЭМ им. Пастера предложен способ иммунодиагностики туберкулеза различных локализаций, осуществляемый с помощью стандартизованного многоуровневого алгоритма — обнаружение анти-МБТ в сыворотке крови методом ИФА, которое при необходимости может быть дополнено выявлением анти-МБТ методом ИФА в биологических жидкостях (экстрактах тканей) из очагов поражения, определением специфической сенсибилизации В- и Т-лимфоцитов, изучением динамики специфического антителообразования на системном и (или) местном уровне на фоне пробы Коха (рис.1).

Неспецифические методы лабораторной диагностики туберкулеза.

К неспецифическим методам лабораторной диагностики туберкулеза относятся общеклинические, биохимические и цитогистологические методы исследования.

Общеклинические:

―Общий анализ крови

Изменения показателей периферической крови при туберкулезе лишены специфичности, однако, гемограмма помогает диагностировать фазу туберкулезного процесса и оценить тяжесть его течения.

Лицам, обследуемым на туберкулез, и больным туберкулезом назначается общеклинический анализ крови с определением СОЭ, содержания эритроцитов и лейкоцитов, концентрации гемоглобина и подсчетом лейкоцитарной формулы. Больным туберкулезом при наличии анемии рекомендуется определять количество ретикулоцитов для оценки регенерационной способности костного мозга, в дифференциально-диагностических случаях — содержание тромбоцитов.

Изменения гематологических показателей зависят, с одной стороны, от локализации, характера и тяжести течения инфекционного процесса, с другой — от состояния организма, его компенсаторных резервов. Гемограмма характеризует скорее фазу процесса, чем его клиническую форму. Например, у больных с распространенными деструктивными формами туберкулеза при компенсации процесса и отсутствии свежих воспалительных изменений картина крови может быть нормальной.

Обострение туберкулезного процесса сопровождается, как правило, палочкоядерным сдвигом нейтрофилов, лимфопенией и увеличением СОЭ. Общее содержание лейкоцитов находится у большинства больных в пределах нормы. Только острое и тяжелое течение характеризуется повышением содержания лейкоцитов в крови до 15'109/л. Нейтрофильный сдвиг лейкоцитарной формулы влево при этом становится более значительным. При тяжелом течении заболевания (особенно при милиарном туберкулезе) может возникнуть леикемоидная реакция миелоидного типа.

Купирование острого процесса вызывает нормализацию указанных изменений, появляется лимфоцитоз.

Нейтропения и лимфоцитоз могут наблюдаться при хроническом гематогенно-диссеми-нированном и очаговом туберкулезе.

―Анализ мокроты

Характер мокроты при туберкулезе легких слизистый или слизисто-гнойный. Примесь крови может свидетельствовать о деструкции легочной ткани, когда происходит разрушение кровеносных сосудов, и возможен выброс свежей крови вместе с мокротой при кашле. Мокрота при наличии каверн содержит рисовые тельца («линзы Коха»), эластические волокна, различные кристаллы. При хронических бронхитах мокрота содержит значительно меньшее количество белка.

Для фазы распада при туберкулезе легких характерна «тетрада Эрлиха» — наличие в мокроте кислотоустойчивых микобактерий, эластических волокон, кристаллов холестерина и солей кальция.

―Анализ бронхо-альвеолярного лаважа

Активация туберкулезного процесса в легких сопровождается некоторым снижением содержания альвеолярных макрофагов и резким возрастание количества нейтрофилов. В неактивной фазе отмечается снижение содержания лимфоцитов и небольшое повышение количества альвеолярных макрофагов.

―Анализ плеврального выпота

При обнаружении у больного избыточного скопления жидкости в плевральной полости необходимо проводить дифференциальную диагностику туберкулеза и других патологических состояний, сопровождающихся плевральным выпотом. Динамическое равновесие между секрецией и всасыванием жидкости плеврой обеспечивает в плевральной полости содержание определенного количества жидкости. В результате нарушения указанного равновесия происходит избыточное накопление плевральной жидкости.

При туберкулезе образуется серозный экссудат, как и при стафилококковой, стрептококковой инфекциях, сифилисе. Цитограмма в начальной стадии туберкулезного плеврита нередко бывает пестроклеточной, в силу чего его приходится дифференцировать с лимфогрануломатозом. Особое диагностическое значение для туберкулеза имеет обнаружение лимфоцитоза (более 50% в лейкограмме) в плевральной жидкости, что, однако, характерно и для злокачественного процесса. Наличие нейтрофильных гра-нулоцитов в стадии дегенеративного распада на фоне детрита и обильной микрофлоры свидетельствует о тяжести процесса. Эозинофилия плевральной жидкости (более 10%) часто связана с наличием воздуха или крови в плевральной полости (выпотной жидкости). Нарастание количества моноцитов в выпотной жидкости при воспалительных реакциях является благоприятным признаком. При затяжной форме в плевральной жидкости появляется много плазматических клеток.

При дифференцировании туберкулезного и неопластического процессов необходимо проводить цитологическое исследование плевральной жидкости. В 40—80% случаев, если причиной появления экссудата является злокачественное новообразование, в плевральной жидкости находят атипичные клетки.

―Анализ цереброспинальной жидкости

При подозрении на туберкулезный менингит проводят лабораторные исследования цереброспинальной жидкости (ЦСЖ). У половины больных туберкулезный менингит возникает на фоне активного туберкулезного процесса, чаще всего у больных с гематогенно-диссеминированным туберкулезом легких (у ⅓ больных — милиарного). Положительная туберкулиновая проба выявляется только у половины больных туберкулезным менингитом. При отсутствии активного процесса на ранних стадиях болезни значительные трудности представляет дифференциальная диагностика менингитов туберкулезной и вирусной этиологии.

В дифференциальной диагностике решающее значение имеют результаты лабораторного исследования ЦСЖ- Рост Mycobacterium tuberculosis в культуре может наступить не ранее 5 нед, поэтому в первую очередь принимают во внимание клинико-биохимические показатели ЦСЖ. Снижение содержания глюкозы в ЦСЖ на фоне даже незначительных признаков нарушения глазодвигательной иннервации свидетельствует в пользу туберкулезного поражения оболочек.

Лабораторно диагноз подтверждается выявлением кислотоустойчивых микобактерий в мазке ликвора. ЦСЖ при туберкулезе имеет серозный характер, обычно выявляется низкая концентрация глюкозы и увеличение количества лимфоцитов. Концентрация белка повышена, что обусловливает при отстаивании жидкости в течение суток появление нежной фибриновой пленки, напоминающей сетку или паутинку, которая служит материалом в бактериологических исследованиях для поиска микобактерий.

Нарастание содержания белка в ЦСЖ приводит к формированию типичного для туберкулезного менингита синдрома белково-клеточной диссоциации, суть которого в многократном увеличении концентрации белка (до 30 г/л) на фоне умеренного цитоза, близкого к норме или I незначительно ее превышающего (100—600 кл./л-10-З).

Биохимические исследования крови

Для оценки активности туберкулезного процесса информативными являются белки острой фазы. Направленность изменений белковых фракций сыворотки крови зависит от формы и стадии заболевания. В сыворотке крови больных туберкулезом выявляются повышенные уровни холестерина, мочевой кислоты, лизоцима и меди. При фиброзных изменениях в легких возрастает в крови активность ангиотензин-конвертирующего фермента. Вследствие уменьшения альвеолярной вентиляции развивается респираторный ацидоз (снижение рН и повышение РС02) .

Пути оптимизации лабораторной диагностики туберкулеза

Проводимая в последние годы большая организационная работа по осуществлению противотуберкулезных мероприятий позволяет ожидать снижения эпидемиологических показателей, но пока заболеваемость продолжает оставаться на высоком уровне.

Основным направлением работы является организация комплексных, синхронизированных и согласованных действий специалистов различных направлений, сотрудничающих в деле выявления, диагностики, лечения и реабилитации больных на всех этапах борьбы с туберкулезом. Однако на практике нередко обнаруживается некоторое недопонимание между специалистами клинических и лабораторных дисциплин, сопровождающееся отсутствием выраженных и заинтересованных контактов между специалистами на различных этапах лабораторного наблюдения пациентов, в результате чего снижается не только эффективность лечения, но и качество специализированной помощи больным туберкулезом в целом.

Основной задачей бактериологических лабораторий (БЛ) является обеспечение клиницистов своевременными и точными результатами исследований. Следует напомнить, что лаборатория выполняет в первую очередь консультативную, а уже затем рекомендательную функции (приказ Минздрава России от 21.03.03 № 109). Возникающее зачастую стремление возложить на лабораторию обязанность постановки диагноза необоснованно и порой опасно.

Назначаемые фтизиатрами лабораторные исследования иногда не учитывают возможности лабораторий (материально-технические ресурсы, наличие кадров и профессиональную подготовленность сотрудников лаборатории), специфичность и чувствительность используемых лабораториями методов; не основываются на адекватном выборе времени и кратности обследования пациентов, наиболее информативного диагностического материала (или материалов). Комплексное лабораторное (включая бактериологическое, клинико-лабораторное, биохимическое, иммунологическое, молекулярно-генетическое, морфологическое и др.) обследование пациента требует от клиницистов не только профессиональных навыков, но и понимания возможностей и ограничений используемых методов лабораторной диагностики. Наличие определенных пробелов в знаниях у фтизиатров порождает недопонимание между специалистами лабораторной практики и клинических дисциплин. Положения, не существенные с точки зрения клиницистов, но важнейшие для лабораторий, как правило, не выносятся на широкое обсуждение, однако серьезно влияют в конечном итоге на эффективность работы всей лабораторной службы.

Проблемы взаимодействия клиницистов и лаборатории

Направления на исследование

Эти документы, как правило, оформляются средним медицинским персоналом и не всегда корректно и полно заполнены. Это не позволяет лабораторным специалистам вести учетно-отчетную документацию и компьютерный учет обследованных лиц, использовать статистические методы контроля качества лабораторных исследований, обоснованно направлять выделенные культуры на дальнейшую диагностику (лекарственную чувствительность, идентификацию и т. д.), более надежно проводить первичную идентификацию культур МБТ. Нечетко заполненные направления, как правило, ведут к так называемым преаналитическим ошибкам.

Чаще всего небрежно указываются фамилия и/или инициалы пациента. Последнее особенно важно для пациентов с одинаковыми фамилиями (следует учитывать, что больные с одинаковыми фамилиями почти всегда присутствуют в больших клиниках, и нередко - в одном отделении). Часто отсутствует информация о том, проходит ли пациент диагностику или контроль в ходе химиотерапии, имелось ли предшествующее лечение от туберкулеза. Нередко не указывается вид диагностического материала, крайне небрежно записывается диагноз. Важным для БЛ является и возможное наличие результатов лекарственной чувствительности у ранее леченных больных.

Термины

В настоящее время описано более 100 видов микобактерий, причем их тинкториальные и трофические характеристики существенно не различаются. Поэтому провести строгую дифференциацию микобактерий по результатам бактериоскопии не представляется возможным. Любые позитивные находки оцениваются специалистами лабораторной практики как кислотоустойчивые микобактерий - "КУМ". Принятая ранее в России аббревиатура "БК" (от "бацилл Коха") в случаях бактериоскопических исследований некорректна, поскольку БК - это указание на М. tuberculosis (МБТ), т. е. возбудитель туберкулеза у людей.

Установить же корректно видовую принадлежность КУМ возможно только при проведении идентификации микобактерий культуральными или другими дополнительными исследованиями, например молекулярно-генетическими.

Это в значительной мере справедливо и при выявлении МБТ культуральными методами, где в ходе первичной идентификации можно определить лишь скорость роста (медленнорастущие), пигментацию (цвет слоновой кости) и кислотоустойчивость окраски культуры микроорганизмов. Эти характеристики имеются у многих видов микобактерий, в том числе у нетуберкулезных, хотя в нашей эпидемиологической обстановке они с большой вероятностью указывают на принадлежность культуры к группе туберкулезных микобактерий. Но, строго говоря, мы должны ограничиваться заключением о наличии или отсутствии роста медленнорастущих кислотоустойчивых микобактерий: "КУМ".

Качество диагностического материала

Это принципиальная характеристика. Следует помнить, что даже великолепно работающая лаборатория не способна компенсировать плохое качество диагностического материала!

Для выполнения качественных бактериологических исследований оптимальным объемом диагностического материала (для посева и приготовления мазков из осадка) является объем 3-5 мл мокроты. Для бактериоскопических исследований из нативного материала (без посева) достаточным можно считать получение лабораторией около 1 мл мокроты.

Бактериологическая лаборатория имеет право не принимать в работу неадекватный диагностический материал (при обязательном извещении об этом факте лечащего врача), т. е. материал, не заявленный в направлении. При назначении клиницистом исследования мокроты лаборатория вправе ожидать получения именно этого диагностического материала, а не, например, слюны.

Слюна и мокрота - это материалы, принципиально различающиеся по вероятности обнаружения М. tuberculosis. Редкие факты обнаружения КУМ в слюне в большинстве случаев являются результатом обогащения остатками инфицированной мокроты ротовой полости и соответственно слюны, а не следствием редчайших случаев туберкулеза слюнных желез или тканей ротовой полости. В подобных случаях появляется основание думать о том, что пациенту не была предоставлена возможность для сбора адекватного материала. Следует напомнить, что консистенция постингаляционной мокроты внешне весьма напоминает слюну, и на этом основании может быть не принята лабораторией. Поэтому в случаях передачи в БЛ постингаляционной мокроты обязательна соответствующая отметка в направлениях. Вид диагностического материала всегда должен быть указан в направлении.

Также совершенно необходимо делать специальные отметки в направлении для материалов, собранных при бронхоскопических обследованиях. В этих случаях требуется особая осторожность при интерпретации бактериологических и генетических исследований лекарственной чувствительности МБТ. Так, в стремлении максимально мягко дезинфицировать бронхоскоп иногда сокращается длительность обработки, понижается концентрация активного дезинфицирующего препарата или же применяется нерегламентированный дезинфектант.

Учитывая это, бронхологическое обследование больных с установленным диагнозом (или подозрением) туберкулеза с лекарственной устойчивостью, и особенно с множественной или экстремальной устойчивостью, следует проводить или в отдельный день, или после больных с сохраненной лекарственной чувствительностью.

Сбор и доставка диагностического материала

Хорошо известно, что микобактерии туберкулеза нерегулярно и, как правило, скудно экскретируются из организма, однако следует признать, что клиническими подразделениями это в расчет не принимается. О том, что сбор мокроты является процедурой, а не спонтанным отделением скопленной во рту жидкости, необходимо знать не только больным, но и помнить всем медицинским работникам без исключения. Пациенты нередко не понимают, что имеет в виду медсестра или врач, спрашивающие их о наличии мокроты. В связи с этим сбор мокроты должен контролироваться назначенным медицинским работником. Удивительно, что даже больные туберкулезом, находящиеся на лечении в специализированных стационарах, не всегда знают правила сбора мокроты и часто сдают носоглоточную слизь или слюну. Обучение пациентов правилам эффективного и эпидемически безопасного сбора мокроты является прямой обязанностью клиницистов.

Правильно проведенная процедура сбора позволяет значительно чаще обнаруживать возбудителя туберкулеза в мокроте, нежели случайно в слюне. Практика показывает, что при обильном содержании в мокроте КУМ (маркируемом как 3+ ) бактериоскопически в слюне удается обнаружить лишь единичные бактериальные клетки (3-5 в препарате), к тому же методом люминесцентной микроскопии. Использование же световой микроскопии делает подобное исследование практически бесполезным.

Доставка в лабораторию слюны или недопустимо малого объема мокроты при зафиксированном лечащим врачом в амбулаторной карте (или истории болезни) наличии кашля с мокротой является указанием на отсутствие контролируемого сбора мокроты и плохого информирования пациента о способах сбора качественного диагностического материала. Следует напомнить, что сбор и доставка проб диагностических материалов в БЛ является обязанностью клинических подразделений, а не лабораторных, т. к. режим работы бактериологических лабораторий не допускает работы с пациентами.

Как ни странно, сбор и доставка качественного диагностического материала являются наиболее проблемными этапами в выполнении большинства реализуемых в России современных проектов по выявлению и лечению больных туберкулезом.

Практика показала, что отказ клинико-диагностических лабораторий в приеме диагностических материалов низкого качества или не заявленных в направлениях позволяет повысить как качество дальнейшего сбора материала, так и эффективность бактериологических исследований.

Так, в 2003-2005 гг. удалось добиться принципиального улучшения качества диагностического материала, поступающего для дальнейшего лабораторного исследования, в нескольких учреждениях Управления Федеральной службы исполнения наказаний (УФСИН) по Владимирской области. На начальном этапе выполнения проекта почти каждая третья проба не принималась к работе специалистами лабораторной практики по причине плохого качества диагностического материала. Уже через 8 месяцев материал не был принят только от 2% больных, впервые сдающих мокроту. При этом эффективность бактериологических исследований увеличилась на 20% без каких-либо дополнительных модификаций лабораторных методов (неопубликованные данные, полученные совместно с д-ром Полоцким В.И., начальником БЛ и региональным координатором проекта по лабораторной диагностике туберкулеза УФСИН по Владимирской области). В рамках этой работы стало очевидным, что большинство пациентов выделяет мокроту, которая по качеству и объему удовлетворяет требованиям лабораторной службы.

К сожалению, в практике обследования больных оказалась взята за правило доставка материала (мокроты в первую очередь) с большой временной задержкой. Если речь идет о прямой микроскопии, то хранение мокроты до суток не оказывает существенного влияния на качество диагностики (кроме неудобства препарирования образца для приготовления мазка необходимого качества). Если же речь идет о культуральных исследованиях, то здесь ситуация несколько иная. Длительно хранимая мокрота меняет свою консистенцию и становится чрезвычайно вязкой, образуя своеобразную полимерную массу. Такая мокрота плохо разжижается, что ведет к потерям МБТ в процессе ее предварительной обработки, повышает число проростов посторонней флорой, заставляя переделывать обработку материала, а это снижает эффективность работы лаборатории в целом.

Обследование пациентов, кратность исследований

Объем выполняемых для каждого пациента исследований должен быть достаточным, но не избыточным. В подавляющем числе случаев БЛ выполняют больше исследований, чем это необходимо. Подчас неумение или нежелание организовать сбор адекватного материала подменяется количеством лабораторных исследований. При этом неминуемо страдает качество выполняемых работ из-за чрезмерных нагрузок на персонал лаборатории.

Одним из примеров, иллюстрирующих данное положение, является анализ результативности микроскопии, проведенный в Чувашской Республике в рамках совместного международного проекта. На начальном этапе работы обследование пациентов в Республиканском противотуберкулезном диспансере проводилось согласно традиционному пониманию организации лабораторных исследований. Была проанализирована произвольная выборка из 100 бактериоскопически положительных пациентов. Было выяснено, что их обследование выполнялось с кратностью исследований от 1 до 7 раз на каждого больного. При этом результативность первого исследования составила 56%, первых двух - 75, первых трех - 91%. Через год после упорядочения исследований (четкого соблюдения кратности исследований), контроля над сбором диагностического материала, а также регулярного контроля качества микроскопических исследований ситуация изменилась. На такой же выборке результативность первого исследования составила 79%, первых двух - 92, первых трех - 99%. При этом кратность исследований составляла от 2 до 4.

Таким образом, трехкратного исследования мокроты вполне достаточно для верификации туберкулеза.

Даже у больных с очаговыми и инфильтративными формами туберкулеза без распада трехкратное исследование мокроты позволяет подтвердить диагноз более чем в 10% наблюдений.

Алгоритм обследования пациентов лабораторными методами следует разрабатывать с учетом технических возможностей конкретной лаборатории. Поэтому определять частоту, кратность и последовательность исследований материалов целесообразно совместно с заведующим БЛ, придерживаясь рекомендаций, обозначенных в приказе Минздрава России от 21.03.03 № 109 "О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации". Приказ регламентирует следующий алгоритм обследования пациентов: до начала лечения больных туберкулезом легких - обязательное трехкратное исследование мокроты методами бактериоскопии и посева с последующей постановкой тестов на лекарственную чувствительность в случае получения культуры. В дальнейшем каждое обследование состоит из двукратного исследования мокроты методами бактериоскопии и посева: в течение интенсивной фазы химиотерапии - ежемесячно, а в фазе продолжения - один раз в два месяца.

Таким образом, для одного больного туберкулезом легких с бактериовыделением БЛ должна провести 10-12 исследований в течение стандартного курса химиотерапии, если речь не идет о случае множественной или экстремальной лекарственной устойчивости. При этом совершенно оправданным является параллельное исследование методами микроскопии и посева, поскольку на диагностическом этапе вероятность выявления МБТ методом посева несколько выше, чем методом микроскопии, а при контроле химиотерапии, наоборот, ниже.

С другой стороны, перед принятием решения о смене режимов и тактики химиотерапии следует провести как минимум два исследования лекарственной чувствительности (ЛЧ). Первое должно быть проведено на диагностическом этапе, а второе - через месяц или два после начала химиотерапии.

Совершенно необоснованным является настойчивое стремление некоторых терапевтов получить результаты устойчивости для каждой выделенной культуры МБТ (например, из всех трех проб при диагностическом обследовании). По-видимому, это диктуется желанием повысить достоверность исследований и как можно раньше отследить изменения, происходящие в популяции микроорганизмов. Но показано, что вытеснение чувствительных форм МБТ устойчивыми продолжается не менее месяца, поэтому исследования лекарственной чувствительности чаще, чем раз в месяц, не принесут желаемого результата. А достоверность исследований на ЛЧ достигается совершенно другими способами (развитием программ обеспечения качества исследований).

При получении результатов о наличии устойчивости к препаратам следует учитывать следующее обстоятельство. Отмена противотуберкулезного препарата может повлечь за собой через некоторое время уменьшение в популяции количества микобактерий, несущих гены лекарственной устойчивости к данному препарату. Метод абсолютных концентраций позволит специалистам лабораторной практики фиксировать снижение числа колоний ниже критического - результатом явится т. н. восстановление чувствительности штамма. Однако в случае возобновления химиотерапии с включением данного препарата возврат лекарственной резистентности неминуем в чрезвычайно короткие сроки.

Эффективность лабораторных исследований

Под эффективностью часто понимается некоторая качественная характеристика применяемых методов. Однако этот термин подразумевает количественную характеристику, обозначающую диагностическую точность или процент правильности результатов. Здесь необходимо подчеркнуть, что фтизиатры не только используют результаты работы БЛ, но и участвуют в организации этой работы, выступая заказчиками по отношению к лабораторной службе. Это значит, что для повышения эффективности лабораторных исследований необходимо не только взаимопонимание, но и сотрудничество (не ограниченное письменными посланиями в виде заявок на исследования и получения ответов на них). Фтизиатры не менее сотрудников лаборатории должны быть заинтересованы в ее укомплектованности штатами, оборудованием и расходными материалами, в росте квалификации специалистов-бактериологов, в участии БЛ в работе по всем видам внешней оценки качества лабораторных исследований.

Как известно, лаборатории используют наборы стандартизованных методик, обладающих определенной чувствительностью и специфичностью. В данном случае речь идет о диагностических характеристиках, а не физических возможностях методов. Т. е. под чувствительностью понимается процент положительных результатов обследования больных данным методом из всей группы больных туберкулезом. Под специфичностью понимается процент отрицательных результатов обследования среди пациентов, не имеющих туберкулеза.

Чувствительность правильно организованного бактериоскопического обследования впервые выявленных больных с бактериовыделением (определяемого всеми методами) составляет около 85%, т. е. лишь каждый седьмой бактериовыделитель будет определен как ложноотрицательный.

Однако столь высокий показатель достигается при соответствующих усилиях всех участников диагностики: врачей, медсестер, пациента, лабораторных сотрудников и администрации. Ложноположительные результаты исследований встречаются крайне редко и, как правило, при отсутствии регулярного контроля качества.

Отрицательные результаты посева будут получены через 2,5 месяца, при этом каждый пятнадцатый бактериовыделитель будет определен как ложноотрицательный среди впервые выявленных больных.

Результаты бактериоскопии могут быть получены через день. В экстренных случаях при бактериоскопии нативного материала результат возможно получить в течение 1-2 ч, однако чувствительность подобного метода (прямой микроскопии) существенно ниже (около 50% от показателя эффективности культуральных исследований).

Учитывая временной регламент культуральных исследований и технологию лабораторного процесса, заключение о лекарственной чувствительности микобактерий может быть получено к концу третьего месяца. К этому времени у больного должно прекратиться бактериовыделение. Результаты наличия лекарственной устойчивости могут быть получены раньше, если лаборатория располагает современными средствами культивирования МБТ. Но и в этом случае, если есть устойчивость МБТ, окончательное заключение можно ожидать не ранее чем через 5-6 недель после посева в силу очень высокой чувствительности нетуберкулезных микобактерий к культивированию в данной системе.

Чтобы оценить валидность получаемых результатов лабораторных анализов, полезно поинтересоваться, сотрудничает ли БЛ с лабораторией более высокого уровня (федерального, окружного или БЛ из института-куратора), была ли ранее проведена в БЛ внешняя оценка качества исследований и каковы были ее результаты. Гарантированное качество лабораторных исследований может быть получено только при постоянно действующей программе внутреннего контроля качества (на что у сотрудников БЛ зачастую не хватает необходимых знаний, а в силу этого - ни сил, ни времени, ни желания), а также при участии БЛ в программах внешней оценки качества исследований. В настоящий период далеко не все лаборатории принимают в них участие.

Опыт показывает, что длительное профессиональное сотрудничество между клиницистами и лабораторией способствует предотвращению или раннему выявлению аналитических ошибок и, таким образом, минимизирует потенциальный ущерб для пациента.

Актуальность определения лекарственной чувствительности

Следует помнить, что туберкулез с лекарственной устойчивостью может быть диагностирован только с использованием тестов ЛУ в бактериологической лаборатории. Данный тезис сегодня поддерживается специалистами ВОЗ и Международного союза борьбы с туберкулезом и легочными заболеваниями. При этом достоинства и перспективы активно развивающейся молекулярной генетики не принижаются и оцениваются как весьма перспективные.

Действительно ли актуально проведение тестов лекарственной чувствительности клинических штаммов М. tuberculosis. В настоящее время в России - безусловно, да. В этом убеждают надежные данные бактериологических лабораторий, многократно проходивших внешнюю оценку качества тестов определения лекарственной чувствительности на федеральном и международном уровнях. К примеру, в период 2002-2004 гг. в Ивановской области туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью (ТБ МЛУ) среди контингентов был зарегистрирован соответственно в 14,7%, 21,5 и 30,9% случаев. В условиях достаточно широкого распространения лекарственной резистентности невозможно не учитывать спектр и уровень первичной лекарственной резистентности. Наблюдаемый рост этого показателя является серьезным предвестником снижения возможностей противотуберкулезной службы в борьбе с туберкулезом, поэтому требуется скрининг первичной ЛУ по всей территории России. Использование результатов молекулярно-генетических методов исследования ЛУ дает клиницистам возможность обосновывать необходимость изолировния бактериовыделителей с ЛУ, правильно назначать профилактическое лечение контактных лиц.

Лабораторные ошибки определения ЛЧ МБТ

При несовпадении результатов лабораторных исследований ЛЧ с рентгенологическими и клиническими данными последние являются приоритетными. Это объясняется некоторой долей случайности экскреции штаммов МБТ из организма, которые могут отличаться от основного пула микобактерий в организме больного. Кроме того, в лаборатории оцениваются только наиболее жизнеспособные из изолируемых МБТ, а также не учитывается иммунный статус больного, который может улучшиться, что приведет к элиминации некоторой части штаммов МБТ.

Информировать лабораторию о несоответствии лабораторных результатов клиническим симптомам следует всегда. Это полезно как лабораторным специалистам, так и клиницистам для углубленного анализа инфекционного и лечебно-диагностического процессов. Следует всегда проводить клинико-лабораторное расследование случаев туберкулеза с МЛУ, а также случаев несоответствия клинико-рентгенологических данных и результатов бактериологических исследований (в т. ч. тестов ЛЧ) для исключения возможных лабораторных ошибок.

В случаях прыгающей ЛУ - т. е. случаях, когда уже зарегистрированная лекарственная устойчивость к тому или иному противотуберкулезному препарату не определяется при последующем тестировании в условиях продолжающейся химиотерапии данным препаратом, также необходимо проведение клинико-лабораторного расследования.

Слишком частое несовпадение результатов ЛЧ и клинических данных (более 10-15%) говорит о действительно существующих ошибках.

Попытки бактериологов списать данные явления на наличие у больного популяции микобактерий, состоящей из двух или более видов с различным спектром лекарственной резистентности, можно считать несостоятельными. При этом нельзя исключать возможные внелабораторные ошибки при таких ситуациях: подмена диагностического материала пациентом (чаще отмечается в условиях лечения в пенитенциарных учреждениях), неправильная маркировка контейнеров при сборе материала. Среди возможных лабораторных ошибок - неправильная регистрация материала, ошибки в проведении бактериологических исследований.

Эффективность лабораторных исследований (процент правильных результатов) зависит от используемых методов и лабораторных технологий. Например, технологии, используемые в ведущей лаборатории Нью-Йорка, дают средний показатель ложноположительных результатов при культуральной диагностике 3,1% случаев, при постановке тестов лекарственной чувствительности - до 13%. В случае регистрации бактериоскопически негативного результата и при наличии однократного позитивного культурального исследования возможность ошибки может достигать 56%.

Наиболее частые ошибки результатов лабораторной диагностики, возникшие на преаналитическом этапе, таковы: неправильная маркировка в отделениях или лаборатории, некачественная стерилизация бронхоскопов при бронхоскопии, плохо индуцированная мокрота и т. д. На аналитическом этапе возможны различные лабораторные ошибки. Среди ошибок постаналитического этапа наиболее весома неправильная интерпретация результатов специалистами лаборатории, возможны также ошибки в лабораторном отчете, ошибки в регистрации и интерпретации результатов фтизиатрами.

Для снижения вероятности возникновения всех этих ошибок необходимо постоянное взаимодействие специалистов, отвечающих за разные этапы лабораторной диагностики. Знание проблем организации работы на всех этапах диагностики будет стимулировать специалистов обращать внимание на частности, не касающиеся непосредственно их работы, но важные для получения адекватного результата.

Интерпретация результатов тестов на ЛЧ

Интерпретация результатов тестов на лекарственную чувствительность наиболее проблематична при малом числе колоний первой генерации МБТ. Известно, что у части бактериовыделителей выделяется небольшое число колоний МБТ. Поскольку при обработке диагностических материалов погибает 85% и более бактериальной популяции, то в ряде случаев при регистрации результатов посевов на плотных питательных средах определяются единичные колонии микобактерий (до двадцати).

Если число выросших колоний критически малое (1-2), то возникает принципиальный вопрос: "Не являются ли выделенные колонии результатом внутрилабораторного инфицирования?" Кроме того, дальнейшая постановка тестов лекарственной чувствительности с использованием столь малой биомассы редко возможна. В некоторых БЛ производится дополнительный рассев микобактерий для получения достаточной биомассы. Однако эта процедура сопровождается получением отсроченных на 3-4 недели результатов, что еще больше обесценивает результаты для клиницистов.

Кроме того, лекарственная резистентность анализируемой популяции, мультиплицированной из одной колонии, может не соответствовать резистентности микобактериальной популяции, наличествующей в макроорганизме. В исходной популяции выявленная лекарственная устойчивость к противотуберкулезному препарату присутствует, однако не исключено и наличие устойчивости к другим препаратам. То есть спектр лекарственной резистентности обычно шире, чем выявленный в БЛ при малом числе выросших колоний. Принимая во внимание сказанное, клиницистам необходимо обращать внимание на то, из какого объема биомассы (указанной как результат исходного роста МБТ) проведено определение лекарственной чувствительности.

В качестве примера можно привести данные статистических наблюдений об изменении результатов лекарственной чувствительности в зависимости от объема исходного роста культуры МБТ. Исследования проводились в микробиологической лаборатории НИИ фтизиопульмонологии (Москва). В результате было выяснено, что при использовании биомассы менее 5 КОЕ так называемое восстановление чувствительности может достигать 15% случаев по изониазиду и 30% случаев по этамбутолу, что в 3 раза ниже допустимой эффективности определений устойчивости к данным препаратам.

Таким образом, не рекомендуется определять ЛЧ МБТ при росте культуры до 5 колоний, т. к. гарантировать получение результата с заданной точностью (95% для изониазида и рифампицина, 90% для стрептомицина и этамбутола) не удастся.

Если же это единственная культура МБТ, то интерпретация результата ЛЧ должна быть обсуждена лабораторным специалистом с врачом-клиницистом.

При числе выросших колоний от 5 до 20 определение лекарственной чувствительности возможно в стандартных условиях. Однако по-прежнему сохраняется вероятность неполного определения спектра ЛУ В таких случаях к результату тоже следует относиться более внимательно и при возможности повторить тест на ЛЧ из культуры с уверенным ростом (2+ - 3+).

Чтобы иметь основания с осторожностью относиться к результатам тестов, полученных от использования единичных колоний МБТ, фтизиатрам целесообразно договориться с БЛ о фиксировании подобных ситуаций в официальном отчете о результате бактериологических исследований.

Требует внимания отметка в результатах теста ЛЧ о том, что число выросших колоний на питательной среде с препаратом менее 20 и (в соответствии с правилами учета) штамм является чувствительным к конкретному противотуберкулезному препарату. В таком случае следует осознавать, что если схема лечения будет сохранена, то при следующем определении ЛЧ (приблизительно через месяц) велика вероятность появления устойчивых к данному препарату МБТ, выделенных этим больным. Таким образом, фтизиатр заранее информируется о близкой перспективе развития клинически значимого уровня ЛУ, что заставляет его обратить более пристальное внимание на комплексность приема больным назначенных ему препаратов и рассмотреть вопрос о возможной коррекции схемы терапии в ближайшей перспективе. В таких случаях необходимо максимально полно использовать стандартные схемы приема противотуберкулезных препаратов, избегая индивидуализации лечения методом их перебора. Подчеркнем, что ускорение развития ЛУ происходит при постоянных перерывах приема препарата или существенном снижении их дозировок для лучшей переносимости препарата.

При выявленной устойчивости к пиразинамиду (даже если число колоний более 20) следует критически относиться к позитивным результатам. Несмотря на то что разработаны способы определения ЛЧ к пиразинамиду на плотных питательных средах, достаточно трудно выдержать высокие требования к точности рН и другим параметрам питательной среды, что делает практически невозможным использование имеющихся тестов для стандартных лабораторий.

Используемые при определении лекарственной чувствительности МБТ методом абсолютных концентраций критические концентрации противотуберкулезных препаратов второго ряда, приведенные в приказе Минздрава России от 21.03.03 № 109, носят рекомендательный характер. До настоящего времени они окончательно не установлены (это возможно после официального их опубликования ВОЗ), поскольку пока нет полной уверенности в точности определения лекарственной чувствительности противотуберкулезных препаратов второго ряда этим методом. Отсюда следует практический вывод, что клиницисты должны быть активно заинтересованы во внедрении современных стандартизованных автоматизированных систем выявления микобактерий и определения лекарственной чувствительности.

Заключение

Оптимизация лабораторных исследований на принципах централизации сегодня актуальна, как никогда ранее. Экономические затраты на доставку диагностических материалов на уровне мегаполисов и областей в централизованную и хорошо оснащенную БЛ значительно ниже, чем поддержание многочисленных, маломощных и малоэффективных бактериологических лабораторий 1-го (бывшие посевные пункты) и 2-го уровней.

В рамках освоения средств кредита Всемирного банка и грантов Глобального фонда сегодня осуществляется частичное финансирование комплексного лабораторного оснащения ограниченного числа бактериологических и клинико-диагностических лабораторий на уровне регионов, а также обучения специалистов лабораторной практики. Это создает фундаментальные предпосылки для дальнейшей централизации лабораторной службы, повышения эффективности деятельности лабораторий и сокращения числа плохо оснащенных и также плохо финансируемых лабораторных подразделений.

Следует надеяться, что если параллельно этому процессу произойдет сближение позиций в сфере совместной деятельности фтизиатров и бактериологов на различных этапах сотрудничества, то эффективность обеспечения клиницистов своевременными и точными результатами исследований значительно повысится.

Список использованной литературы

1. А.И. Карпищенко Медицинская лабораторная диагностика. СПб: «Интермедика»,2001

2. С.А. Попов, Т.П.Сабгайда, В.А. Пузанов Пути оптимизации лабораторной диагностики туберкулеза //Справочник заведующего КДЛ 2007. №12 с. 17-28

3. Приказ МЗ РФ от 21.03.2003 № 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации»